



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

---

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO Y EVALUACION NUTRICIONAL DE  
UNA FORMULA INFANTIL NO LACTEA A BASE  
DE POLLO, MAIZ Y DEXTRINAS

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**QUIMICA DE ALIMENTOS**

P R E S E N T A :

**ILIANA ELVIRA GONZALEZ HERNANDEZ**



MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

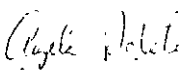
**Jurado asignado:**

Presidente: Prof. Angela Sotelo López  
Vocal: Prof. Bernardo Lucas Florentino  
Secretario: Prof. Francisco Javier Casillas Gómez  
Primer suplente: Prof. Lucía Cornejo Barrera  
Segundo suplente: Prof. Leticia Gil Vieyra

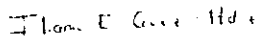
**Sitio donde se desarrolló el tema:**

Laboratorio 111 Departamento de Farmacia, Conjunto E  
Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

**Asesor del tema:**

  
M. en C. Angela Sotelo López

**Sustentante:**

  
Iliana Elvira González Hernández

**Dedico esta tesis:**

**A Dios:**

Por permitirme la existencia; por ser la inspiración de todos mis actos y la máxima guía en mi vida.

**A mis padres:**

Juan González Johnson

Rosaura Hernández de González

Por todo el amor, apoyo, la enorme comprensión y grandes esfuerzos que siempre me han brindado. Les agradezco infinitamente.

**A mis hermanos:**

Ana y Juan

Por ser mis mejores amigos. Gracias por el gran amor y los maravillosos momentos que hemos compartido.

**A Juan Carlos:**

Por el maravilloso amor que nos une. Gracias por la alegría que has traído a mi vida y por tu apoyo siempre incondicional.

## **Agradecimientos**

### **De manera muy especial a Daniel Romo y Hugo Sousa:**

Por ser amigos inolvidables. Siempre serán un maravilloso ejemplo de amor a la vida.

### **A mis abuelitos, tíos y primos:**

Por el amor y el apoyo que me han brindado.

### **A Chayo y Lulú:**

Por ser mis mejores amigas y por las magníficas vivencias que hemos compartido. Gracias por su enorme apoyo y comprensión.

### **A Oscar, Manuel, Gabriel y Valentín:**

Por su gran amistad y por la alegría que siempre me han infundido.

### **A la maestra Angela Sotelo:**

Por su apoyo y por su gran ejemplo de esfuerzo y amor al trabajo.

### **A Lety Gil y Rosita Argotte:**

Por el gran apoyo y la invaluable ayuda y amistad que siempre me brindaron.

### **Al maestro Bernardo Lucas:**

Por su gran ayuda y por su ejemplo de dedicación al trabajo.

### **A la Sra. Vicky:**

Por siempre darme ánimos y por su magnífica compañía.

## Índice general

1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	3
3. Antecedentes	
3.1 Desnutrición infantil.....	4
3.1.1 Kwashiorkor.....	5
3.1.2 Marasmo.....	5
3.2 Alimentación del lactante.....	6
3.2.1 Aporte energético.....	7
3.2.2 Carbohidratos.....	8
3.2.2.1 Intolerancia a la lactosa.....	9
3.2.3 Proteínas.....	10
3.2.3.1 Evaluación de la calidad de una proteína.....	12
3.2.4 Lípidos.....	14
3.2.5 Fibra dietética.....	14
3.2.6 Micronutrientes.....	16
3.2.6.1 Vitaminas.....	16
3.2.6.2 Minerales.....	16
3.2.7 Fórmulas infantiles.....	17
3.3 Materias primas.....	19
3.3.1 Maíz.....	19
3.3.2 Pollo.....	21
3.3.3 Dextrinas.....	21
3.4 Conservación de los alimentos por deshidratación.....	22
3.4.1 Secado por aspersión.....	23
3.5 Análisis proximal.....	24
3.5.1 Humedad.....	24
3.5.2 Cenizas.....	24
3.5.3 Proteína cruda.....	24
3.5.4 Grasa cruda.....	25
3.5.5 Fibra dietética.....	25

3.5.6 Carbohidratos asimilables por diferencia.....	26
3.6 Análisis microbiológico.....	26
3.6.1 Mesófilos aerobios.....	27
3.6.2 Coliformes.....	27
3.6.3 Salmonella.....	28
3.6.4 Staphylococcus aureus.....	28
3.6.5 Hongos y levaduras.....	29
3.6.5.1 Hongos.....	29
3.6.5.2 Levaduras.....	30
4. Parte experimental	
4.1 Materias primas.....	31
4.2 Metodología.....	31
4.3 Elaboración de las fórmulas.....	34
5. Metodologías	
5.1 Análisis proximal.....	38
5.1.1 Humedad.....	38
5.1.2 Cenizas.....	39
5.1.3 Proteína cruda.....	40
5.1.4 Grasa.....	42
5.1.5 Grasa (método de Gerber).....	43
5.1.6 Fibra dietética.....	44
5.1.7 Carbohidratos asimilables por diferencia.....	48
5.1.8 Contenido energético.....	48
5.2 Determinación de aminoácidos	
5.2.1 Cromatografía de intercambio iónico.....	49
5.2.2 Determinación de triptofano.....	55
5.3 Calificación química.....	57
5.4 Análisis microbiológico.....	59
5.4.1 Mesófilos aerobios.....	59
5.4.2 Coliformes.....	60
5.4.3 Escherichia coli.....	61

5.4.4 Salmonella.....	62
5.4.5 Staphylococcus aureus.....	64
5.4.6 Hongos y levaduras.....	65
5.5 Análisis estadístico.....	72
5.5.1 Prueba de t de Student.....	72
5.5.2 Prueba de intervalos múltiples de Duncan.....	73
6. Resultados y discusión.....	76
7. Conclusiones.....	106
8. Recomendaciones.....	108
9. Bibliografía.....	109



## 1. INTRODUCCIÓN

La desnutrición representa un serio problema de salud pública en grandes sectores de la población infantil y está ligada de manera directa o indirecta con más de 6 millones de muertes en niños menores de 5 años que ocurren cada año a nivel mundial (1,2,3). Asimismo, la desnutrición y las enfermedades diarreicas agudas continúan siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en los niños de todo el mundo, sobre todo en los países en vías de desarrollo (4,5).

La desnutrición es el resultado de varios factores que interactúan de tal forma que dejan al niño propenso a sufrir este padecimiento. Entre estos factores se encuentran la pobreza, la poca disponibilidad de alimentos, la insalubridad, defectos en la dieta (baja densidad energética, calidad proteínica insatisfactoria, escasez de micronutrientes) e infecciones gastrointestinales.

Algunos problemas que se presentan como consecuencia de la desnutrición son: desaceleración del crecimiento y desarrollo del niño, disminución de la actividad física, reducción de los mecanismos de defensa contra las infecciones, abatimiento de la capacidad de digestión y absorción (2,6,7).

El aparato digestivo del organismo desnutrido no funciona de manera correcta. La mucosa intestinal se atrofia, razón por la cual absorbe menos, además de que se excretan cantidades insuficientes de las enzimas digestivas, sobre todo de lactasa, por lo cual la digestión de lactosa se ve afectada, lo que puede producir mala absorción de ésta (2,7). Debido a esto, no es posible la recuperación del niño desnutrido mediante la alimentación con leche materna o con fórmulas lácteas. El tratamiento de la desnutrición y de la intolerancia a la lactosa se basa en modificaciones dietéticas a través de alimentos de origen animal o vegetal como la leche deslactosada, fórmulas elaboradas con caseinato de calcio o con concentrados de proteína de soya; sin embargo, estos alimentos no tienen gran aplicación en nuestro país debido a que son escasos y su costo resulta ser elevado (8,9).

En el Instituto Mexicano del Seguro Social y en la Facultad de Química, se han realizado trabajos previos en los que se han diseñado y estudiado varias fórmulas destinadas al tratamiento de niños desnutridos y con intolerancia a la lactosa (10,11). Una de

estas fórmulas elaborada a partir de pechuga de pollo y harina de maíz nixtamalizado ha dado resultados muy satisfactorios con respecto al aporte nutricional y digestibilidad del producto. Sin embargo, se ha observado que el contenido de fibra en el alimento es elevado, lo cual puede representar un problema debido a que la fibra dietética puede interferir con la absorción o biodisponibilidad de energía y algunos nutrimentos (12).

En el presente trabajo se pretende optimizar la fórmula elaborada a partir de pollo y harina de maíz, evaluando diferentes materias primas con el fin de elegir las mejores para la elaboración del alimento. Asimismo, se empleará otra materia prima, las dextrinas, con el fin de disminuir el contenido de fibra dietética en la fórmula para facilitar la absorción de los nutrimentos y tener una fuente de carbohidratos de fácil digestión.

## 2. OBJETIVOS

### **Objetivo general:**

- Optimizar la fórmula elaborada a partir de la mezcla de pollo y harina de maíz nixtamalizado, disminuyendo el contenido de fibra dietética en la misma.

### **Objetivos específicos:**

- Analizar la composición química y de aminoácidos de diferentes materias primas con el fin de seleccionar a las de mejor calidad para la elaboración de las fórmulas.
- Con base en la composición de las materias primas seleccionadas, calcular teóricamente la composición de las mezclas para elaborar fórmulas que cumplan con los requerimientos energéticos recomendados para niños lactantes y en edad preescolar.
- Evaluar la composición química de las fórmulas, el contenido de aminoácidos y la calidad microbiológica de las mismas.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 Desnutrición infantil

Uno de los factores predominantes en la evolución de los pueblos lo constituye la alimentación, por lo que en la actualidad nadie puede negar que la ingestión de una dieta adecuada en calidad y cantidad es un factor relevante en la vida del hombre desde su concepción hasta su muerte, siendo la nutrición probablemente el factor más importante que afecta el crecimiento, la salud y el desarrollo de una persona.

Cuando todos los factores que determinan la nutrición se encuentran en magnitud y armonía óptimas, hacen posible el mejor funcionamiento de cada célula y del organismo entero. Sin embargo, cuando el organismo no recibe en su alimentación cantidades suficientes de uno o más nutrimentos o cuando existen obstáculos para que los aproveche correctamente se presenta la desnutrición (7, 13).

Considerando como base la causa, la desnutrición es primaria cuando el aporte de nutrimentos es insuficiente para cubrir las necesidades del niño, es secundaria o condicionada cuando se debe a alteraciones en la fisiología normal del organismo lo que ocasiona insuficiencia del aprovechamiento de los nutrimentos, y es mixta cuando están presentes los componentes de la desnutrición primaria y secundaria. En la práctica, la desnutrición mixta es la forma que se presenta con más frecuencia (2).

La desnutrición energético-proteínica es una condición patológica ocasionada por la carencia de múltiples nutrimentos, producto de un desequilibrio provocado por una ingestión deficiente debido al consumo de dietas de variados contenidos calóricos y bajo contenido proteínico. Este problema es de mayor importancia en los países en vías de desarrollo, ya que se ha asociado a un bajo nivel socio-económico y a situaciones deficitarias de saneamiento. Asimismo, este tipo de desnutrición se presenta con mayor frecuencia y gravedad en el medio rural, aunque también ocurre en el medio urbano, siendo los grupos más afectados por la desnutrición los niños menores de 5 años y las mujeres embarazadas o en etapa de lactancia, debido a que tienen mayores necesidades nutrimentales y a que además están expuestos a la influencia de las creencias erróneas de su alimentación (2, 13, 14, 15).

Los términos marasmo y kwashiorkor se usan para designar dos expresiones clínicas de la desnutrición energético-proteínica infantil avanzada o de tercer grado, es decir, cuando el peso corporal es del 60 % o menos del peso ideal que le corresponde al individuo según su talla o, independientemente del peso, cuando exista edema de origen nutricional.

### **3.1.1 Kwashiorkor**

El kwashiorkor es la carencia crónica de proteínas en los niños y se considera un grado agudo de desnutrición. Se presenta generalmente en las zonas rurales en niños en edad preescolar (entre 1 y 5 años de edad); está asociada con el destete tardío y una dieta rica en carbohidratos pero insuficiente en proteínas. El niño desnutrido de tercer grado tipo kwashiorkor presenta un gran número de signos circunstanciales como:

- Edema en los tejidos debido a bajos niveles de proteínas séricas
- Retardo en el crecimiento
- Peso no adecuado a la talla
- Tejido muscular disminuido
- Apatía
- Presencia de infecciones y alteraciones electrolíticas (diarrea y deshidratación)

La recuperación de los niños con kwashiorkor se basa en la dieta y suele ser breve (semanas). Cuando se aportan los nutrimentos necesarios de manera correcta para cubrir las deficiencias, restablecer las funciones normales y regenerar los tejidos de reserva, se favorece la recuperación del crecimiento físico y funcional de los niños (2, 13, 16, 17).

### **3.1.2 Marasmo**

El marasmo se presenta en niños menores de un año y se asocia con un destete temprano y con el uso inapropiado de fórmulas lácteas, ya que el niño no recibe los nutrimentos en la cantidad adecuada. El marasmo es considerado como una desnutrición de tipo crónico y generalmente se presenta en las poblaciones marginadas de las ciudades; se caracteriza por:

- Anemia y detención del crecimiento
- No hay presencia de edema
- Tejido muscular muy disminuido
- Presencia de enfermedades gastrointestinales y respiratorias
- Irritabilidad

- Reducción de peso

El tratamiento de los niños con marasmo es, al igual que en el caso anterior, básicamente dietético, pero resulta ser prolongado (meses) (2, 13, 18).

### **3.2 Alimentación del lactante**

Durante los primeros meses de vida, la leche materna constituye una fuente económica e importante de nutrimentos esenciales, y aunque no es un alimento absolutamente indispensable, si se considera como ideal desde el punto de vista nutricional, debido a que por su composición química es de fácil digestión y asimilación, su pureza bacteriológica la hace libre de cualquier contaminación y tiene los nutrimentos que requiere el lactante para su desarrollo. Es por ello que se considera a la leche humana como la mejor fuente de nutrimentos para el bebé (8, 19, 20).

Una de las formas alternativas de alimentación es la utilización de la leche de vaca. Las nuevas formas de alimentación infantil se iniciaron hasta finales del siglo pasado, cuando aparecieron alimentos preparados a base de leche de vaca combinada con cereales y, en algunos casos, también azúcar. Actualmente, el empleo de este tipo de alimentos sólo es recomendado cuando no es posible la alimentación al seno materno, como ocurre cuando se presentan trastornos como la intolerancia a la lactosa y los asociados a la desnutrición (8).

Cuando se desea desarrollar un alimento dirigido a lactantes, es indispensable considerar los requerimientos energéticos y de nutrimentos necesarios para el desarrollo del niño. Lo anterior es de gran importancia debido a que la necesidad calórica de los lactantes es mucho mayor que la de los niños mayores o adultos, ya que en esta edad el crecimiento es más rápido que en cualquier otro período, además de que el niño tiene mayor cantidad de tejidos activos y mayor superficie corporal en proporción a su peso que el adulto.

Además de las consideraciones energéticas, es indispensable asegurar que la alimentación del niño sea suficiente, equilibrada, de buena calidad, digerible, libre de contaminación, apropiada para la edad tanto en presentación como en composición y que sea proporcionada con ternura (21).

### 3.2.1 Aporte energético

El lactante requiere dos o tres veces más calorías por unidad de peso corporal que un adulto. Las especificaciones nutricionales de los alimentos de destete dependen del uso al que estén destinadas:

- a) Como sustituto total o parcial de la leche materna
- b) Como alimento empleado a partir del destete
- c) Como complemento de la leche materna durante el primer año de vida

A continuación, en el cuadro No. 1 se presentan las necesidades energéticas de los lactantes (22).

**CUADRO No. 1**  
**NECESIDADES ENERGÉTICAS DE LOS LACTANTES**

EDAD	Kcal / kg
3 meses	120
3 - 5 meses	115
6 - 8 meses	110
9 - 11 meses	105
1 año	112

Con respecto a los sustitutos de la leche materna para niños de corta edad, se ha establecido que las fórmulas tengan un aporte energético de aproximadamente 500 kcal/100g de producto, y se recomienda que la composición de la energía sea distribuida como 15 % aportada por las proteínas, 35 - 40 % aportada por las grasas y 45 - 50 % aportada por los hidratos de carbono (5, 23).

### 3.2.2 Carbohidratos

Los hidratos de carbono son el principal suministro de energía en la dieta del lactante; son compuestos químicos almacenadores de energía y su función principal en la dieta es ser fuente de monosacáridos, especialmente de glucosa que constituye la sustancia de aprovechamiento más rápido. Los carbohidratos cumplen en el organismo funciones tanto energéticas como catalíticas y estructurales, pero sin lugar a dudas, su aporte energético es la característica más importante desde el punto de vista nutricional.

La combustión de los carbohidratos genera 4 kcal/g; sin embargo, en la mayoría de los vegetales siempre existe una fracción de polisacáridos no digeribles denominada fibra dietética que al no ser metabolizada por el organismo humano, se elimina en las heces y no produce energía (2, 24).

Para los lactantes el alimento principal es la leche y ésta posee un alto contenido de lactosa (7.5 % en la leche humana y un 4.5 % en la leche de vaca). En la leche humana, la lactosa aporta el 37 - 38 % de las calorías, y en la leche de vaca sin carbohidratos adicionales del 27 al 29 % de las calorías. La mayoría de las fórmulas comerciales tienen carbohidratos adicionales de manera que del 40 al 50 % de las calorías son aportadas por la lactosa o por otros disacáridos (25, 26).

Durante el proceso de digestión de los carbohidratos, el intestino secreta diferentes disacaridasas. Las enzimas lactasa, sacarasa y maltasa están presentes en el feto desde el primer trimestre del embarazo, por lo que los carbohidratos maltosa, sacarosa y lactosa pueden ser hidrolizados por el lactante, produciéndose monosacáridos que pueden ser absorbidos por el organismo. Sin embargo, la producción de las enzimas encargadas de la hidrólisis de carbohidratos de mayor tamaño como el almidón es diferente. La amilasa salival empieza la hidrólisis del almidón, pero se inactiva por la acidez gástrica y la alfa-amilasa pancreática puede estar en baja concentración en el infante pequeño, elevándose la producción de esta enzima sólo después de los 6 meses. A pesar de lo anterior, no existen evidencias de efectos adversos por alimentar con almidón a los infantes pequeños, ya que se ha demostrado que el crecimiento y la salud son generalmente satisfactorios (25, 27, 28).

En ocasiones, llegan a presentarse problemas en el aprovechamiento de los carbohidratos, siendo los más frecuentes los relacionados con la digestión, absorción intestinal y utilización normal de estos nutrientes. Durante la desnutrición, el organismo



secreta cantidades insuficientes de las enzimas digestivas, produciéndose generalmente una reducción temporal o permanente de la enzima lactasa (7, 29).

### **3.2.2.1 Intolerancia a la lactosa**

Los monosacáridos glucosa y galactosa se combinan en la glándula mamaria de los mamíferos para formar un disacárido que es conocido como lactosa. Como fuentes de carbono orgánico, los componentes de la lactosa tienen el potencial de ser oxidados para generar ATP; sin embargo, a fin de proveer energía, la lactosa debe ser hidrolizada en sus componentes: glucosa y galactosa. Esta es la función de las enzimas  $\beta$ -galactosidasas, siendo la lactasa intestinal la más importante. Esta enzima es muy activa en los lactantes, sin embargo, en los adultos de algunos grupos étnicos hay poca actividad de lactasa, presentándose de esta forma un padecimiento conocido como intolerancia a la lactosa (29).

La intolerancia a la lactosa es un padecimiento que se presenta cuando la enzima  $\beta$ -galactosidasa que digiere a la lactosa, falta o es insuficiente. De esta forma, la lactosa no se digiere y sigue su camino hasta el colon en donde es fermentada por las bacterias entéricas produciéndose dióxido de carbono, hidrógeno y ácido láctico que pueden irritar a tal grado este órgano que se produce diarrea agravada por el arrastre osmótico de agua. De esta forma, se experimentan síntomas gastrointestinales como: distensión abdominal, cólicos, eructos, flatulencia y excretas flojas relacionadas y atribuibles específicamente a la ingestión de la lactosa; estos síntomas se presentan generalmente de 30 minutos a 2 horas después de ingerir alimentos que contengan lactosa (29, 30, 31, 32, 33).

Clinicamente, la intolerancia a la lactosa puede tener dos orígenes: uno congénito y otro adquirido.

- a) Intolerancia a la lactosa congénita o primaria. Esta consiste en la carencia o deficiencia de la enzima lactasa por transmisión genética como un carácter dominante.
- b) Adquirida o secundaria. Existe una serie de padecimientos que producen mala digestión de lactosa: por su incidencia sobresalen la diarrea en infantes, la presencia de parásitos y la desnutrición. En estos casos, la intolerancia es por lo general más drástica que aquella asociada con la deficiencia primaria de lactasa; la sustitución de la leche por fórmulas no lácteas es recomendable, ya que en

estas situaciones la alimentación es importante para mejorar o mantener el estado nutricional del niño (29, 34).

Para determinar la mala absorción de la lactosa se utilizan técnicas de diagnóstico con el fin de evaluar la capacidad de un individuo para digerir este carbohidrato. La digestión de la lactosa por un paciente es actualmente la prueba más ampliamente utilizada; ésta consiste en medir la elevación de la glucemia después de una dosis oral de 50 g de lactosa en solución acuosa comparada con la elevación producida por una dosis oral de 25 g de glucosa y 25 g de galactosa. Si el incremento es más grande con los azúcares simples que con el disacárido intacto, se establece un estado de la digestión incompleta de la lactosa. Otro método empleado es la prueba del hidrógeno espirado, la cual también utiliza la estrategia de detección de lactosa que no ha sido digerida. Cuando esta lactosa llega al colon, es fermentada por bacterias y se producen gases como bióxido de carbono, hidrógeno y metano. Los tres son espirados en el aliento, pudiéndose cuantificar la cantidad de hidrógeno producido (29).

### **3.2.3 Proteínas**

Su función en la dieta es ser fuente de aminoácidos, nutrimentos que una vez absorbidos desempeñan funciones biológicas en el organismo humano entre las que se cuenta principalmente la regeneración y formación de tejido conectivo y muscular, la síntesis en enzimas, anticuerpos y hormonas (24, 26).

El valor calórico de importancia nutricional que tienen las proteínas está determinado fundamentalmente porque los aminoácidos que las constituyen pueden ser oxidados biológicamente hasta dióxido de carbono y agua; cada gramo de proteína hidrolizada en las células proporciona prácticamente 4 kcal (35, 36).

Si la cantidad de lípidos y carbohidratos en la dieta es adecuada para proporcionar las calorías necesarias, la proteína será utilizada para el crecimiento y reparación de los tejidos. Cualquier exceso de proteína en la dieta es usado como energía, y de ser necesario, es convertida en carbohidratos o lípidos (37).

Cabe hacer notar que existen aminoácidos llamados indispensables que el organismo no puede biosintetizar, por lo que deben suplirse con la dieta. Además de los aminoácidos indispensables para el adulto (isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano y valina), el lactante necesita histidina, ya que, aunque

existen evidencias de que los infantes pueden sintetizar histidina, la cantidad puede ser insuficiente para satisfacer sus necesidades fisiológicas. El infante prematuro puede, además, requerir una fuente de tirosina y posiblemente de arginina y de taurina (25, 26).

Durante la infancia hay un mayor requerimiento de proteínas debido a que una gran proporción de éstas se utiliza para el crecimiento; los adultos necesitan menos proteína por kg de peso que los niños porque el recambio proteínico va descendiendo a medida que la edad aumenta y el crecimiento disminuye.

A continuación, en el cuadro No. 2 se presenta la ingesta recomendada de proteínas para lactantes y niños en edad preescolar (38, 39).

**CUADRO No. 2**  
**INGESTA DE PROTEÍNAS RECOMENDADA PARA LACTANTES Y**  
**PREESCOLARES**

EDAD	INGESTA RECOMENDADA (g/kg/día)*
3 – 6 meses	1.85 (2.55)**
6 – 9 meses	1.65 (2.30)
9 – 12 meses	1.50 (2.10)
1 – 2 años	1.20 (1.65)
2 – 3 años	1.15 (1.60)
3 – 5 años	1.10 (1.55)

\* Proteínas de referencia (leche, huevo, carne), según FAO/OMS/UNU.

\*\* Las cifras entre paréntesis corresponden a dietas con digestibilidad de 80% y calidad aminoacídica de 90% en relación a las proteínas de referencia

La calidad de una proteína depende tanto de su composición en aminoácidos indispensables como de su digestibilidad. La disponibilidad de los aminoácidos se afecta por compuestos naturalmente presentes en los alimentos, por la estructura propia de las proteínas e incluso su utilización puede variar de acuerdo a la proporción de los aminoácidos dentro de una proteína, como se ha demostrado por los antagonismos existentes entre algunos de ellos (40).

Por lo general, todos los alimentos contienen todos los aminoácidos; sin embargo, en ciertos alimentos algunos aminoácidos se encuentran en concentraciones muy bajas en relación a las necesidades. Desde el punto de vista práctico, esta situación carece de relevancia, pues por lo general se consumen dietas en las cuales se mezclan los alimentos, con lo que se logra compensar el déficit de un aminoácido en cierto alimento con el exceso de ese mismo aminoácido en otro alimento. Sin embargo, en ciertos casos en que los aminoácidos que se encuentran en concentraciones elevadas, pueden competir con aquellos aminoácidos que comparten el mismo sistema de absorción, presentándose de esta forma un desbalance en la dieta(2).

Los alimentos de origen animal, tales como carne, huevos, pescado y leche, ayudan a que la dieta alcance el contenido deseable de proteínas y aminoácidos indispensables debido a que estos alimentos tienen una concentración alta de proteínas fácilmente digeribles y con un excelente patrón de aminoácidos. Sin embargo, esos alimentos no son indispensables, y cuando existen limitaciones en su disponibilidad, se puede usar el principio de complementación aminoacídica antes mencionado, en el que dos o más fuentes de proteínas vegetales, con o sin ciertas cantidades de proteína animal se combinan. Para que este principio funcione, una de esas fuentes, por lo menos, debe tener una concentración relativamente alta de proteínas (12).

De acuerdo a lo anterior, es importante observar que para la elaboración de alimentos para lactantes es de gran utilidad el empleo del principio de complementación o la adición de aminoácidos al alimento, con el fin de proveer todos los aminoácidos indispensables para el desarrollo del niño.

#### **2.3.2.1 Evaluación de la calidad de una proteína**

La calidad de una proteína depende del tipo y de la cantidad de aminoácidos que contiene y representa una medida de la eficacia con que puede ser utilizada por el organismo. Una proteína equilibrada o de alta calidad, contiene aminoácidos indispensables en proporciones aproximadas a las que entre ellos se dan en las tablas que expresan las necesidades humanas.

El término calidad proteínica se refiere a la capacidad de una proteína de la dieta para dar lugar a proteína corporal, y se puede estimar a través de varios indicadores, dentro de los cuales destaca la calificación química (CQ). En este método, se estima el valor

nutritivo de una proteína comparando su contenido en aminoácidos indispensables con una referencia. La referencia actualmente utilizada es el patrón de aminoácidos FAO 1985 (cuadro No. 3) (38), que está basado en las necesidades de aminoácidos de los niños de corta edad y que reemplaza como estándar a la proteína de huevo entero que se usaba antes (2, 41). A pesar de que éste método es el más comúnmente utilizado, la calificación química puede sobrestimar la calidad de las proteínas, ya que no se detecta la presencia de factores que pudieran afectar el aprovechamiento del alimento.

**CUADRO No. 3**  
**PATRÓN FAO/WHO 1985 DE AMINOÁCIDOS INDISPENSABLES**  
**(gramos de aminoácido/16 gramos de nitrógeno)**

AMINOÁCIDO	LACTANTES		PREESCOLARES
	MEDIA	RANGO*	(2 - 5 AÑOS)
ISOLEUCINA	4.6	(4.1 - 5.3)	2.8
LEUCINA	9.3	(8.3 - 10.7)	6.6
LISINA	6.6	(5.3 - 7.6)	5.8
METIONINA + CISTEÍNA	4.2	(2.9 - 6.0)	2.5
FENILALANINA + TIROSINA	7.2	(6.8 - 11.8)	6.3
TREONINA	4.3	(4.0 - 5.0)	3.4
TRIPTOFANO	1.7	(1.6 - 1.7)	1.1
VALINA	5.5	(4.4 - 7.7)	3.5
HISTIDINA	2.6	(1.8 - 3.6)	-

\* Composición de aminoácidos de la leche de mujer

Existen otras pruebas para determinar la calidad de una proteína, como los métodos microbiológicos, que se realizan con protozoarios y bacterias, y las pruebas biológicas, que se basan en la utilización metabólica de los alimentos proteínicos midiendo el crecimiento de animales de laboratorio (42).

### 3.2.4 Lípidos

Los lípidos desempeñan muchas funciones en los tejidos; además de ser una fuente energética importante, muchos de ellos cumplen una actividad biológica. Algunos son parte estructural de las membranas celulares y de los sistemas de transporte de diversos nutrimentos, otros son vitaminas y hormonas, algunos pigmentos, etc.

Las grasas son una fuente concentrada de energía sumamente útil para aumentar la densidad energética de la dieta, ya que su alto rendimiento energético puede ser aprovechable en la alimentación de los niños de corta edad, cuya capacidad gástrica es limitada. En base a lo anterior, a su aporte de ácidos grasos esenciales y a su influencia en la absorción de nutrimentos liposolubles, es recomendable que las grasas representen alrededor del 30 % de la energía total de la dieta en los lactantes (12, 35, 43).

La función de las grasas en la dieta es ser fuente de ácidos grasos, sustratos de elevado aporte energético (9 kcal/g). Cierta cantidad y tipos de grasas son esenciales en la dieta porque suministran ciertos ácidos grasos que al organismo humano no le es posible sintetizar. De esta forma, las grasas de la dieta deben aportar cantidades adecuadas de ácidos grasos esenciales de la serie del ácido linoleico (n-6) y del ácido alfa-linolénico (n-3). La importancia de los ácidos grasos esenciales radica en que forman parte de los fosfolípidos de las membranas celulares y dan origen a sustancias que tienen funciones reguladoras, como las prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y otras. Los requerimientos de estos ácidos en niños lactantes son del orden del 5 % de la energía alimentaria (12, 35).

### 3.2.5 Fibra dietética

La fibra dietética es un grupo de sustancias que no son digeridas por las enzimas endógenas de los mamíferos (44). Químicamente incluyen a la lignina y a varios polisacáridos que suelen dividirse en tres categorías:

1. Estructurales: celulosa, hemicelulosa, algunas pectinas, fructanos, mananos y galactomananos. Estos son parte constitutiva de la pared celular.
2. No estructurales: gomas, mucílagos, ciertas pectinas y polisacáridos de bacterias como el xantano.
3. De algas: agar, carragenato, alginatos, etc.

Además de los polisacáridos antes mencionados, actualmente se sabe que existen fracciones del almidón que no pueden ser digeridas por las enzimas del hombre (almidón resistente).

La fibra cruda es un concepto meramente analítico y corresponde químicamente con la celulosa y la lignina; a diferencia de esta, el concepto de fibra dietética tiene importantes implicaciones fisiológicas y comprende las numerosas sustancias mencionadas anteriormente. El concepto de fibra bruta ha quedado obsoleto y como, desafortunadamente no existe proporcionalidad entre los valores de fibra dietética y fibra cruda, la información sobre esta última no permite siquiera la estimación de la fibra dietética, por lo que los análisis hechos en base a fibra cruda carecen prácticamente de utilidad.

En términos generales, el procedimiento para la cuantificación de fibra cruda provoca la pérdida de 70 a 80% de la hemicelulosa, de 30 a 50% de la celulosa y hasta 90% de la lignina; algunos autores consideran que la cuantificación de fibra cruda es hasta seis veces la subestimación de la fibra dietética (24).

En conjunto, la fibra dietética tiene el efecto de "diluir" los demás componentes de la dieta; disminuyen las llamadas densidad energética y densidad de nutrimentos lo que, bajo ciertas condiciones, puede traducirse en menor ingestión neta, que, según el caso, puede ser benéfica o perjudicial. En el caso de los adultos, se ha comprobado que la fibra tiene un efecto benéfico en el organismo, debido a que su presencia en la dieta disminuye la aparición de enfermedades como la diabetes, obesidad, enfermedades del corazón, etc. Sin embargo, en el caso de los niños pequeños, una dieta con alto contenido en fibra dietética puede ser perjudicial, ya que una dieta muy abundante en fibra puede llegar a provocar problemas estomacales, sobre todo diarrea, ya que al hidratarse mucho ocasiona desequilibrio en el contenido de agua intestinal. Además, esta situación también tiene el inconveniente de que los polisacáridos se unen a elementos importantes como calcio, zinc, hierro, magnesio, fósforo y cobre, así como ocurre con la vitamina B<sub>12</sub> y con algunos aminoácidos, lo que provoca que estos nutrimentos no sean aprovechados porque son eliminados en las heces (24).

De acuerdo con las recomendaciones de la FAO, el nivel de fibra en alimentos para niños menores de un año no debe exceder el 2 % (43).

### **3.2.6 Micronutrientos**

Las vitaminas, al igual que los minerales son llamados micronutrientos. Los micronutrientos, denominados así porque el organismo sólo los necesita en cantidades minúsculas, son vitales en la producción de sustancias indispensables para regular el crecimiento, la actividad, el desarrollo y el funcionamiento de los sistemas inmunológico y reproductivo. En los primeros años de vida y otras épocas de crecimiento rápido, es indispensable ingerir cantidades adecuadas de micronutrientos.

#### **3.2.6.1 Vitaminas**

Las vitaminas cumplen funciones catalíticas en concentraciones muy bajas, ya que, comparadas con las proteínas, los hidratos de carbono y los lípidos, sólo representan de 0.015 a 0.02 % de la dieta de un individuo. No producen energía ni son parte de la estructura, pero actúan en el control y la catálisis de diversas reacciones propias del anabolismo y del catabolismo. La carencia de vitaminas en el organismo puede producir diferentes enfermedades.

La vitamina que con mayor frecuencia está deficiente en los niños es la vitamina A. Las deficiencias de vitamina A afectan a más de 100 millones de niños en el mundo y está relacionada con la muerte de 2.2 millones de niños debido a enfermedades diarreicas; sin embargo, se ha demostrado que se puede reducir la tasa de mortalidad por diarrea entre 30 y 50 % si los niños reciben suplementos de esta vitamina (1, 24).

#### **3.2.6.2 Minerales**

Algunos minerales son indispensables para que el organismo funcione de manera correcta debido a que su carencia puede producir problemas de salud. Algunos minerales actúan como cofactores de enzimas, para controlar la presión osmótica de fluidos celulares y pH, o como constituyentes de algunas macromoléculas.

De acuerdo a los requerimientos, los minerales se pueden clasificar en tres grupos:

1. Los de mayor requerimiento (en orden de mg): calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio, cloro y azufre.
2. Los que se requieren en cantidades menores (en orden de µg): hierro, cobre, yodo, manganeso, cobalto, zinc, molibdeno.
3. Los que se requieren en concentraciones mínimas (trazas): flúor, boro, selenio, cadmio, cromo y aluminio (24, 45).



En la actualidad, el mineral que se encuentra en deficiencia con mayor frecuencia en los niños es el hierro. La anemia por carencia de hierro, que reduce la resistencia a enfermedades y debilita la capacidad de aprendizaje y el vigor de los niños, es el problema más común relacionado con la nutrición; durante la infancia puede reducir el cociente intelectual en unos 9 puntos (1).

### **3.2.7 Fórmulas infantiles**

Es indiscutible que la lactancia materna es la alimentación ideal del neonato debido a que cubre los requerimientos nutricionales durante los primeros 4 a 6 meses de vida, aporta factores de defensa contra infecciones y favorece el vínculo emocional entre madre e hijo. Sin embargo, en ciertas situaciones es necesario complementar o reemplazar a la leche materna. En estos casos, los sucedáneos utilizados deben asegurar una nutrición adecuada, compatible con la madurez gastrointestinal del lactante y deben ser preparados en condiciones higiénicas, a fin de evitar el riesgo de infecciones gastrointestinales (8).

Los sucedáneos de la leche materna fueron definidos en 1981 en un acuerdo internacional como: "todo alimento comercializado o de otro modo presentado como sustituto parcial o total de la leche materna". Asimismo, se define como "preparación del lactante" a todo sucedáneo de la leche materna preparado industrialmente según normas aplicables al Codex Alimentarius para satisfacer las necesidades nutricionales de los lactantes hasta la edad de 4 a 6 meses y adaptado a sus características fisiológicas (46).

Por otra parte, las fórmulas infantiles de continuación son las preparaciones destinadas a los lactantes a partir de los 4 a 6 meses y que forman parte de una alimentación diversificada.

Existen diversos tipos de fórmulas para lactantes. Aquellas en las que la base es leche de vaca se elaboran con sólidos no grasos de leche y una mezcla de diversas grasas (generalmente aceites vegetales), vitaminas, minerales y otros componentes como taurina, carnitina, nucleótidos y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (47).

Debido a que algunos lactantes presentan alergia a las proteínas de la leche de vaca o intolerancia a la lactosa, existen fórmulas que emplean proteína aislada de soya suplementada con metionina, y en las que la lactosa es reemplazada por otros carbohidratos. Puesto que no contienen leche, eliminan las principales causas de intolerancia y alergia a la leche de vaca, es decir, lactosa y proteínas lácteas (8).

Existe otro tipo de fórmulas en las que la proteína suele ser reemplazada por hidrolizados proteínicos (de caseína o proteínas del suero); éstas fórmulas generalmente se designan como hipoalérgicas, lo que significa que presentan menor probabilidad de provocar reacciones alérgicas (48).

Además de las fórmulas ya mencionadas, existen otras fórmulas sin lactosa en las que los carbohidratos más frecuentemente utilizados son las maltodextrinas, ya que esto permite mantener una baja osmolaridad en el producto. Además, son bien digeridas, ya que la glucoamilasa intestinal mantiene su actividad aún cuando haya daños en la mucosa intestinal. Habitualmente, las maltodextrinas son el único carbohidrato presente, o bien es el mayoritario en mezclas con sacarosa o glucosa (8).

A continuación, en el cuadro No. 4, se presentan las especificaciones del contenido nutricional de acuerdo a la norma del IMSS para fórmulas no lácteas en polvo (49).

**CUADRO No. 4**  
**ESPECIFICACIONES DEL CONTENIDO NUTRICIONAL EN UNA FÓRMULA**  
**NO LÁCTEA EN POLVO**

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN
HUMEDAD	No más del 3 %
PROTEÍNA	13 - 18 %
GRASA VEGETAL	9 - 18 %
CARBOHIDRATOS	53 - 66 %

Es evidente que se han hecho esfuerzos por producir alimentos propios para lactantes con problemas de digestión a la lactosa a nivel mundial; sin embargo, la alimentación es un fenómeno muy complejo en el que hay dos aspectos que son de especial interés y que deben ser tomados en consideración: el cultural y el económico. De esta forma, la alimentación debe ser analizada desde un punto de vista nacional; conocer las experiencias en otros ámbitos es útil pero sólo de manera general, ya que al diferir en cuanto a geografía, clima, recursos, hábitos, costumbres, preferencias, estilos culinarios y limitaciones económicas y sociales, difieren en consecuencia las metas y los medios para alcanzarlas (50).

Por lo anterior, se ha recomendado que para la elaboración de alimentos para regímenes especiales se utilicen insumos nacionales, y que dichos alimentos puedan ser preparados a nivel del hogar (5).

Con el fin de obtener un alimento adecuado para lactantes con intolerancia a la lactosa que pueda ser producido en nuestro país, se han realizado varios estudios en la Facultad de Química. En estos estudios, se ha observado que con el enriquecimiento de los cereales con proteína de origen animal, se logra incrementar el nivel de los aminoácidos limitantes en proporciones adecuadas para proveer un balance óptimo de estos nutrimentos (5, 10, 51). En base a esto, se decidió optimizar la fórmula elaborada a base de harina de maíz, debido a que, además de ser la fórmula con la que se han obtenido los resultados más satisfactorios, el maíz es un cereal básico en la alimentación del país, el cual ha sido suplementado de manera adecuada con pechuga de pollo (11).

### **3.3 Materias primas**

A continuación se presentan las características más sobresalientes de las materias primas seleccionadas.

#### **3.3.1 Maíz**

El maíz es un cereal originario de América, pertenece a la familia de las gramíneas y al género *Zea*, el cual cuenta con una especie, *mays*, aunque se reconocen diferentes variedades que difieren principalmente en la estructura de la semilla (52, 53).

Este cereal es, en general, la fuente más económica de energía y proteínas, y es, además, el alimento básico en muchos países incluyendo México (54).

Cada variedad de maíz tiene una composición diferente, pero en general contiene de 8.5 – 10 % de proteínas, 3.5 – 4.5 % de grasa, 68 – 72 % de carbohidratos y 2 – 2.4 % de fibra.

La proteína del maíz está formada por diferentes fracciones: prolaminas (55 %), glutelinas (39 %), albúminas (4 %) y globulinas (2 %).

El maíz es deficiente en lisina y triptofano y la relación leucina/isoleucina es muy elevada, lo que hace que la calidad de la proteína sea reducida (24).

El carbohidrato principal en el maíz es el almidón (98 %), aunque también se encuentran otros carbohidratos más pequeños como la sacarosa, fructosa y rafinosa, los cuales se encuentran en cantidades pequeñas (1 – 3 %).

Los ácidos grasos presentes en el maíz son: linoleico, oleico, palmítico, esteárico, linoléico y araquidónico principalmente.

Con respecto al contenido de vitaminas, todas están presentes en el cereal, excepto el ácido fólico y la cianocobalamina. Las vitaminas que más destacan son la A, D y K, mientras que la niacina sólo es disponible después del proceso de nixtamalización (55).

En México, antes de ser consumido, el maíz es sometido a un proceso térmico-alcalino conocido como nixtamalización. En éste, el maíz se hierve en agua en proporción 1:3 y se le añade de 1 a 3 % de cal; el tiempo de cocimiento varía entre 20 y 40 minutos. A continuación, sigue un reposo de 10 a 14 horas, y se elimina el agua de cocción. Posteriormente el maíz es lavado con agua con el fin de eliminar el exceso de calcio. Finalmente, el maíz se muele para obtener masa.

La nixtamalización es un proceso a partir del cual el maíz experimenta un gran número de cambios: se destruyen algunos aminoácidos y vitaminas, se pierden algunos minerales, grasas, vitaminas y proteínas. Sin embargo, también se observan cambios favorables, ya que se mejora el perfil sensorial del alimento, el almidón se gelatiniza lo que facilita la digestión de este por parte del organismo, existe mayor biodisponibilidad de la lisina, triptofano y niacina, además de que la destrucción de leucina hace que la relación de este aminoácido con la isoleucina mejore de manera considerable (24, 56).

La ventaja de utilizar al maíz como materia prima para la elaboración de las fórmulas es que, además de ser un cereal inocuo, es altamente disponible, su precio es muy bajo, en nuestro país es el alimento que aporta más energía por unidad de precio, su valor sensorial es elevado y su valor cultural también (2).

### **3.3.2 Pollo**

El pollo es uno de los alimentos de origen animal más aceptados en el mundo. La alta calidad de su proteína, el bajo contenido de grasa y en general su bajo precio hacen al pollo un alimento de alta demanda.

La carne de pollo es una fuente de proteína, que además de ser de alta calidad, tiene una muy buena digestibilidad. La carne de pollo puede ser clasificada en dos tipos: carne blanca (principalmente la pechuga) y carne oscura (piernas). Estos músculos varían con respecto al contenido de mioglobina así como en cuanto al contenido de grasa.

La pechuga de pollo cruda y sin piel tiene aproximadamente un 70 % de humedad, y un elevado contenido de proteína (aproximadamente 25 %) que tiene todos los aminoácidos indispensables. Además, es una buena fuente de vitaminas del complejo B y minerales como fierro y fósforo, principalmente, aunque también es fuente de potasio, calcio, magnesio y cobre. El contenido de grasa es bajo, siendo de aproximadamente 3.5 % (54).

Por las características antes mencionadas, la pechuga de pollo es una buena alternativa para la elaboración de alimentos infantiles.

### **3.3.3 Dextrinas**

Las dextrinas son carbohidratos derivados del almidón. Estas se fabrican haciendo reaccionar el almidón con ácidos a una temperatura de 95 a 120°C, con lo cual se favorece la hidrólisis del carbohidrato en lugar de su polimerización (24).

Se ha recomendado que para la elaboración de fórmulas infantiles sin lactosa, se recurra al empleo de dextrinas como fuente de carbohidratos, debido a que el uso de estas permite contar con una fuente de carbohidratos de fácil digestión, ya que la glucoamilasa de la mucosa intestinal mantiene su actividad aún cuando existan daños en la misma y deficiencias de lactasa y sacarasa. Además, el uso de dextrinas permite mantener una baja osmolaridad en el producto, lo cual es de gran ayuda durante el tratamiento de la desnutrición, intolerancia a la lactosa y diarrea. La importancia de la osmolaridad del alimento radica en que al ser introducido en el tubo digestivo, éste responde con secreción

de agua y electrolitos hasta lograr un equilibrio entre la osmolaridad intraluminal e intersticial. Cuando la osmolaridad del alimento es elevada, puede tener lugar un flujo masivo de líquido hacia la luz intestinal con producción de diarreas y de manera eventual, de daños en la pared intestinal (8).

Para mejorar la fórmula elaborada con harina de maíz y pollo, se decidió el uso de dextrinas, ya que, además de tener las propiedades antes mencionadas, tiene la ventaja de que, al ser utilizada como fuente de carbohidratos en combinación con la harina de maíz, ayuda a que disminuya el contenido de fibra dietética en el alimento.

### **3.4 Conservación de los alimentos por deshidratación**

La descomposición de los alimentos ocurre principalmente como resultado de las reacciones químicas relacionadas con el proceso de envejecimiento y deterioro, por la acción de los microorganismos, o por medio de una combinación de los dos. Además del deterioro químico y el ataque por microorganismos, el enranciamiento, la contaminación con suciedad y productos químicos y los daños causados por las plagas e insectos y de animales vertebrados son factores que contribuyen al deterioro de los alimentos (57).

Si se desea que los alimentos se mantengan en buenas condiciones durante un determinado tiempo, es esencial impedir el desarrollo de los microorganismos. Lo anterior se lleva a cabo creando un ambiente que retarde o detenga el crecimiento de los microorganismos.

Los microorganismos requieren agua para crecer y reproducirse; la conservación por deshidratación saca provecho de esta situación. El contenido de agua del producto se reduce por debajo de un determinado valor crítico y se hace imposible el crecimiento de los microorganismos.

La deshidratación se lleva a cabo por lo general haciendo pasar aire a una temperatura y humedad cuidadosamente reguladas sobre o a través del alimento en desecadores de bandeja, secadores del tipo túnel o tambores secadores rotatorios. La aplicación de calor durante la deshidratación reduce el número total de microorganismos, destruyéndose todas las levaduras y la mayoría de las bacterias; sin embargo, las esporas bacterianas y fúngicas suelen sobrevivir, al igual que algunas bacterias termorresistentes.

Además de las ventajas correspondientes al contenido microbiano del alimento, con la deshidratación la vida de almacenamiento aumenta de manera considerable y la pérdida de vitamina A y ácido ascórbico disminuye considerablemente en ausencia de oxígeno (57, 58).

Por lo anterior, la deshidratación es un método recomendable para la conservación de alimentos, especialmente tratándose de alimentos destinados a niños de corta edad.

#### **3.4.1 Secado por aspersión**

El secado por aspersión es el método más aceptado para la deshidratación de los alimentos. Se emplea para la producción de sólidos secos en forma de polvo, granulados o aglomerados partiendo de productos líquidos tales como soluciones, emulsiones suspensiones de baja viscosidad.

El proceso de secado consiste de tres etapas:

- Atomización de un líquido en una nube de gotas pequeñas
- Contacto de las gotas con aire caliente para lograr la evaporación del agua
- Separación del producto deshidratado y el aire por medio de un ciclón

Durante el proceso de secado por aspersión deben cuidarse varios factores, como las temperaturas de entrada y salida, la velocidad de flujo del aire y la presión. Probablemente, las temperaturas de entrada y salida son los factores que más influyen en las características finales del polvo obtenido; entre más alta sea la temperatura de entrada y más baja la temperatura de salida, será más eficiente la operación de secado. La temperatura más alta de entrada que pueda emplearse está determinada por la sensibilidad del alimento al calor. Para la mayor parte de los alimentos, el límite es de 200°C.

Una de las características más importantes del secado por aspersión es que conserva bien las propiedades sensoriales y nutricionales de los alimentos, debido a la rapidez del secado (53, 59). Sin embargo, el empleo de temperaturas elevadas durante el proceso de deshidratación puede provocar la destrucción de algunas vitaminas y aminoácidos, así como la racemización de éstos últimos lo cual constituye una desventaja, por lo que es recomendable analizar la composición de la proteína y el contenido de vitaminas en el producto final con el fin de adicionar estos nutrimentos en caso de ser necesario.

### **3.5 Análisis proximal**

El análisis proximal es la estimación porcentual de los componentes de un alimento. Este análisis incluye las determinaciones de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda, fibra y carbohidratos asimilables por diferencia.

#### **3.5.1 Humedad**

La humedad es el material perdido por un alimento durante el calentamiento de éste a temperaturas superiores a la de ebullición del agua, o al ponerlo en contacto con un agente deshidratante.

La determinación del contenido de humedad es una de las medidas más importantes y ampliamente usadas en el procesado y control de los alimentos, ya que es importante para calcular el valor nutritivo del alimento, permite expresar los resultados analíticos en una base uniforme, además de que representa un factor de calidad, conservación y resistencia al deterioro del alimento.

Los métodos usados para determinar la humedad están basados en la eliminación del agua del alimento y su medida por la pérdida de peso o la cantidad de agua separada. La desecación en horno de aire o vacío a 70-140°C se considera un método directo y veraz siempre que no se produzca descomposición térmica de la muestra y que el agua sea el único componente volátil eliminado (60).

#### **3.5.2 Cenizas**

Todos los alimentos contienen elementos minerales formando parte de compuestos orgánicos e inorgánicos; las cenizas son el producto de la calcinación del material orgánico o inorgánico a altas temperaturas (500-600°C)

El contenido de cenizas puede indicar el grado de refinación en ciertos alimentos, como es el caso de las harinas, además de que permite determinar si existen adulteraciones en el alimento (61).

#### **3.5.3 Proteína cruda**

Para la determinación de proteína, generalmente se emplea el método de Kjeldahl, en el cual no se mide directamente la proteína, sino que se utiliza un factor empírico para convertir el nitrógeno total en proteína. El método se basa en el hecho de que la mayoría de las proteínas tienen una cantidad aproximada de 16% de nitrógeno, de lo cual surge un



factor empírico (6.25) a partir del cual se calcula la cantidad de proteína presente en el alimento a partir del contenido de nitrógeno total presente en el alimento (60).

### **3.5.4 Grasa cruda**

El término grasa cruda se refiere al conjunto de sustancias que pueden ser extraídas con éter etílico. Incluye además de los ésteres de los ácidos grasos con el glicerol a los fosfolípidos, las lecitinas, los esteroides, las ceras, los ácidos grasos libres, los carotenoides, la clorofila y otros pigmentos.

Para la determinación de grasa cruda se utilizan equipos de extracción, siendo el aparato de Goldfish uno de los más comunes. Este extractor es continuo, ya que durante el tiempo de extracción el disolvente empleado (generalmente éter etílico) se encuentra en contacto con la muestra (60).

### **3.5.5 Fibra dietética**

El término fibra dietética fue introducido en 1953 por Hipsley y fue definida inicialmente como consistente de remanentes de células de plantas resistentes a la hidrólisis por parte de las enzimas alimentarias del hombre. Esta definición fue modificada para incluir hemicelulosas, celulosas, ligninas, oligosacáridos no digeribles, pectinas, gomas, ceras y fracciones de almidón resistente. Esta definición más amplia resalta el significado de la fibra como un componente químico y fisiológico de la dieta (44).

La determinación más empleada para cuantificar la fibra presente en los alimentos es utilizando el método para medir fibra cruda. Este es un método gravimétrico basado en la cuantificación del residuo obtenido del alimento después de ser hidrolizado primero con ácido diluido y después en álcali. Con este tratamiento, se elimina el almidón, azúcar, proteína y minerales del alimento, y cantidades variables de celulosa, hemicelulosa y lignina son solubilizadas por este tratamiento, por lo que la medición del material obtenido es muy variable (44,62,63).

Actualmente, para determinar la fibra dietética presente en un alimento se utiliza un método que es una combinación de determinaciones enzimáticas y gravimétricas. En este método, el alimento es tratado con enzimas para hidrolizar aquellas fracciones de carbohidratos que pueden ser hidrolizadas por las enzimas endógenas del hombre y se cuantifican aquellas fracciones que no hayan sido hidrolizadas, las cuales corresponden a la fibra dietética.

### **3.5.6 Carbohidratos asimilables por diferencia**

Los carbohidratos asimilables son aquellos que pueden ser digeridos y absorbidos por el organismo humano.

Debido a que es difícil determinar la cantidad de carbohidratos asimilables presentes en un alimento de manera práctica, estos generalmente se determinan por diferencia después de cuantificar los demás componentes del alimento, es decir, humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra dietética.

### **3.6 Análisis microbiológico**

Los microorganismos tienen un papel muy importante en la descomposición de los alimentos debido a que éstos son buenos medios de cultivo para el crecimiento de los microorganismos. Además de causar la descomposición de los alimentos, algunos microorganismos, o las toxinas que producen, son nocivos para los seres humanos, y si se ingieren alimentos contaminados por ellos pueden dar como resultado infecciones, intoxicaciones o toxi-infecciones.

Las infecciones son enfermedades causadas por la entrada al organismo de microorganismos patógenos, su colonización, la reacción de los tejidos a su presencia, desarrollo o multiplicación.

Por otra parte, la intoxicación alimentaria es la enfermedad causada por la ingestión de un alimento en el que estén presentes compuestos químicos, toxinas o sustancias que pueden encontrarse en algunos alimentos en forma natural (64).

La contaminación de los alimentos con microorganismos puede tener lugar durante su industrialización o durante su preparación; esto es de gran importancia, ya que para que un alimento se considere de buena calidad higiénica debe estar exento de microorganismos peligrosos, o su presencia debe ser tal que se encuentren a un nivel al que se considere inocuo (65).

Cada microorganismo tiene un medio ambiente particular y se le puede asociar con la procedencia de los alimentos. De esta forma, puede predecirse el tipo de microorganismos que pueden encontrarse en un alimento determinado (64).

### 3.6.1 Mesófilos aerobios

Existen microorganismos que advierten el riesgo de contaminación con microorganismos patógenos; este es el caso de los mesófilos aerobios. La presencia de mesófilos aerobios a altas concentraciones indica una posible presencia de microorganismos patógenos, por lo que su determinación se emplea con frecuencia en los análisis para conocer la calidad microbiológica de los alimentos.

Las ventajas que tiene la detección de los mesófilos aerobios con respecto a los microorganismos patógenos son las siguientes:

1. Son más resistentes y sobreviven más tiempo que los patógenos
2. La detección en laboratorio es más rápida, fácil y confiable

El método utilizado habitualmente para el recuento de la flora mesófila aerobia es el método de cuenta estándar en placa. En este método, el número de colonias contadas en el medio constituye una estimación de la cifra realmente presente de microorganismos en el alimento (64).

### 3.6.2 Coliformes

Los organismos coliformes son bacilos cortos, gram (-), no esporulados, lactosa (+) con producción de gas en 48 horas a 35°C, oxidasa (-), resistentes a sales biliares y a colorantes; es importante detectar su presencia en los alimentos ya que estos son buenos indicadores de contaminación fecal.

Además de *Escherichia coli*, el grupo de coliformes comprende las especies de *Enterobacter* y *Klebsiella*, las cuales no son de origen fecal.

La metodología para la determinación de los coliformes totales, de los coliformes fecales y de *E. coli* comprende tres pasos sucesivos de complejidad creciente.

Para la determinación de coliformes totales la técnica más utilizada es la del número más probable (NMP) que comprende los siguientes pasos:

- a) Prueba presuntiva. En este paso se seleccionan los tubos de caldo lactosado en los que se observe formación de gas.
- b) Prueba confirmativa. En este segundo paso se utiliza en medio selectivo como el caldo bilis verde brillante.

Para la determinación de coliformes fecales se propone la utilización del caldo EC con incubación de  $45.5^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$  a partir de los tubos de caldo lauril sulfato triptosa gas positivo (64).

### 3.6.3 *Salmonella*

El género *Salmonella* está formado por bacilos no esporulados gram (-) de tamaño pequeño, fermentan glucosa generalmente con producción de gas, pero no fermentan lactosa o sacarosa. Se desarrollan en un amplio rango de temperatura, pH y Aw, siempre y cuando el medio de cultivo sea el adecuado. Normalmente la bacteria se multiplica en el alimento hasta alcanzar un número muy elevado, aumentando las posibilidades de infección.

Todos los miembros del género *Salmonella* son patógenos potenciales para las personas, y la transmisión de la enfermedad suele proceder de la ingestión de alimentos o transmisión directa entre personas. Los alimentos implicados en la transmisión de *Salmonella* son: leche cruda, huevos, carne, fresas, etc.

La probabilidad para que se produzca una infección al consumir un alimento que contiene *Salmonella* depende de numerosas circunstancias, entre las que se cuentan la resistencia del consumidor, la virulencia de la especie de *Salmonella* y el número de microorganismos ingeridos.

Existen cerca de 2 000 tipos serológicos clasificados de acuerdo a sus antígenos, los cuales presentan diferentes grados de virulencia en animales, siendo *Salmonella typhi* el miembro más virulento de este grupo y el responsable de la fiebre tifoidea.

### 3.6.4 *Staphylococcus aureus*

Estos microorganismos son cocos facultativos, no móviles, no esporulados y gram-positivos. Su metabolismo es respiratorio y fermentativo. Puede utilizar una gran variedad de carbohidratos en condiciones aerobias con la producción de ácido. En condiciones anaerobias, el producto principal de la fermentación es el ácido láctico y en condiciones aerobias el producto principal es el ácido acético con pequeñas cantidades de  $\text{CO}_2$ . *Staphylococcus aureus* está comúnmente asociado a casos de artritis, osteomielitis, meningitis, neumonía y en algunos casos puede llegar a ocasionar la pérdida del conocimiento. Las cepas de este microorganismo que producen enzimas extracelulares y toxinas son las más importantes en casos de intoxicaciones alimentarias.

Las cepas de *Staphylococcus* habitan en garganta y nariz de muchos individuos sin causar daño aparente, pudiendo transferirse de los dedos y manos a los alimentos, en donde pueden desarrollarse rápidamente. Las condiciones óptimas para el desarrollo de estas cepas son: 1) pH cercano a la neutralidad, 2) temperatura alrededor de 30°C y 3) ausencia de microorganismos competitivos.

Se ha estimado que el número de *Staphylococcus aureus* requeridos para producir suficiente toxina para provocar enfermedad debe ser mayor a 1 millón por gramo. Los alimentos contaminados con esta cantidad no presentan ninguna diferencia perceptible con alimentos no contaminados. Existen 5 enterotoxinas conocidas como A, B, C, D y E involucradas en intoxicaciones alimentarias, siendo la toxina A la más nociva, necesitándose tan solo un microorganismo con enterotoxina del tipo A para poder causar enfermedad en humanos.

### **3.6.5 Hongos y levaduras**

Aunque algunos hongos intervienen en la fabricación de alimentos, otros producen alteraciones en los alimentos, y otros generan toxinas con efectos dañinos en el hombre.

Las levaduras y hongos crecen más lentamente que las bacterias en alimentos no ácidos y húmedos y por lo tanto rara vez causan problemas en tales alimentos. Sin embargo, en alimentos ácidos y con baja actividad acuosa, sobrepasan el desarrollo de las bacterias y causan grandes pérdidas en frutas frescas, jugos, verduras, quesos, cereales, alimentos salados y encurtidos y alimentos deshidratados y congelados que se almacenan en forma inadecuada.

#### **3.6.5.1 Hongos**

Los hongos son microorganismos eucarióticos y quimioorganotróficos. Fisiológicamente, los hongos se adaptan a condiciones más severas que otros microorganismos:

- A diferencia de las bacterias, soportan una presión osmótica elevada
- Pueden tolerar y desarrollarse en condiciones de acidez elevada. Su pH óptimo es 5.6, aunque pueden sobrevivir a pH entre 2 y 9.

La mayor parte de los hongos son aerobios estrictos, y su temperatura óptima de desarrollo está entre 22 y 30°C para la mayoría de las especies, aunque algunos hongos pueden desarrollarse a 0°C y otros hasta 62°C.

Los hongos pueden utilizar varias fuentes de carbono, principalmente glucosa, sacarosa, maltosa y algunos polisacáridos como el almidón y las celulosas (66).

Ciertos hongos producen sustancias venenosas conocidas como micotoxinas. las que son dañinas si se ingieren. Por ejemplo, el hongo *Aspergillus flavus* que se desarrolla en los cereales produce aflatoxinas que causan una grave enfermedad si son ingeridas.

### 3.6.5.2 Levaduras

Las levaduras se distinguen de los hongos debido a que su forma dominante es unicelular. Además, las levaduras crecen más rápidamente que los hongos pero frecuentemente junto con ellos. Mientras que los hongos son estrictamente aerobios, las levaduras pueden crecer sin presencia de oxígeno, aunque más rápidamente y en poblaciones más grandes en presencia de oxígeno.

Las levaduras pueden desarrollarse a temperaturas desde 0 hasta 47°C. siendo su temperatura óptima de crecimiento entre 20 y 30°C y la de las variedades patógenas está entre 30 y 37°C.

En general, las levaduras se desarrollan mejor a pH ácido (entre 3.5 y 3.8), donde se inhiben casi todas las bacterias (65, 66).

A continuación, se presentan las especificaciones de microorganismos en fórmulas no lácteas (49).

## ESPECIFICACIONES DE MICROORGANISMOS EN FÓRMULA EN POLVO NO LÁCTEA

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN
Cuenta microbiana	No más de 10 000 UFC*/g
Hongos y levaduras	No más de 50 UFC*/g
Salmonella sp	Ausente
Staphylococcus aureus	Ausente
Escherichia coli	Ausente

\* UFC Unidades Formadoras de Colonias

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 Materias primas

- Pechuga de pollo sin hueso y sin piel
- Harina de maíz nixtamalizado ( marca Minsa)\*
- Harina de maíz nixtamalizado (marca Maseca)\*
- Maíz crudo
- Dextrinas (almidón de maíz marca Maizena)
- Aceite de maíz (marca Capullo)

Todas las materias primas fueron adquiridas en tiendas de autoservicio.

\* Se eligieron estas dos marcas de harina de maíz nixtamalizado porque son las que se encuentran más frecuentemente en las tiendas de autoservicio.

### 4.2 Metodología

La metodología para la elaboración y análisis de las fórmulas fue la siguiente:

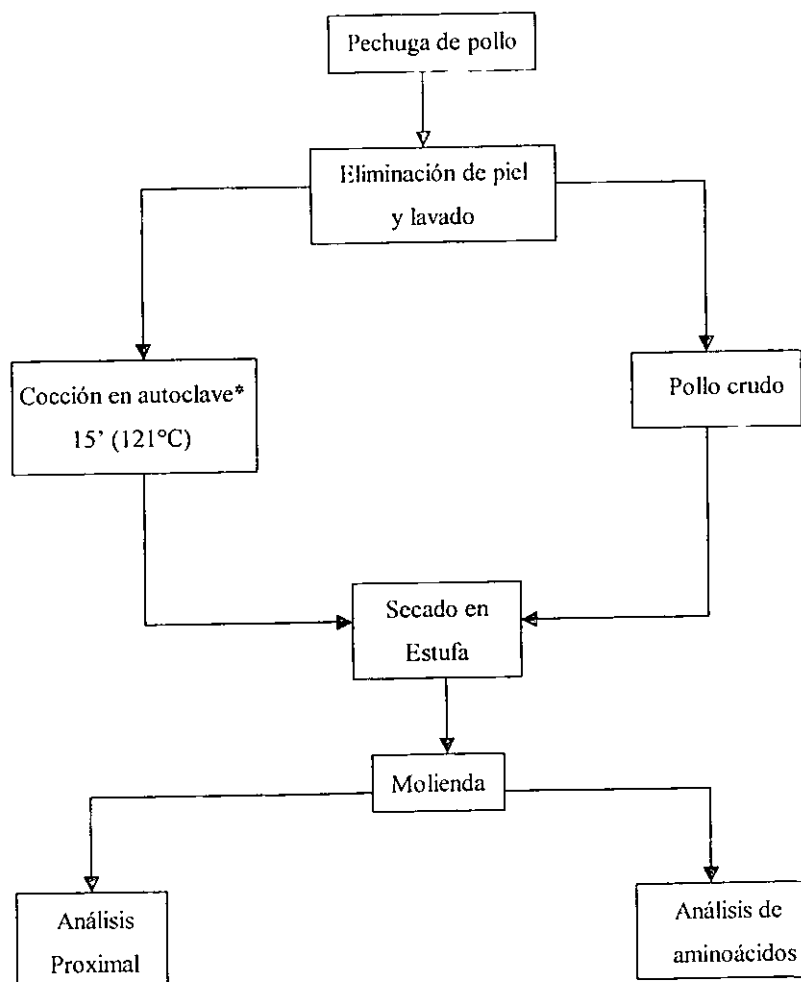
1. Análisis proximal de las materias primas antes mencionadas. En el caso del pollo, el análisis se realizó tanto al pollo crudo como al pollo cocido.
2. Análisis de aminoácidos de las materias primas (excepto dextrinas).
3. Selección de las materias primas de acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis proximales y de aminoácidos.
4. Elaboración de mezclas a partir de las materias primas seleccionadas.
5. Secado por aspersión de las mezclas para obtener polvos.
6. Análisis proximal de los polvos obtenidos y de una fórmula comercial.
7. Análisis de aminoácidos de los polvos y de la fórmula comercial.
8. Análisis microbiológico de las fórmulas elaboradas.

Para realizar los análisis de las materias primas, fue necesario secar previamente aquellas con un contenido de humedad elevado (pollo crudo, pollo cocido y maíz crudo). Estas fueron secadas en una estufa a 55 - 60°C durante 12 horas. Posteriormente, las materias primas secas fueron molidas en un molino Thomas-Wiley y pasadas a través de malla de 1 mm de diámetro.

El análisis de la fórmula comercial se llevó a cabo con el fin de compararla con las fórmulas elaboradas. Esta fórmula, elaborada con proteína aislada de soya es de la marca Nursoy y fue adquirida en un centro comercial.

En las figuras No. 1 y 2 se muestra el proceso de acondicionamiento de las materias primas.

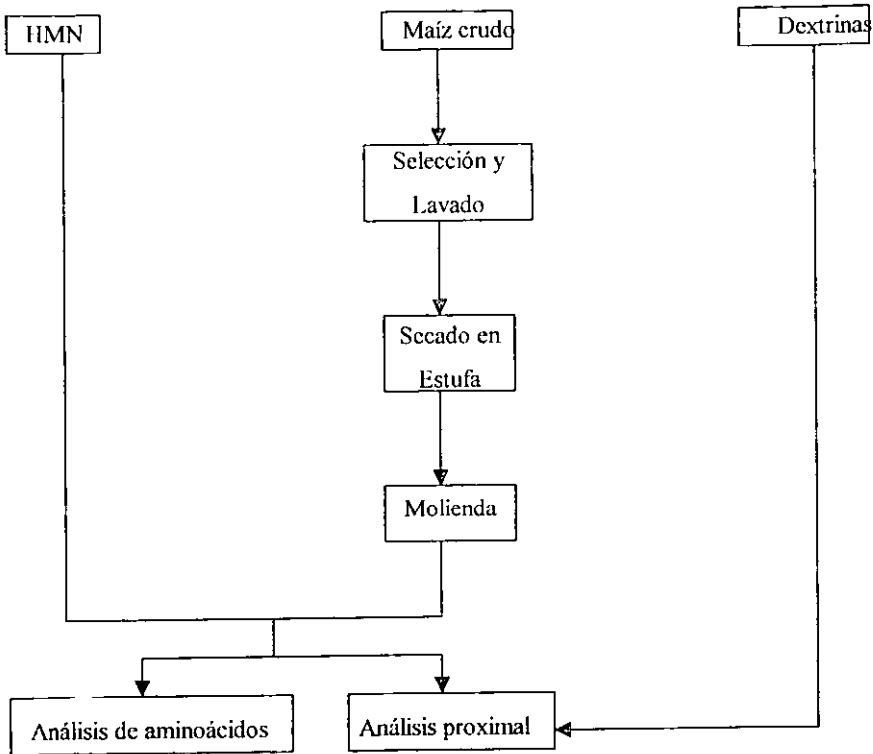
**FIGURA No. 1**  
**ACONDICIONAMIENTO DE LAS MATERIAS PRIMAS**



\* Relación pollo-agua 1:3



FIGURA No. 2  
ACONDICIONAMIENTO DE LAS MATERIAS PRIMAS



Para fines prácticos, a lo largo del trabajo, las materias primas se nombrarán de la siguiente forma: HMC (harina de maíz crudo), HMN 1 (harina de maíz nixtamalizado marca Minsa), HMN 2 (harina de maíz nixtamalizado marca Maseca).

### 4.3 Elaboración de las fórmulas

Se elaboraron cuatro fórmulas diferentes, en las cuales se varió la proporción de las materias primas. En la primer fórmula, únicamente se utilizaron pollo cocido y harina de maíz nixtamalizado (fórmula P-HMN) con una proporción 50:50 con respecto a la proteína. La segunda fórmula fue elaborada utilizando pollo cocido como única fuente de proteínas y dextrinas como fuente de carbohidratos (fórmula P-D). En las dos fórmulas restantes, primero se hizo una mezcla con harina de maíz nixtamalizado y dextrinas en proporción 65:35 con respecto al peso; en la tercer fórmula, la mezcla anterior se combinó con pollo cocido de tal forma que la composición de la proteína fue 50:50 pollo-harina de maíz (fórmula P-HMN-D 50:50). En la cuarta fórmula, la mezcla harina de maíz-dextrinas se combinó con pollo cocido, y la composición de la proteína fue 65:35 pollo-harina de maíz (fórmula P-HMN-D 65:35).

En el cuadro No. 1, se muestra la proporción de las materias primas utilizadas para la elaboración de las fórmulas.

**CUADRO No. 1**  
**MEZCLAS ELABORADAS**

MEZCLA	% PROTEÍNA
POLLO-HMN <sup>1</sup>	POLLO-HMN 50:50
POLLO-DEXTRINAS	POLLO 100
POLLO-HMN-D <sup>2</sup>	POLLO-HMN 50:50
POLLO-HMN-D <sup>3</sup>	POLLO-HMN 65:35

<sup>1</sup> HMN: harina de maíz nixtamalizado marca Minsa

<sup>2</sup> y <sup>3</sup>: utilizando mezcla HMN-Dextrinas en proporción 65:35 en peso

Para la elaboración de las mezclas, se consideraron los análisis proximales realizados a las materias primas con el fin de calcular de manera teórica la composición de las mezclas para que estas tuvieran una composición similar a la especificada en la norma del IMSS.

Además de las materias primas ya mencionadas, se utilizaron otros ingredientes para la elaboración de las fórmulas:

- Aceite de maíz como fuente de grasa
- Lecitina de soya como emulsificante
- Goma xantana como estabilizante para la mejor dispersión de los sólidos del producto
- Palmitato de ascorbilo como antioxidante
- Lactato de calcio como agente sinérgico del palmitato de ascorbilo

Los aditivos empleados se añadieron de acuerdo a las cantidades recomendadas por los fabricantes y a los estudios realizados anteriormente (10, 11).

A continuación, en el cuadro No. 2, se presenta la composición porcentual de cada una de las fórmulas en base húmeda:

**CUADRO No. 2**  
**COMPOSICIÓN PORCENTUAL DE LAS FÓRMULAS ELABORADAS**

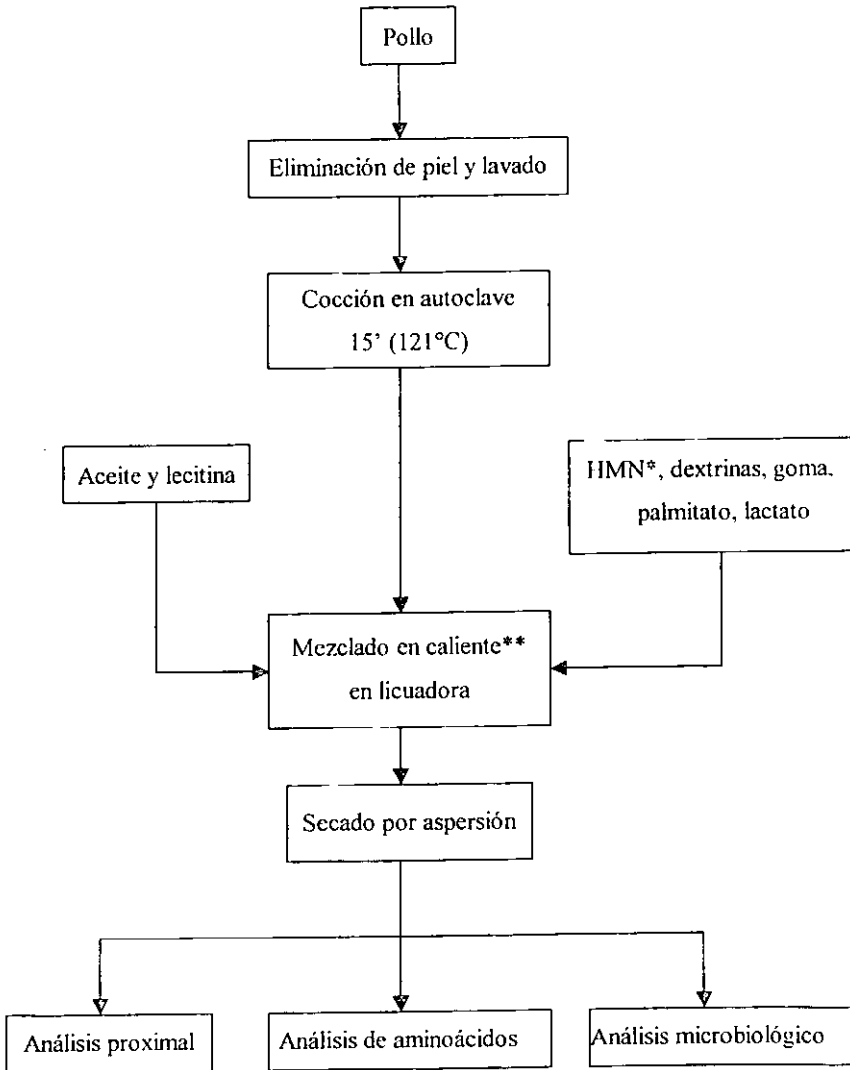
INGREDIENTE	FÓRMULA 1 <sup>1</sup>	FÓRMULA 2 <sup>2</sup>	FÓRMULA 3 <sup>3</sup>	FÓRMULA 4 <sup>4</sup>
POLLO	21.73	40.08	14.46	23.42
HMN	58.85	-	46.06	40.21
DEXTRINAS	-	41.95	24.80	21.65
ACEITE	17.35	15.91	12.61	12.65
LECITINA	1.00	1.00	1.00	1.00
GOMA	0.06	0.06	0.06	0.06
PALMITATO	0.01	0.01	0.01	0.01
LACTATO	1.00	1.00	1.00	1.00

1. Fórmula 1: pollo-harina de maíz (proteína 50:50)
2. Fórmula 2: pollo-dextrinas
3. Fórmula 3: pollo-harina de maíz-dextrinas (proteína 50:50)
4. Fórmula 4: pollo-harina de maíz-dextrinas (proteína 65:35)

Se elaboraron 500 gramos de cada una de las mezclas de acuerdo al cuadro No. 2.

En la figura No. 3 se muestra el procedimiento que se siguió para la elaboración de las fórmulas.

**FIGURA No. 3**  
**ELABORACIÓN DE LAS FÓRMULAS**



\* HMN: harina de maíz nixtamalizado

\*\* Incluyendo agua de cocción del pollo

## 5. METODOLOGÍAS

### 5.1 Análisis proximal

Tanto a las materias primas como a los polvos obtenidos mediante el secado por aspersión se les realizó un análisis proximal de acuerdo a los métodos del A.O.A.C., siendo las determinaciones las siguientes:

- Humedad
- Cenizas
- Proteína cruda
- Grasa cruda
- Fibra dietética
- Carbohidratos por diferencia

#### 5.1.1 Humedad

##### **Fundamento:**

La determinación se basa en la eliminación de agua en forma de vapor mediante la aplicación de calor. Esta pérdida de humedad puede realizarse a presión reducida, abatiéndose el punto de ebullición del agua, y disminuyendo el daño que pueda sufrir la muestra debido a la temperatura elevada (61).

##### **Material:**

- Estufa de vacío LAB-LINE mod. 3620
- Charolas de aluminio
- Desecador
- Balanza analítica

##### **Procedimiento:**

Se pesan de 2 a 3 gramos de muestra molida y homogénea en una charola que ha sido previamente pesada después de ponerla a peso constante 2 horas aproximadamente a 60 – 65°C. Secar la muestra 2 horas en la estufa a 60 – 65°C. Retirar de la estufa, dejar enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir las operaciones de secado hasta peso constante, es decir, que dos pesadas sucesivas no registren una diferencia de 0.001 g.

**Cálculos:**

$$\text{Humedad} = \frac{P_i - P_f}{m} \times 100$$

Donde:

$P_i$  = Peso de la charola más muestra húmeda (g)

$P_f$  = Peso de la charola más muestra seca (g)

$m$  = Peso de la muestra (g)

**5.1.2 Cenizas****Fundamento:**

Las cenizas forman el residuo inorgánico que queda después de una incineración de la materia orgánica del alimento. Éstas pueden cuantificarse por medio de una diferencia de pesos después de realizada la incineración (61).

**Material:**

- Mufla THERMOLYNE, MOD. 1500
- Balanza analítica
- Desecador
- Crisoles de porcelana

**Procedimiento:**

Pesar de 3 a 5 gramos de muestra en un crisol previamente pesado, después de ponerlo a peso constante 2 horas aproximadamente en la mufla a 600°C. Calcinar la muestra con un mechero en una campana hasta que no se desprendan humos y posteriormente llevar a la mufla durante 2 horas cuidando que la temperatura no pase de 550°C. Repetir la operación anterior si es necesario, hasta conseguir cenizas blancas o ligeramente grises, homogéneas. Enfriar en desecador y pesar.

**Cálculos:**

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_f - P_o}{m} \times 100$$

Donde:

Pf = Peso del crisol con las cenizas (g)

Po = Peso del crisol vacío (g)

m = Peso de la muestra (g)

### 5.1.3 Proteína cruda

#### Fundamento:

El método de Kjeldahl se basa en la digestión completa de la muestra con ácido sulfúrico concentrado y ácido fosfórico, utilizando sulfato de cobre como catalizador; de esta forma se produce una sal de sulfato ácido de amonio. Añadiendo posteriormente álcali al digerido se libera amoniaco que entonces puede ser destilado y fijado en una solución de ácido bórico formándose borato de amonio, el cual es titulado con una solución valorada de ácido clorhídrico. Este método no mide directamente la proteína, sino que utiliza un factor empírico para convertir el nitrógeno en proteína (60).

#### Material y reactivos:

- Digestor TECATOR mod. Ab-20/40
  - Autoanalizador de proteína TECATOR mod. 1030
  - Tubos de digestión TECATOR de 75 ml
  - Balanza analítica
  - Mezcla digestiva (a)
  - Peróxido de hidrógeno al 30 %
  - Sulfato de potasio RA
  - Solución de hidróxido de sodio al 40 %
  - Solución de ácido bórico al 1 % con indicadores (b)
  - Solución de ácido clorhídrico 0.01 N valorada
- a) Mezcla digestiva: disolver 3 g de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) en 20 ml de agua destilada; agregar 50 ml de ácido ortofosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) y una vez disuelta la sal, adicionar cuidadosamente 430 ml de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Agitar la mezcla durante 30 minutos aproximadamente.
- b) Solución de ácido bórico con indicadores: se pesan 100 g de ácido bórico en 10 litros de agua destilada. A continuación se agregan 100 ml de verde de bromocresol (100 mg en 100 ml de metanol). Posteriormente, agregar 70 ml de rojo de metilo (100 mg en 100 ml de metanol). Mezclar vigorosamente. Para ajustar la solución, tomar 25 ml de ácido bórico con indicadores y mezclarlos con 100 ml de agua



destilada. La solución debe dar un tono gris, si persiste el color rojo inicial, ajustar con solución de NaOH 0.1 N hasta obtener el color gris-vire (ml NaOH 0.1 N = ml título x 40). Una vez calculada la cantidad de NaOH 0.1 N necesaria, agregar el volumen calculado al ácido bórico y agitar.

### Procedimiento

Pesar de 10 a 100 mg de muestra (dependiendo de la cantidad de proteína presente en la misma) en un papel delgado. Introducir en un tubo de digestión, agregar 0.5 g de sulfato de potasio y 3 ml de mezcla digestiva. Colocar el matraz en el digestor a 370 °C durante 15 minutos. Sacar el tubo del digestor, dejar enfriar y adicionar 1.5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y colocar nuevamente en el digestor hasta total destrucción de la materia orgánica, es decir, hasta que el líquido quede transparente, con una coloración azul verdosa.

Se deja enfriar el tubo hasta temperatura ambiente y se procede a destilar en el autoanalizador de proteína.

Destilación: se deben revisar los niveles de todos los reactivos y que la llave del agua esté abierta. Una vez encendido el equipo, se debe llenar la tubería con ácido bórico para desplazar al ácido que se haya acumulado. El reactivo debe salir de color rojo. A continuación, introducir un tubo sin muestra en el sitio correspondiente y cerrar la puerta de seguridad; esperar a que el vapor sea generado, dejar destilar dos veces y sacar el tubo. Posteriormente, pueden introducirse los tubos con muestra a los cuales se les ha agregado previamente 25 ml de agua destilada. Al colocar los tubos, deben introducirse primero los blancos y después las muestras. El equipo proporciona de manera automática el volumen de HCl 0.01 gastado en la titulación; anotar este volumen. Finalmente, después del último tubo con muestra, introducir un tubo con agua y destilar.

### Cálculos:

Es conveniente realizar un blanco en donde se sustituya la muestra por el equivalente en peso de glucosa.

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(P - B) \times N \times \text{meq} \times 100}{m}$$

$$\% \text{ Proteína cruda} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6.25$$

Donde:

P = ml de ácido de la titulación de las muestras

B = ml de ácido de la titulación del blanco

N = normalidad de la solución de HCl

meq = miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

m = peso de la muestra en gramos

#### 5.1.4 Grasa

##### Fundamento:

La determinación se basa en la solubilidad de las grasas en éter etílico, el cual al ser calentado se volatiliza, y al hacer contacto con una superficie fría se condensa y pasa a través de la muestra extrayendo sustancias solubles en el éter. Finalmente, el éter se evapora y en el vaso queda el residuo conocido como grasa cruda, el cual contiene la mezcla cruda de las materias lipídicas (60, 61).

##### Material y reactivos:

- Equipo para desengrasar Goldfish marca LABCONCO
- Balanza analítica
- Estufa de vacío LAB-LINE mod. 3620
- Cartuchos de celulosa de 22 x 80 mm
- Vasos de borde esmerilado
- Éter etílico RA

##### Procedimiento

Pesar de 2 a 5 g de muestra seca en un cartucho de celulosa y tapar con un algodón. Situar el cartucho en un sostén con el fondo perforado y colocarlo en el seguro metálico del aparato. Adicionar 50 ml de éter etílico en un vaso para Goldfish puesto previamente a peso constante y colocarlo en el equipo mediante un anillo de hierro con empaque de hule. Subir la parrilla hasta que quede en contacto con el vaso y abrir la llave del agua para que ésta circule sobre los refrigerantes. Calentar moderadamente hasta extracción completa de la grasa. Para verificar que se ha extraído toda la grasa, dejar caer una gota de la descarga sobre papel filtro; al evaporarse el éter no debe dejar residuo de grasa.

Una vez finalizada la extracción, se bajan las parrillas de calentamiento, se retira el portadetal con el cartucho y se sustituye por el recipiente de recuperación, el vaso se calienta nuevamente para eliminar el éter del mismo, el cual es retenido en el recuperador.

Quitar el vaso del equipo y secar el extracto en la estufa de vacío a 60 - 65°C, durante 2 horas, dejar enfriar en el desecador hasta temperatura ambiente, pesar y repetir la operación anterior hasta que el vaso esté a peso constante.

**Cálculos:**

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{P_f - P_o}{m} \times 100$$

Donde:

P<sub>f</sub> = peso del vaso con el extracto etéreo

P<sub>o</sub> = peso del vaso a peso constante

m = peso de la muestra en gramos

**5.1.5 Grasa (método de Gerber)**

Este método fue empleado para la determinación de grasa en la muestra de leche de soya comercial.

**Fundamento:**

El método de Gerber es un método volumétrico, en el que se utiliza ácido sulfúrico, y la fuerza centrífuga para lograr la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa y consecutivamente medir la grasa separada. Además, se utiliza alcohol isoamílico, el cual disminuye la tensión interfacial de la grasa, favoreciendo la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa y previniendo la sulfonación y carbonización de la misma. La determinación del porcentaje de grasa se efectúa en recipientes especiales denominados butirómetros.

**Material y reactivos:**

- Butirómetro de Gerber para leche en polvo con tapones (escala 0 - 35 %)
- Centrifuga de Gerber
- Pipeta volumétrica de 10 ml
- Pipeta volumétrica de 1 ml
- Pipeta volumétrica de 11 ml
- Ácido sulfúrico preparado para Gerber (50 ml de agua para 500 ml de ácido Q.P.)
- Alcohol isoamílico

## **Procedimiento**

Transferir 10 ml de ácido sulfúrico para Gerber a no más de 15 °C a un butirómetro de Gerber; a continuación, pesar 1.5 g de muestra y colocarlos en el butirómetro. Adicionar 1 ml de alcohol isoamílico. Posteriormente, insertar el tapón y sujetar el butirómetro por el cuello, agitar los líquidos totalmente con el tapón hacia arriba. Cuando el polvo se haya disuelto por completo continuar la agitación por 10 – 15 segundos para asegurar la digestión. Una vez finalizada la digestión, se debe invertir el butirómetro varias veces para mezclar el ácido remanente en el cuello.

Llevar los butirómetros invertidos a la centrifuga de Gerber (1000 rpm), y centrifugar 5 minutos. Cumplido el tiempo de centrifugación, sacar los butirómetros y leer.

### **5.1.6 Fibra dietética**

#### **Fundamento:**

Este método fue propuesto por Prosky; es una combinación de métodos enzimáticos y gravimétricos que permite la cuantificación del contenido total de fibra en un alimento. La muestra seca y libre de grasa es gelatinizada en primer lugar en una solución amortiguadora antes de ser tratada con una alfa-amilasa termocstable que hidroliza parcialmente al almidón. Posteriormente, se utiliza una proteasa para la hidrólisis de la proteína y finalmente se emplea una amiloglucosidasa para finalizar la hidrólisis del almidón presente en la muestra. A continuación se adiciona etanol para precipitar a la fibra dietética soluble. El residuo es filtrado y pesado y se realizan determinaciones de proteína y cenizas; la fibra dietética total es el peso del residuo menos el peso de la proteína y las cenizas (61, 62).

En el análisis proximal de los alimentos, se realiza la determinación de fibra cruda; sin embargo, en este estudio se realizó la determinación de fibra dietética, la cual sustituyó a la fibra cruda.

#### **Material y reactivos:**

##### **(kit SIGMA TDF ~ 100 A para determinación de fibra dietética)**

- Baño de agua a 90 y 60 °C con agitación
- Potenciómetro CORNING mod. 430 ajustado a pH 4 y pH 7
- Balanza analítica
- Estufa de vacío LAB-LINE mod. 3620

- Digestor TECATOR mod. ab-20/40
- Dispositivo de destilación TECATOR mod. 1030
- Mufla THERMOLYNE, mod. 1500
- Desecador
- Matraces Erlenmeyer de 300 o 600 ml
- Crisoles Pyrex para fibra de porosidad #2-C (ASTM 40-60)
- Tubos de digestión TECATOR de 75 ml
- Crisoles de porcelana
- Pipeta automática 100 – 1000  $\mu$ l
- Pipeta de 10 ml
- Buffer de fosfatos pH 6 (a)
- Alfa-amilasa termorresistente Sigma Co. A-3306
- Proteasa Sigma Co. P-3910
- Amiloglucosidasa Sigma Co. A-9913
- NaOH 0.275 N (b)
- HCl 0.325 M (c)
- Etanol al 95 %
- Celite libre de cenizas Sigma Co. C-8656
- Etanol al 78 % (d)
- Acetona

### Procedimiento

Preparación de las soluciones:

- a) Buffer de fosfatos 0.08 M, pH 6. Disolver 1.4 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  anhidro y 8.4 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  anhidro en aproximadamente 700 ml de agua destilada. Diluir a 1 litro con agua destilada. Revisar pH y ajustar de ser necesario con NaOH o  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Almacenar a temperatura ambiente.
- b) Solución de NaOH 0.275 N. Agregar cuidadosamente 275 ml de NaOH 1.0 N (solución estándar) a 700 ml de agua en un matraz volumétrico de 1 litro. Diluir a 1 litro con agua destilada. Si no se cuenta con la solución estándar, pesar  $11.00 \pm 0.01$  gramos de hidróxido de sodio y disolver en matraz volumétrico de 1 litro con agua destilada. Almacenar a temperatura ambiente.
- c) Solución de HCl 0.325 M. Agregar cuidadosamente 325 ml de una solución estándar de HCl 1.0 M a 600 ml de agua en un matraz volumétrico de 1 litro. Diluir a 1 litro con agua destilada. Si no se cuenta con la solución estándar de HCl, colocar 9.8 ml de HCl concentrado en un matraz volumétrico de 1 litro y diluir con agua destilada. Almacenar a temperatura ambiente.

d) Solución de etanol al 78 %. Colocar 207 ml de agua destilada en un matraz volumétrico de 1 litro. Diluir a 1 litro con etanol al 95 %. Mezclar y llevar al volumen de ser necesario. Mezclar.

Pesar 0.5 g de celite en cada crisol para fibra y secar a 130°C hasta peso constante (una hora o más). Enfriar en desecador y pesar. Este peso es el del crisol más el peso de celite.

Si el contenido de grasa en la muestra es mayor al 10 %, desengrasar con éter de petróleo. Homogeneizar la muestra, y secar en horno de vacío a 70°C. Enfriar en desecador y moler la muestra. Guardar en desecador hasta realizar la determinación.

Se deben correr blancos durante todo el procedimiento junto con las muestras para medir cualquier contribución de los reactivos al residuo. Las muestras y los blancos deben correrse al menos por cuadruplicado para obtener duplicados de proteína y cenizas.

Pesar cuatro veces 1 g de muestra en matraces erlenmeyer de 400 ml. El peso de las muestras no debe diferir por más de 20 mg. Posteriormente, añadir 50 ml de buffer de fosfatos a pH 6 a cada matraz. Añadir 0.1 ml de alfa-amilasa termorresistente a cada matraz y mezclar. Cubrir cada matraz con papel aluminio y colocar en baño de agua a 87 °C; agitar los matraces a intervalos de 5 minutos. Incubar por 15 minutos después de que la temperatura interna de los matraces alcance 87°C. Dejar que las soluciones se enfrien a temperatura ambiente.

Ajustar el pH de las soluciones a  $7.5 \pm 0.2$  añadiendo 10 ml de NaOH 0.275 N a cada matraz. Revisar pH y ajustar en caso de ser necesario con NaOH o HCl.

Preparar una solución de 50 mg/ml de proteasa en buffer de fosfatos inmediatamente antes de usar y posteriormente añadir 0.1 ml (5 mg) de esta solución a cada matraz.

Cubrir cada matraz con papel aluminio y colocar en baño de agua a 60°C. Con agitación continua, incubar por 30 minutos después de que la temperatura interna de los matraces alcance 60°C.

Posteriormente, añadir 40 ml de etanol al 95% a cada matraz y dejar la solución durante la noche a temperatura ambiente para lograr la precipitación completa.

Una vez lograda la precipitación, mojar y redistribuir la cama de celite en cada crisol usando etanol al 78%. Conectar al vacío y transferir cuantitativamente el precipitado y la suspensión de cada matraz a su respectivo crisol.

Lavar el residuo con tres porciones de 20 ml de etanol al 78 %, dos porciones de 10 ml de etanol al 95 % y 2 porciones de 10 ml de acetona. Es posible que se forme una especie de goma en algunas muestras, atrapando el líquido; en este caso, romper la película superficial con una espátula para acelerar la filtración, removiendo cualquier material adherido a la espátula.

Secar los crisoles que contienen a los residuos durante la noche en un horno de vacío a 70°C. Enfriar los crisoles en un desecador, y pesar registrando este peso como "peso del residuo + celite + peso del crisol".

$$\text{Peso del residuo} = (\text{residuo} + \text{celite} + \text{crisol}) - (\text{celite} + \text{crisol})$$

Utilizar dos residuos de muestras y blancos para determinación de proteína por Kjeldahl. Usar 6.25 como factor para convertir el amoniaco determinado excepto en donde el contenido de nitrógeno de la muestra es conocido.

Obtener las cenizas de los dos residuos restantes de las muestras y blanco a 525°C por 5 horas. Enfriar en desecador y pesar. Registrar este peso como "cenizas + celite + crisol".

$$\text{Peso de las cenizas} = (\text{cenizas} + \text{celite} + \text{crisol}) - (\text{celite} + \text{crisol})$$

#### Cálculos:

	promedio del peso del residuo del blanco (mg)	promedio del peso de proteína del blanco (mg)	promedio del peso de las cenizas del blanco (mg)
--	---	---	--

$$\% \text{Fibra} = \frac{\text{promedio del peso del residuo (mg)} - \text{promedio del peso de la proteína (mg)} - \text{promedio del peso de las cenizas (mg)} - \text{blanco (mg)}}{\text{promedio del peso de la muestra (mg)}} \times 100$$

### **5.1.7 Carbohidratos asimilables por diferencia**

Son los carbohidratos que pueden ser asimilados y digeridos por el hombre.

El contenido de carbohidratos asimilables se obtiene teóricamente restando al 100 % el resultado de la suma de los porcentajes de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra contenidos en la muestra. El resultado de esta diferencia corresponden al porcentaje de carbohidratos asimilables en la muestra.

### **5.1.8 Contenido energético**

El cálculo del contenido energético en un alimento puede realizarse de manera teórica, utilizando los factores de Atwater; de acuerdo a éstos, 1 gramo de proteína puede generar 4 kcal, 1 gramo de carbohidratos puede generar, al igual que las proteínas, 4 kcal, y 1 gramo de grasa puede producir 9 kcal. Con estos datos, se puede calcular el contenido energético de un alimento cuando se conoce la cantidad de proteína, carbohidratos y grasa presente en 100 gramos de muestra.



### 5.2.1 Determinación de aminoácidos

#### Fundamento:

Se basa en la hidrólisis ácida de la muestra para romper los enlaces peptídicos de la proteína y liberar los aminoácidos que la componen. La posterior separación de los aminoácidos al pasar a través de una resina de intercambio iónico (cromatografía de intercambio iónico) y la reacción de éstos con ninhidrina para formar un complejo colorido, permite cuantificar colorimétricamente la cantidad de cada aminoácido presente en la muestra (67, 68).

#### Material y reactivos:

- Autoanalizador de aminoácidos TECHNICON, mod. NC-2P
- Digestor TECATOR, mod. ab 20/40
- Potenciómetro CORNING, mod. 10
- Rotavapor BUCHI, mod. R
- Vortex LAB-LINE INSTRUMENTS, mod. Super-mixer No. 1290
- Adaptador para filtración en jeringa Millipore XX20012-00
- Membrana Millipore tipo HATF-02500 (poro 0.45  $\mu$ M)
- Micro-jeringa HAMILTON, mod. 1001-LTN
- Tubos de cultivo de pared gruesa con tapón de rosca cubierto de teflón PYREX No. 9826
- Ácido clorhídrico 6 N con fenol
- Solución de norleucina 5 mM
- Metilcelosolve al 50 %
- Amortiguador de acetato de sodio 0.4 N (a)
- Sulfato de hidracina (b)
- Ninhidrina (c)
- Solución lavadora (d)
- Amortiguador de dilución (e)
- Amortiguadores de acetatos para regeneración y elusión (f)
- Hidróxido de sodio 0.1 N

#### Preparación de las soluciones:

- a) Amortiguador de acetato de sodio 0.4 N. Colocar aproximadamente 3 litros de agua destilada en un recipiente con agitación; adicionar lentamente 1,312 g de acetato de sodio anhidro para prevenir cristalización; de ser requerido, calentar para la completa solubilización de la sal. Añadir lentamente 400 ml de ácido acético glacial y dejar enfriar. Por último, llevar a un aforo de 4 litros. NOTA: el pH de este amortiguador debe ser de  $5.51 \pm 0.02$ ; si se requiere ajustar, se debe usar álcali o ácido concentrado.

- b) Sulfato de hidracina. Disolver en agua destilada y desionizada 1,049 g de sulfato de hidracina; a continuación, se adicionan 0.4 ml de ácido sulfúrico concentrado y 30 ml de solución BRIJ-35 al 20 %, se lleva esta solución a un volumen de 4 litros. Para su conservación, se requiere adicionar 0.8 ml de ácido caprílico.
- c) Ninhidrina. Disolver 40 g de ninhidrina en 2 litros de metilcelosolve; posteriormente, adicionar lentamente 1 litro del amortiguador de sodio 0.4 N. Finalmente, llevar a un volumen de 4 litros.
- d) Solución lavadora. Preparar una solución agua-etanol 3:1 (v/v) con hidroquinona al 0.01 % como agente antioxidante.
- e) Amortiguador de dilución. Preparar una solución de ácido clorhídrico 0.2 N (A) y una solución de cloruro de sodio 0.2 M (11.69 g/L) (B). Tomar 50 ml de (A) y 33.3 ml de (B), llevar a 200 ml con agua destilada y adicionar hidroquinona al 0.01 %. El pH de este amortiguador debe ser de  $1.50 \pm 0.05$ .
- f) Amortiguadores para la corrida del hidrolizado ácido de una proteína y NaOH 0.2 N. Ver tabla 1.

Para preparar las soluciones amortiguadoras se coloca en un recipiente con agitación la mitad del volumen de agua y se disuelven todos los componentes sólidos y después se adicionan los reactivos líquidos. Una vez disueltos, se agrega agua hasta un volumen aproximado de 900 ml. Se ajusta el pH del amortiguador al pH deseado utilizando un potenciómetro de escala expandida. Una vez ajustado el pH, se afora en un matraz volumétrico de un litro y se agregan unas gotas de ácido caprílico para romper la espuma. Finalmente, se agrega la cantidad especificada de ácido caprílico.

A continuación se presenta la composición de los amortiguadores y NaOH 0.2 N:

TABLA 1

REACTIVO	BUFFER 1	BUFFER 2	BUFFER 3	NAOH 0.2 N
Acetato de sodio	4.1 g	4.5 g	87.0 g	-
Ácido acético glacial	20.0 ml	15.0 ml	20.0 ml	-
Sol. acetato de zinc	-	1.2 ml	2.0 ml	-
Etanol absoluto	78.0 ml	80 ml	-	-
Alcohol bencílico	-	-	11.0 ml	-
Hidroquinona	0.11 g	0.11g	-	-
Sol. BRIJ-35 al 20 %	8.0 ml	8.0 ml	8.0 ml	-
EDTA sal disódica	0.1 g	-	-	1.0 g
NaOH lentejas	-	-	-	8.0 g
Ácido caprílico	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Agua desionizada (menos de 1 ppm Na)	11	11	11	11
pH	3.90 ± 0.02	4.10 ± 0.02	5.30 ± 0.02	-

A continuación se muestran las condiciones físicas y el programa utilizado en el análisis de aminoácidos:

Condiciones físicas:

Tamaño de la columna.....	470 x 4 mm
Altura de la columna empacada.....	420 mm ± 5
Temperatura de la columna.....	60°C ± 0.1
Velocidad de flujo de los amortiguadores.....	0.6 ml/min
Velocidad de flujo de la ninhidrina.....	0.6 ml/min

Velocidad de flujo del sulfato de hieracina.....	0.8 ml/min
Velocidad de flujo del nitrógeno.....	0.32 mL/min
Velocidad de flujo sobre el colorímetro.....	0.6 ml/min
Temperatura del baño de reacción.....	89°C ± 0.5
Sensibilidad del registrador.....	2.5 U
Velocidad de la carta.....	3.0 mm/min

### Procedimiento

Pesar en un tubo de hidrólisis la cantidad de muestra finamente molida y desengrasada (cuando el contenido de grasa sea mayor a 5 %). Adicionar cuidadosamente la cantidad de ácido requerida, tratando de que toda la muestra se humedezca con el reactivo de hidrólisis con ayuda de un agitador mecánico.

$$A = \frac{0.05 \times 100}{\% P}$$

$$B = \frac{4 \times 100}{\% P}$$

Donde:

A = cantidad de muestral (g)

B = ml de HCl 6 N

% P = porcentaje de proteína de la muestra

A continuación, se insufla nitrógeno y se procede a cerrar el tubo perfectamente con tapón de rosca y cubierta de teflón para evitar fugas. Posteriormente, la muestra se somete a las condiciones de hidrólisis, es decir, 145°C ± 1 y 4 horas (contadas a partir del momento en que el tubo se coloca en el digestor).

Una vez transcurrido el tiempo de hidrólisis, se deja enfriar un poco el tubo y el contenido se trasvasa cuantitativamente a un matraz bola de 100 ml, dándole algunas lavadas al tubo con agua caliente y solución lavadora. Al hidrolizado obtenido se le agregan 10 ml

de la solución de norleucina y se lleva a sequedad en el rotavapor con el fin de eliminar el exceso de HCl.

El hidrolizado concentrado se filtra a través de papel filtro doble (Whatman No. 52) con ayuda de vacío, enjuagando el matraz bola con solución lavadora, volviendo a filtrar el lavado. Al hidrolizado filtrado se le ajusta el pH a  $6.8 \pm 0.2$  utilizando NaOH 5 N, y finalmente se afora a 25 ml con agua desionizada. Si el hidrolizado no se utiliza inmediatamente, es necesario mantenerlo en congelación hasta su uso.

Para inyectar el hidrolizado en el autoanalizador, es necesario diluirlo con el amortiguador de dilución en una proporción 1:1 (por lo que el aforo real del hidrolizado será de 50 ml). De la dilución anterior, debe filtrarse una parte a través del dispositivo millipore, para lo cual se descartan las primeras 5 gotas del filtrado, y el resto se utiliza para inyectar en el autoanalizador en una cantidad de 100 a 200  $\mu$ l.

#### PROGRAMA DEL AUTOANALIZADOR

PASO	TIEMPO (minutos)	CARACTERIZACIÓN
1	2	Amortiguador # 1, metil-celolve
2	6	Amortiguador # 2, metil-celolve
3	80	Amortiguador # 2, ninhidrina, registrador
4	50	Amortiguador # 3, ninhidrina, registrador
5	8	NaOH 0.2 N, ninhidrina, registrador
6	2	NaOH 0.2 N, metil-celolve, registrador
7	6	Amortiguador # 1, metil-celolve, registrador
8	2	Amortiguador # 1, metil-celolve
9	16	NaOH 0.2 N, metil-celolve
10	30	Amortiguador # 1, metil-celolve

NOTA: el sulfato de hidracina fluye en todos los pasos

#### Cálculos:

Previamente se debe correr una solución estándar de aminoácidos que contenga 0.025  $\mu$ M de cada uno, para obtener de este aminograma el área de cada uno de los aminoácidos en las muestras. Además, tanto en el estándar como en cada corrida de un

hidrolizado, se debe inyectar una cantidad constante y conocida del aminoácido sintético norleucina, para hacer los cálculos en base a los llamados equivalentes de norleucina de cada uno de los aminoácidos.

$$EN = \frac{ANstd}{AAstd}$$

Donde:

Enaa = equivalente de norleucina

ANstd = área de norleucina en el estándar

Astd = área del aminoácido en el estándar

Del aminograma del hidrolizado, se debe calcular el área de cada uno de los aminoácidos, así como el área de norleucina en el correspondiente (se recomienda trabajar con la mitad superior de cada uno de los picos para evitar trabajar con la línea base que puede ser irregular). Para obtener el contenido en miligramos del aminoácido por gramo de nitrógeno de la muestra:

$$\mu\text{M aminoácido [B]} = \frac{[A]}{\Delta nm} \times EN \times \mu\text{Mstd}$$

$$\text{g aminoácido [C]} = \frac{[A] \times \text{P.M.}}{10^6}$$

$$\text{g aminoácido/16 g N} = \frac{[C] \times af \times 16 \text{ g N}}{al \times \text{g N}}$$

Donde:

[A] = área del aminoácido en la muestra

Anm = área de norleucina en la muestra

P.M. = peso molecular del aminoácido

af = aforo

al = alícuota

g N = gramos de nitrógeno en la muestra

## 5.2.2 Determinación de triptofano

### Fundamento:

Generalmente se utiliza la hidrólisis ácida para la determinación de aminoácidos en una proteína; sin embargo, la hidrólisis ácida destruye el triptofano, por lo que se tiene que recurrir a las hidrólisis alcalinas o enzimáticas.

Una vez que es realizada la hidrólisis alcalina o enzimática, el triptofano es liberado y se hace reaccionar con el reactivo de Erlich (p-dimetilaminobenzaldehído en medio ácido) produciéndose un compuesto colorido, cuya intensidad es proporcional al contenido de aminoácido en la proteína (68).

### Material y reactivos:

- Tubos de cultivo PYREX de pared gruesa con tapón de rosca cubierta de teflón No. 9826
- Digestor TECATOR mod. ab 20/40
- Espectrofotómetro SEQUOIA-TURNER mod. 340
- Potenciómetro CORNING mod. 430
- Hidróxido de litio 4 N
- Solución lavadora agua-etanol (3:1)
- Ácido orto-fosfórico concentrado
- Solución estándar de triptofano (50 µg/ml)
- Ácido clorhídrico concentrado
- Solución de p-dimetilamino benzaldehído al 0.5 % en HCl concentrado
- Nitrito de sodio al 0.2 %

### Procedimiento:

En un tubo de cultivo de pared gruesa se coloca la cantidad de muestra de acuerdo al contenido de proteína:

$$\text{mg de muestra} = \frac{100 \times 100}{\% \text{ proteína}}$$

A continuación se adiciona cuidadosamente la cantidad de álcali requerida, teniendo la precaución de no salpicar la muestra en la pared del tubo y cuidando que se humedezca toda la muestra.

$$\text{ml de álcali} = \frac{8 \times 100}{\% \text{ proteína}}$$

Una vez que se tiene la cantidad de muestra y álcali en el tubo, se le insufla nitrógeno, se cierra el tubo perfectamente y se coloca en el digestor que debe encontrarse a

145°C. El tiempo de varía de 4 a 8 horas dependiendo del contenido de proteína en la muestra:

CONTENIDO DE PROTEÍNA	TIEMPO DE HIDRÓLISIS
< 35 %	8 horas
35 - 64 %	6 horas
> 64 %	4 horas

Una vez transcurrido el tiempo de hidrólisis, se deja enfriar un poco el tubo y se trasvasa el contenido a un vaso de precipitados lavando el tubo con la solución lavadora (aproximadamente 20 ml). Se neutraliza el hidrolizado con ácido ortofosfórico y se filtra sobre papel de filtración rápida en un buchner con ayuda de vacío, lavando el residuo con solución lavadora caliente. Una vez filtrado el hidrolizado, se concentra en el rotavapor, y se trasvasa a un vaso de precipitados lavando el matraz bola con solución lavadora. Al hidrolizado concentrado se le mide el pH, el cual debe ser neutro al papel indicador y se afora a 25 ml.

Se toman 3 alícuotas de 2 ml cada una del hidrolizado (uno de los tubos servirá como blanco), se adiciona a uno de los tubos 7.5 ml de ácido clorhídrico concentrado, mientras que a los otros dos tubos se les adicionan 7.5 ml de DMAB (p-dimetilamino benzaldehído en medio ácido), se agitan y se dejan en reposo 15 minutos en la oscuridad.

Una vez transcurrido el tiempo, se les adiciona 0.5 ml de nitrito de sodio, se agita nuevamente, se dejan en la oscuridad por 15 minutos para que se desarrolle la coloración. Por último, se lee en el colorímetro a 590 nm, usando el tubo del blanco para ajustar a 0 el equipo.

Al mismo tiempo se debe correr una curva estándar de triptofano 0 a 100 µg, tomando alícuotas de 0.0, 0.4, 0.8, 1.0, 1.6 y 2.0 ml de la solución estándar de triptofano y llevando cada tubo a 2.0 ml con agua destilada.

#### **Cálculos:**

El valor interpolado de la curva estándar estará dado en µg, por lo cual se debe tomar en cuenta la alícuota, el aforo y el peso de la muestra para poder expresar el resultado en gramos de triptofano por 16 gramos de nitrógeno.



$$\text{g de triptofano}/16 \text{ g de nitrógeno} = \frac{\text{af} \times \text{trp} \times 16}{\text{al} \times \text{gN}}$$

Donde:

af = aforo

trp = gramos de triptofano obtenidos por interpolación en la curva patrón

al = alicuota

gN = gramos de nitrógeno en la muestra

### 5.3 Calificación química

#### Fundamento:

Es un método químico de evaluación de una proteína que se basa en señalar la cantidad del aminoácido indispensable que está en mayor deficiencia en la proteína en estudio, al compararla con el nivel presente de una proteína de referencia, siempre y cuando las cantidades de aminoácido estén expresadas en las mismas unidades.

#### Cálculos:

$$\text{Calificación química} = \frac{\text{Aam} \times \text{SAar}}{\text{Aar} \times \text{SAam}} \times 100$$

Donde:

Aam = gramos de aminoácido en la proteína problema

Aar = gramos de aminoácido del patrón de referencia

SAar = total de aminoácidos indispensables del patrón de referencia

SAam = total de aminoácidos indispensables en la proteína problema

En este caso, el patrón de referencia usado fue el de la FAO/WHO 1985 (38), que se muestra a continuación en la siguiente tabla:

**TABLA 2**  
**PATRÓN FAO/WHO 1985 DE AMINOÁCIDOS INDISPENSABLES**

AMINOÁCIDO	g aminoácido / 16 gramos de nitrógeno	
	Lactantes	Preescolares
ISOLEUCINA	4.6	2.8
LEUCINA	9.3	6.6
LISINA	6.6	5.8
METIONINA + CISTEÍNA	4.2	2.5
TIROSINA + FENILALANINA	7.2	6.3
TREONINA	4.3	3.4
TRIPTOFANO	1.7	1.1
VALINA	5.5	3.5
HISTIDINA	2.6	-

## **5.4 Análisis microbiológico**

### **5.4.1 Mesófilos aerobios**

#### **Cuenta en placa**

##### **Fundamento:**

Para determinar la concentración de microorganismos en un alimento, se emplean medios de cultivos y condiciones que favorezcan su desarrollo. Para el método de cuenta en placa el medio comúnmente empleado es el agar triptona extracto de levadura (67, 68 69,70).

##### **Material y medios de cultivo**

- Cajas petri de 100 x 15 mm
- Pipetas graduadas de 10, 5 y 1 mL
- Tubos de ensayo de 20 x 150 mm
- Matraces Erlenmeyer de 250 y 500 mL
- Mechero
- Campana de flujo laminar NIRO
- Autclave
- Incubadora BLUEM
- Agar triptona extracto (cuenta en placa ) (Bioxon)
- Agua peptonada al 0.1%

##### **Procedimiento**

La muestra deberá diluirse en forma rápida y homogénea, bajo condiciones estériles y colocarse inmediatamente en los medios de cultivo. En el diagrama No.1 se muestra la preparación de las diluciones.

Adicionar 1 mL de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  en las cajas petri vacías y estériles aplicando la punta de la pipeta al fondo de la caja mientras escurre el líquido. Inmediatamente después agregar de 20-25 mL de agar triptona extracto de levadura fundido y enfriado a 45°C. Mezclarlo con la muestra (6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante) sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio. cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas. Dejar solidificar.

El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente, hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas no debe exceder de 20 minutos (sembrar cada dilución por duplicado).

Incubar a 37°C durante 24 horas en posición invertida.

Contar las colonias desarrolladas y reportar las colonias por mililitro de muestra.

**Cálculos:**

El número de microorganismo se indica en relación al peso (g) o la cantidad (mL) del material analizado.

$$\text{UFC/mL} = \text{UFC} \times \frac{1}{\text{Dilución}}$$

Donde:

UFC = Unidades formadoras de colonias

**5.4.2 Coliformes****Número más probable****Fundamento:**

Los organismos coliformes fermentan la lactosa con producción de gas en 48 horas a 32-35°C. Para demostrar la presencia y realizar el recuento de los microorganismos coliformes se emplean tubos de fermentación que contengan caldo lactosado, y la determinación del número se hace en base a las tablas del número más probable. Esta prueba se hace con el fin de determinar posteriormente el contenido de *Escherichia coli* en la muestra.

**Material y medios de cultivo**

- Tubos de ensayo de 20 x 150 mm
- Campanas de Durham
- Asas para siembra
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
- Mechero
- Campana de flujo laminar NIRO
- Autoclave
- Incubadora BLUEM
- Caldo lauril triptosa (Bioxon)
- Caldo lactosa bilis verde brillante (Bioxon)
- Agua peptonada al 0.1%

## Procedimiento

Pesar 10 g de muestra y transferirlos a un matraz que contenga 90 mL de agua peptonada al 0.1% y homogeneizar. Continuar las diluciones de la muestra siguiendo los pasos ilustrados en el diagrama No. 1.

Inocular 1 mL de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  a cada uno de los tubos de las 3 series de tubos con caldo lauril triptosa con campana de Durham, como se indica en el diagrama No.2.

Incubar los tubos a 35-37°C por 48 horas. Observar si hay formación de gas en los tubos. Los tubos negativos se deben volver a incubar durante 24 horas más.

Agitar suavemente los tubos que resultaron positivos en la formación de gas. A continuación transferir de cada tubo positivo de 2 a 3 asadas del cultivo a un tubo de fermentación con caldo bilis verde brillante al 2%. Al efectuar la reinoculación sostener el tubo primario (caldo lauril triptosa) en un ángulo tal que se pueda tomar la asada evitando la película que pudiera existir en el medio. Sacar el asa del líquido en sentido perpendicular a su superficie de manera que se forme un mecanismo bien definido.

Incubar a 35-37°C durante 48 horas. Observar cuidadosamente los tubos y determinar el número de microorganismos de acuerdo a la tabla del Número más probable (NMP) de microorganismos que aparece al final de esta sección (71).

### 5.4.3 *Escherichia coli*

Después de su crecimiento en caldo lactosado, la presencia de *E. coli* se confirma empleando medios de enriquecimiento como el agar MacConkey y el agar Levine-eosina azul de metileno.

En el agar MacConkey la degradación de la lactosa a ácido es evidente por el cambio del indicador rojo neutro a rojo oscuro. Las bacterias intestinales son seleccionadas debido al contenido de sales biliares; el resto de la flora gram (-) se inhibe por el violeta cristal.

El medio Levine-eosina es un medio selectivo, ya que los microorganismos gram (+) son inhibidos por la presencia de colorantes.

## Material y medios de cultivo

- Cajas petri de 100 x 15 mm
- Matraces Erlenmeyer de 500 mL
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
- Asa microbiológica
- Mechero Campana de flujo laminar NIRO
- Incubadora BLUEM
- Autoclave
- Caldo lactosado (Bioxon)
- Agar MacConkey (Bioxon)
- Agar levine-eosina-azul de metileno (Bioxon)

## Procedimiento

Se pesan 10g de muestra y se colocan en 100 mL de caldo lactosado estéril y se incuba a 30-35°C durante 24 hrs hasta que comience el desarrollo. A partir del crecimiento en el medio de caldo lactosado, aislar por estria cruzada en agar MacConkey e incubar durante 24 hrs a 35°C. Observar las colonias formadas, aquellas de color rojo ladrillo, eventualmente con zonas precipitadas son características de *E. coli*. Si las características de las colonias no son claras, sembrar en agar Levine-eosina azul de metileno e incubar de 24-48 hrs a 35°C. Las colonias de *E. coli* se caracterizan por dar un color negro azulado a trasluz y brillo metálico a la luz incidente (Tabla No. 1).

La presencia de *E. coli* puede confirmarse utilizando las pruebas bioquímicas adecuadas.

### 5.4.4 *Salmonella*

#### Fundamento:

El aislamiento de *Salmonella* incluye cuatro fases fundamentales para el reconocimiento de cultivos sospechosos de *Salmonella*:

1. Cultivo en medio de enriquecimiento no selectivo, para permitir que las células bacterianas comiencen el proceso de multiplicación, sin estar expuestas a sustancias inhibitoras o selectivas que puedan ser tóxicas para estos microorganismos (caldo lactosado).
2. Cultivo en medios de enriquecimiento selectivo, el cual tiene como fin estimular la multiplicación de las *Salmonellas* y reducir o inhibir el crecimiento de

microorganismos competidores, tales como coliformes (caldo cistina-selenito y caldo tetrionato).

3. Utilización de medios selectivos a base de agar; éstos contienen sustancias inhibitoras así como un sistema indicador que colorea específicamente determinados grupos de colonias y da un color particular al agar que las rodea permitiendo de este modo el reconocimiento de las colonias sospechosas de ser *Salmonella* (agar verde brillante, agar xilosa-desoxicolato y agar sulfito de bismuto).
4. Verificación y comprobación de colonias seleccionadas mediante pruebas bioquímicas determinativas.

#### **Material y medios de cultivo**

- Cajas petri de 100 x 15 mm
- Tubos de ensayo de 20 x 150 mm
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
- Asa microbiológica
- Mechero
- Campana de flujo laminar NIRO
- Incubadora BLUEM
- Autoclave
- Caldo lactosado
- Caldo selenito cistina
- Caldo tetrionato
- Agar sulfito de bismuto
- Agar xilosa-lisina desoxicolato (XLD)
- Agar MacConkey

#### **Procedimiento**

Pesar 10 g de muestra y adicionarlos a 90 mL de caldo lactosado o agua peptonada estéril, homogeneizar durante 1 minuto si es necesario. Incubar a 35-37°C durante 24 hrs.

Inocular 1 mL de la muestra incubada en 9 mL de caldo selenito cistina y 1 mL en 9 mL de caldo tetrionato, mezclar e incubar a 35°C durante 24 hrs.

Inocular a partir de cada uno de los medios de enriquecimiento una caja con agar MacConkey, agar XLD y agar sulfito de bismuto. Dividir cada caja en dos segmentos para poderla inocular con ambos tubos. Utilizar de 2 a 3 asadas para inocular cada caja y extender de manera que puedan obtenerse colonias bien aisladas. Incubar las cajas invertidas a 35°C durante 24 hrs. Seleccionar colonias sospechosas de pertenecer al género

*Salmonella* (ver tabla No. 2). Si no se observan colonias sospechosas de pertenecer al género o no hay desarrollo, proseguir la incubación por 24 hrs más.

Las colonias sospechosas se pueden confirmar inoculando sobre el medio de agar hierro triple azúcar en donde se incuban durante 1-2 días. La formación de ácido (coloración amarilla), formación de gas y ennegrecimiento eventual son características del género *Salmonella*.

#### **5.4.5 *Staphylococcus aureus***

##### **Fundamento:**

El agar Vogel-Johnson es un medio selectivo para la identificación de *Staphylococcus* manita positivos, debido a que la capacidad de coagulación del plasma aparece casi siempre simultáneamente con la capacidad de fermentación de la manita.

Se puede hacer una estimación de su contenido debido a la tolerancia de este microorganismo a concentraciones elevadas de cloruro de sodio y a su poca sensibilidad frente a los agentes bacteriostáticos cloruro de litio y telurito.

##### **Material y medios de cultivo**

- Cajas petri de 100 x 15 mm
- Tubos de ensayo (20 x 150 mm)
- Matraces erlenmeyer de 500 ml
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml
- Mechero
- Campana de flujo laminar NIRO
- Incubadora BLUEM
- Autoclave
- Solución reguladora de fosfatos pH 7.2
- Caldo soya-tripticaseína (Bioxon)
- Medio Vogel-Johnson (Bioxon)

##### **Procedimiento**

Pesar 10 g de la muestra en polvo y colocarlos en 90 ml de la solución reguladora de fosfatos pH 7.2. Realizar las diluciones correspondientes de acuerdo al diagrama No. 1.

Colocar 1 ml de cada dilución en tubos que contengan 4.5 ml de caldo soya tripticaseína. Incubar a 35°C durante 48 ± 3 horas.

Inocular por estría de los tubos con desarrollo en placas con medio Vogel-Johnson, de manera que se puedan obtener colonias aisladas. Incubar a 35°C durante 48 ± 3 horas.



Observar si hay aparición de colonias negras (reductoras de telurito), convexas y brillantes. Realizar la prueba de la coagulasa en caso de tener crecimiento de colonias características (ver características de la tabla No. 3).

#### **5.4.6 Hongos y levaduras**

##### **Fundamento:**

Para la determinación y cuenta total de hongos y levaduras se utiliza el medio agar papa-dextrosa y el medio agar extracto de malta, los cuales son acidificados con ácido tartárico para inhibir el crecimiento bacteriano.

##### **Material y medios de cultivo**

- Cajas petri de 15 x 100 mm
- Tubos de ensayo de 20 x 150 mm
- Matraces Erlenmeyer de 500 mL
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL
- Mechero
- Campana de flujo laminar NIRO
- Incubadora BLUEM
- Autoclave
- Agua peptonada al 0.1%
- Agar papa-dextrosa (Bioxon)
- Agar extracto de malta (Bioxon)

##### **Procedimiento**

Pesar 10 g de muestra y transferirlos a un matraz Erlenmeyer que contenga 90 mL de agua peptonada al 0.1%. Realizar las diluciones hasta  $10^{-3}$  como se indicó en la cuenta total de mesófilos aerobios (diagrama No. 1).

Transferir 1 mL de cada dilución por duplicado en cajas petri estériles y agregar 12-15 mL de agar papa-dextrosa fundido, y a otras cajas agregar el medio extracto de malta. Ambos medio deben ser acidificados con ácido tartárico hasta pH 3 añadiendo 1.5 mL de ácido al 10% por 100 mL de medio cuando se encuentren fundidos y enfriados a 45°C.

Homogeneizar y dejar solidificar. Invertir las cajas petri e incubar las cajas con agar papa-dextrosa a 28°C durante 3-5 días. En caso de no haber desarrollo prolongar la incubación hasta 7 días y proceder al recuento final de los hongos. Las cajas con agar extracto de malta deben incubarse a 35°C durante 24 hrs; contar las colonias de levaduras.

**Cálculos:**

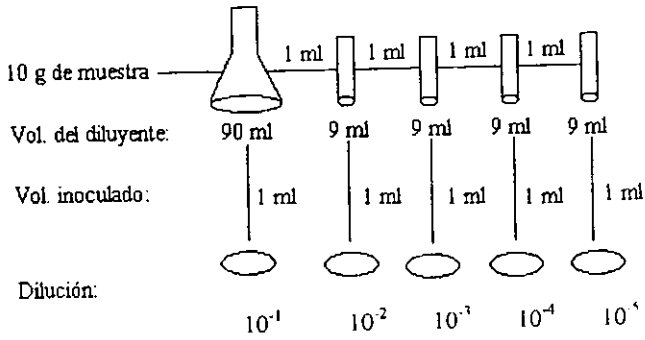
$$\text{UFC/mL} = \text{UFC} \times \frac{1}{\text{Dilución}}$$

Donde:

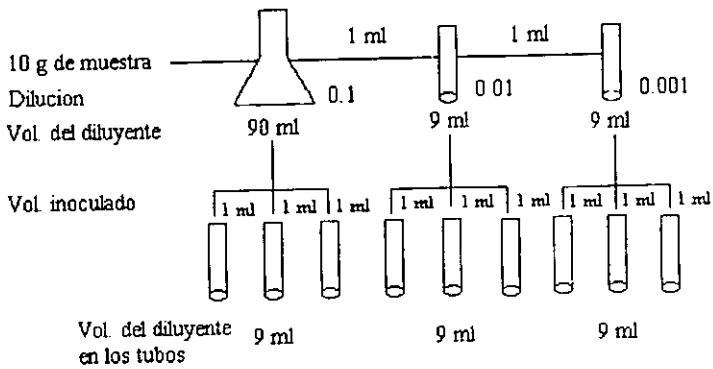
UFC = Unidades formadoras de colonias

Contar las colonias de hongos en el medio agar papa-dextrosa y las colonias de levaduras en el medio agar extracto de malta. Multiplicar por el inverso de la dilución y reportar: cuenta de hongos en placas de agar papa-dextrosa después de 5 días a 28°C por gramo de muestra y cuenta de levaduras en placas de agar extracto de malta después de 24 hrs a 35°C.

**DIAGRAMA No. 1**  
**PREPARACION DE DILUCIONES**



**DIAGRAMA No. 2**  
**RECUENTO DE MICROORGANISMOS POR DILUCION EN TUBO**  
**PRUEBA PRESUNTIVA**



## NUMERO MAS PROBABLE DE ORGANISMOS

Tubos inoculados: 3 con 1 ml dilución 1:10 = 0.1 g de muestra  
 3 con 1 ml dilución 1:100 = 0.01 g de muestra  
 3 con 1 ml dilución 1:1000 = 0.001 g de muestra

Tubos positivos NMP/g				Tubos positivos NMP/g				Tubos positivos NMP/g				Tubos positivos NMP/g			
3	3	3		3	3	3		3	3	3		3	3	3	
(0.1)	(0.01)	(0.001)		(0.1)	(0.01)	(0.001)		(0.1)	(0.01)	(0.001)		(0.1)	(0.01)	(0.001)	
0	0	0	-3.0	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23.0
0	0	1	-3.0	1	0	1	7.2	2	0	1	14.0	3	0	1	39.0
0	0	2	6.0	1	0	2	11.0	2	0	2	20.0	3	0	2	64.0
0	0	3	9.0	1	0	3	15.0	2	0	3	26.0	3	0	3	95.0
0	1	0	3.0	1	1	0	7.3	2	1	0	25.0	3	1	0	43.0
0	1	1	6.1	1	1	1	11.0	2	1	1	20.0	3	1	1	75.0
0	1	2	9.2	1	1	2	15.0	2	1	2	27.0	3	1	2	12.0
0	1	3	12.0	1	1	3	19.0	2	1	3	34.0	3	1	3	160.0
0	2	0	6.2	1	2	0	11.0	2	2	0	21.0	3	2	0	93.0
0	2	1	9.3	1	2	1	15.0	2	2	1	28.0	3	2	1	150.0
0	2	2	12.0	1	2	2	20.0	2	2	2	35.0	3	2	2	210.0
0	2	3	16.0	1	2	3	24.0	2	2	3	42.0	3	2	3	290.0
0	3	0	9.4	1	3	0	16.0	2	3	0	29.0	3	3	0	240.0
0	3	1	13.0	1	3	1	20.0	2	3	1	36.0	3	3	1	460.0
0	3	2	16.0	1	3	2	24.0	2	3	2	44.0	3	3	2	1100.0
0	3	3	19.0	1	3	3	29.0	2	3	3	53.0	3	3	3	+1100.0

**TABLA No. 1**  
**Características de *Escherichia coli* en medios diferenciales**

Medio de cultivo	Características macroscópicas
Agar Mac Conkey	Colonias grandes de color rojo, que pueden estar rodeadas de una zona con precipitado de bilis
Agar Levine-eosina azul de metileno	Colonias de tamaño pequeño color azul-negro con brillo metálico verdoso a la luz reflejada en la parte central

**TABLA No. 2**  
**Características de *Salmonella* en medios diferenciales**

Medio de cultivo	Características macroscópicas
Agar MacConkey	Colonias translúcidas e incoloras, a veces con centro oscuro
Agar xilosa-lisina-desoxicolato	Colonias rojas o rosas con o sin centro negro, de aproximadamente 1 mm
Agar sulfito de bismuto	Colonias negras o verdes

TABLA No. 3

*Características de Staphylococcus aureus*

Medio de cultivo	Características macroscópicas
Agar Vogel Johnson	Colonias negras rodeadas de una zona amarilla

## 5.5 Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados, se utilizarán dos pruebas estadísticas: *t* de Student para la comparación de dos muestras diferentes (análisis de la calificación entre las muestras de pollo crudo y pollo cocido) y prueba de intervalos múltiples de Duncan para la comparación de más de dos muestras diferentes (análisis del contenido de proteína y fibra dietética en muestras de harina de maíz, calificación química en muestras de harina de maíz, contenido de fibra dietética y calificación química en las fórmulas). El objetivo de las dos pruebas anteriores es establecer si existe diferencia significativa entre las muestras, lo cual permitirá establecer en primer lugar, cuáles de las materias primas analizadas son las mejores para la elaboración de las fórmulas, y finalmente, al comparar las fórmulas permitirá establecer cuál o cuáles de ellas son las de mejor calidad.

### 5.5.1 *t* de Student

En el estadístico *t* de Student, los datos por analizar pertenecen a datos continuos, por lo cual, los cálculos que involucra esta prueba incluyen estadísticos poblacionales como la media y la desviación estándar.

La prueba *t* de Student determina si las medias obtenidas por la evaluación de una o dos muestras pertenecen o no a una misma población. Esta prueba indica si las diferencias encontradas pueden declararse como significativas con un cierto nivel de confiabilidad.

En el caso de comparar dos muestras, el empleo de la prueba *t* de Student es muy común. El propósito de la prueba es comparar dos medias, las cuales se supone provienen de dos muestras al azar de la misma población ( $H_0$ : muestra 1 = muestra 2). Por esta razón, la desviación estándar usada es la estimación del valor poblacional, *S*.

El estadístico de la prueba es:

$$T = \frac{(y_{1prom} - y_{2prom}) - D_0}{S \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

Para obtener *S*:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_{1i} - y_{1prom})^2 + \sum_{i=1}^n (y_{2i} - y_{2prom})^2}{n_1 + n_2 - 2}$$



y = observaciones

n = réplicas de cada tratamiento

En este caso,  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = D_0$ , como se desea probar si  $\mu_1 - \mu_2 = 0$ .  $D_0 = 0$ . Además, como se desea saber si hay diferencia entre las medias de las dos muestras, la prueba tiene una alternativa de dos colas. La región de rechazo para  $\alpha$  es  $|t| > t_{\alpha/2} (72,73)$ .

### 5.5.2 Prueba de intervalos múltiples de Duncan

Un procedimiento usado ampliamente para comparar todas las parejas de medias es la prueba de intervalos múltiples de Duncan. Para aplicar dicha prueba en muestras del mismo tamaño, se disponen en orden ascendente los a promedios de tratamiento y se determina el error estándar de cada promedio,  $S_{y_i}$ .

X	OBSERVACIONES					TOTALES	PROMEDIOS
X <sub>1</sub>	Y <sub>11</sub>	Y <sub>12</sub>	Y <sub>13</sub>	...	Y <sub>1n1</sub>	Y <sub>1</sub>	Y <sub>1</sub> /n <sub>1</sub>
X <sub>2</sub>	Y <sub>21</sub>	Y <sub>22</sub>	Y <sub>23</sub>	...	Y <sub>2n2</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>2</sub> /n <sub>2</sub>
X <sub>3</sub>	Y <sub>31</sub>	Y <sub>32</sub>	Y <sub>33</sub>	...	Y <sub>3n3</sub>	Y <sub>3</sub>	Y <sub>3</sub> /n <sub>3</sub>
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.
X <sub>R</sub>	Y <sub>a1</sub>	Y <sub>a2</sub>	Y <sub>a3</sub>	...	Y <sub>an1</sub>	Y <sub>a</sub>	Y <sub>a</sub> /n <sub>a</sub>
						Y	

Donde

X = tratamiento

Y = observaciones

n = réplicas para cada tratamiento

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SS	MS
TRATAMIENTO	a - 1	$\sum_{i=1}^a Y_i^2/n - Y_{..}^2/N$	
ERROR	N - a	SS <sub>TOTAL</sub> - SS <sub>TRATAMIENTO</sub>	SS <sub>ERROR</sub> /N - a
TOTAL	N - 1	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - Y_{..}^2/N$	

Donde

a = número de niveles en los que se subdividió la variable

N = total de observaciones

n = número de réplicas en el nivel i

i = cada muestra

j = cada réplica de las muestras

Para obtener el error estándar de cada promedio se usa:

$$S_{y_i} = \sqrt{MSE / n}$$

Una vez determinado el error estándar de cada promedio, y a partir de la tabla de intervalos significativos de Duncan, se obtienen los valores de  $r_{\alpha}(p, f)$ , para  $p = 2, 3, \dots, a$ , en donde  $\alpha$  es el nivel de significación y  $f$  es el número de grados de libertad del error. Estos intervalos deben transformarse en un conjunto de  $a - 1$  mínimos intervalos significativos (es decir,  $R_p$ ) para  $p = 2, 3, \dots, a$ , calculando:

$$R_p = r_{\alpha}(p, f) S_{y_i} \quad \text{para } p = 2, 3, \dots, a$$

A continuación, se prueban las diferencias observadas entre las medias, comenzando por el valor más alto contra el más pequeño, comparando esta diferencia con el intervalo mínimo significativo  $R_a$ . Después se calcula la diferencia entre el valor más alto

y el segundo más pequeño y se compara con el intervalo mínimo significativo  $R_{a-1}$ . Este procedimiento continúa hasta que todas las medias han sido comparadas con la media más grande. A continuación, la diferencia entre la segunda media más grande y la más pequeña se calcula y compara contra el intervalo mínimo significativo  $R_{a-1}$ . Este proceso continúa hasta que han sido consideradas las diferencias entre todos los  $a(a-1)/2$  posibles pares. Si una diferencia observada es mayor que el intervalo mínimo significativo correspondiente, se concluye que la pareja de medias en cuestión es significativamente diferente. Para evitar contradicciones, ninguna diferencia entre una pareja de medias se considera significativa si las dos medias se encuentran entre otras dos que no difieran significativamente.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro No. 1 se muestran los resultados del análisis proximal realizado a las materias primas en base húmeda. Para comparar los resultados obtenidos es necesario que éstos se encuentren en la misma base con respecto al contenido de humedad, por lo cual en el cuadro No. 2 se muestran los resultados de los análisis en base seca.

Uno de los objetivos del presente trabajo es seleccionar las materias primas más adecuadas para la elaboración de las fórmulas en polvo, para lo cual, los resultados obtenidos de los análisis proximales fueron comparados por medio de pruebas estadísticas; en cada caso, los análisis se hicieron por triplicado.

Con respecto a las dextrinas, se observa que los carbohidratos son el componente principal, siendo el contenido de fibra dietética muy bajo. Lo anterior permite el uso de las dextrinas como fuente de carbohidratos en las fórmulas, ayudando a disminuir el contenido de fibra dietética en las mismas.

En lo que respecta al maíz, se analizaron tres diferentes muestras: harina de maíz crudo, y dos marcas diferentes de harina de maíz nixtamalizado. En la parte superior del cuadro No. 3, se muestra el promedio del contenido de proteína de cada muestra, y en la parte inferior se encuentra un gráfico que muestra cuáles de las muestras presentan diferencia significativa. Los resultados fueron analizados por medio de una prueba de intervalos múltiples de Duncan, y se observa que existe diferencia significativa con  $\alpha$  de 0.05 entre el maíz crudo y las muestras de harina de maíz nixtamalizado, siendo el maíz crudo el que cuenta con un mayor contenido de este componente; no se encontró diferencia significativa entre las muestras de harina de maíz nixtamalizado. Lo anterior puede deberse a que durante el proceso de nixtamalización hay solubilización de algunas proteínas las cuales son eliminadas al retirar el agua de cocción (nejayote). Finalmente, y debido a que uno de los objetivos del presente trabajo es disminuir el contenido de fibra dietética en la fórmula pollo-harina de maíz nixtamalizado, se comparó el contenido de fibra dietética en las tres muestras (cuadro No. 4), encontrándose que hay diferencia significativa entre las mismas, siendo la harina de maíz crudo la que tiene un mayor contenido de este componente, lo que, al igual que en el caso de la proteína, se debe a que parte de la fibra es eliminada durante la nixtamalización.

**CUADRO No. 1**  
**ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS MATERIAS PRIMAS**  
**BASE HÚMEDA**  
**(gramos/100 gramos de muestra)**

MUESTRA	HUMEDAD	CENIZAS	PROTEÍNA CRUDA	GRASA CRUDA	FIBRA DIETÉTICA	CHO's
POLLO CRUDO	67.2	1.41	30.11	0.72	-	0.56
POLLO COCIDO	60.52	1.66	35.10	1.77	-	0.95
HMC <sup>1</sup>	4.91	3.03	13.00	2.88	11.93	64.25
HMN 1 <sup>2</sup>	8.11	1.20	8.97	4.04	7.18	70.50
HMN 2 <sup>3</sup>	7.09	1.50	9.23	4.65	9.43	68.10
DEXTRINAS	9.47	0.07	0.61	0.20	0.59	89.06

1 Harina de maíz crudo

2 Harina de maíz nixtamalizado marca Minsa

3 Harina de maíz nixtamalizado marca Maseca

**CUADRO No. 2**  
**ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS MATERIAS PRIMAS**  
**BASE SECA**  
**(gramos/100 gramos de muestra)**

<b>MUESTRA</b>	<b>CENIZAS</b>	<b>PROTEÍNA CRUDA</b>	<b>GRASA CRUDA</b>	<b>FIBRA DIETÉTICA</b>	<b>CHO's</b>
<b>POLLO CRUDO</b>	4.30	91.80	2.20	-	1.70
<b>POLLO COCIDO</b>	4.20	88.90	4.50	-	2.40
<b>HMC<sup>1</sup></b>	3.19	13.67	3.03	12.55	67.56
<b>HMN 1<sup>2</sup></b>	1.30	9.76	4.40	7.82	76.72
<b>HMN 2<sup>3</sup></b>	1.60	9.93	5.00	10.15	73.32
<b>DEXTRINAS</b>	0.08	0.70	0.20	0.70	98.32

1 Harina de maíz crudo

2 Harina de maíz nixtamalizado marca Minsa

3 Harina de maíz nixtamalizado marca Maseca

**CUADRO No. 3**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE INTERVALOS MÚLTIPLES DE DUNCAN**  
**PROTEÍNA EN LAS MUESTRAS DE HARINA DE MAÍZ**

<b>MATERIA PRIMA</b>	<b>% PROTEÍNA</b>
HMN 1	8.97
HMN 2	9.23
HMC	13.00



**CUADRO No. 4**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE INTERVALOS MÚLTIPLES DE DUNCAN**  
**FIBRA DIETÉTICA EN LAS MUESTRAS DE HARINA DE MAÍZ**

MATERIA PRIMA	% PROTEÍNA
HMN 1	7.18
HMN 2	9.43
HMC	11.93





En el cuadro No. 5 se muestra el contenido de aminoácidos indispensables presente en las diferentes muestras de pollo y harina de maíz; los resultados que se presentan en este cuadro son el promedio de tres determinaciones. De acuerdo a este cuadro, el pollo tiene una concentración elevada de lisina, aminoácido que es deficiente en el maíz; de igual forma, la cantidad de triptofano en el pollo es superior a la del maíz, por lo que la proteína de pollo puede aportar los aminoácidos que son deficientes en el maíz. Por otra parte, se encontraron diferencias con respecto al contenido de aminoácidos entre las dos muestras de harina de maíz nixtamalizado.

A continuación, en el cuadro No. 6 se presenta el aminoácido limitante de cada una de las materias primas, así como la calificación química de las mismas. Con respecto a la calificación química, esta fue calculada utilizando el patrón FAO 1985 tanto para lactantes como para niños en edad preescolar, debido a que las fórmulas a elaborar están diseñadas para niños de estas edades. En primer lugar, cabe hacer notar que los requerimientos de los lactantes son superiores a los de niños en edad preescolar, por lo que la calificación química obtenida a partir del patrón para lactantes es menor a la de los preescolares. En este cuadro se observa que la calificación química de las muestras de pollo es superior a la calificación química de las muestras de harina de maíz. Asimismo, debido a que los requerimientos para lactantes y preescolares son diferentes, también se observa que en el caso de las muestras de harina de maíz nixtamalizado cambia el aminoácido limitante, ya que en el caso de la calificación química para lactantes es el triptofano, pero en preescolares es la lisina. Con respecto al pollo, se comprobó lo reportado en la bibliografía, ya que el aminoácido limitante en las muestras de pollo crudo y cocido es el triptofano.

**CUADRO No. 5**  
**CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS INDISPENSABLES EN LAS MATERIAS PRIMAS**  
**(gramos de aminoácido/16 gramos de nitrógeno)**

AMINOÁCIDO	POLLO CRUDO	POLLO COCIDO	HMC	HMN 1	HMN 2
ISOLEUCINA	5.78	6.06	5.31	3.86	5.11
LEUCINA	9.16	10.15	14.56	15.46	17.69
LISINA	9.36	11.09	5.62	3.38	3.61
TOT. AZUFRADOS*	5.48	5.99	3.48	4.05	4.42
TOT. AROMÁTICOS**	9.07	8.07	11.15	10.39	12.37
TREONINA	6.51	5.90	5.39	4.91	4.25
TRIPTOFANO	1.22	1.29	1.01	0.78	0.71
VALINA	5.75	6.47	7.93	4.87	6.95
HISTIDINA	3.94	4.53	3.61	3.00	3.20

\* Total de aminoácidos azufrados: cisteína + metionina

\*\* Total de aminoácidos aromáticos: fenilalanina + tirosina

**CUADRO No. 6**  
**AMINOÁCIDO LIMITANTE Y CALIFICACIÓN QUÍMICA DE LAS MATERIAS PRIMAS**

MUESTRA	PATRÓN FAO 1985 LACTANTES AMINOÁCIDO LIMITANTE	CALIFICACIÓN QUÍMICA	PATRÓN FAO 1985 PREESCOLARES AMINOÁCIDO LIMITANTE	CALIFICACIÓN QUÍMICA
<b>POLLO CRUDO</b>	TRIPTOFANO	58.67	TRIPTOFANO	67.82
<b>POLLO COCIDO</b>	TRIPTOFANO	58.62	TRIPTOFANO	68.21
<b>HMC</b>	TRIPTOFANO	47.07	TRIPTOFANO	53.96
<b>HMN 1</b>	TRIPTOFANO	41.63	LISINA	39.09
<b>HMN 2</b>	TRIPTOFANO	32.95	LISINA	36.14

Para establecer si hay diferencia en cuanto a la composición de la proteína de pollo antes y después del proceso de cocción, se comparó la calificación química de las muestras por medio de una prueba de *t* de Student. A partir de los resultados obtenidos en cuanto al contenido de aminoácidos indispensables, se calculó la calificación química de las muestras y se comparó el promedio de las tres determinaciones realizadas a cada muestra. En el cuadro No. 7 se compara la calificación química obtenida al utilizar el patrón FAO para lactantes, observándose que no hay diferencia significativa con  $\alpha$  0.05, por lo que puede decirse que no hay pérdida significativa de aminoácidos indispensables durante el proceso de cocción. A continuación, en el cuadro No. 8 se muestra el análisis con respecto a la calificación química para preescolares en el cual se observa el mismo resultado, es decir, no se encuentra diferencia significativa entre la calificación química del pollo crudo y la del pollo cocido.

Para determinar si hay diferencia con respecto a la calificación química de las muestras de harina de maíz, se realizó un análisis de intervalos múltiples de Duncan. Al igual que en el caso anterior, las determinaciones se realizaron por triplicado, mostrándose en el cuadro No. 9 el promedio de la calificación química. En primer lugar, en el caso de la calificación química calculada para lactantes, se observa que hay diferencia significativa entre las tres muestras, siendo la que tiene una calificación química superior la muestra de maíz crudo. De igual forma, se encontró diferencia significativa entre las tres muestras con respecto a la calificación química calculada para preescolares (cuadro No. 10), siendo también en este caso la muestra de harina de maíz crudo la que tiene una calificación superior a las otras dos muestras, por lo que se observa que hay una pérdida importante de aminoácidos indispensables durante el proceso de nixtamalización.

**CUADRO No. 7**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE t DE STUDENT**  
**CALIFICACIÓN QUÍMICA (lactantes)**

<b>MATERIA PRIMA</b>	<b>CALIFICACIÓN QUÍMICA</b>
<b>POLLO CRUDO</b>	58.85
<b>POLLO COCIDO</b>	57.97



**CUADRO No. 8**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE t DE STUDENT**  
**CALIFICACIÓN QUÍMICA (preescolares)**

<b>MATERIA PRIMA</b>	<b>CALIFICACIÓN QUÍMICA</b>
<b>POLLO CRUDO</b>	67.87
<b>POLLO COCIDO</b>	67.59



**CUADRO No. 9**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE INTERVALOS MÚLTIPLES DE DUNCAN**  
**CALIFICACIÓN QUÍMICA DE HARINA DE MAÍZ (lactantes)**

MATERIA PRIMA	% PROTEÍNA
HMN 1	42.14
HMN 2	32.59
HMC	47.80



**CUADRO No. 10**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE INTERVALOS MÚLTIPLES DE DUNCAN**  
**CALIFICACIÓN QUÍMICA DE HARINA DE MAÍZ (preescolares)**

MATERIA PRIMA	% PROTEÍNA
HMN 1	39.46
HMN 2	36.40
HMC	56.13





Una vez analizados los resultados anteriores, se eligieron las materias primas para la elaboración de las mezclas para la obtención de las fórmulas en polvo. Con respecto al pollo, se optó por el empleo del pollo cocido, ya que, además de no encontrarse diferencia significativa con el pollo crudo en cuanto a calificación química, se sabe que el pollo cocido representa una fuente de proteínas de más fácil asimilación que la proteína del pollo crudo debido a que durante el proceso de cocción la proteína llega a hidrolizarse de manera parcial, lo que permite que sea digerida con mayor facilidad que la proteína del pollo crudo. Sin embargo, aunque el empleo del pollo cocido representa una ventaja con respecto al crudo debido a la facilidad con que puede ser digerido, se tiene la desventaja del costo que el proceso de cocción pudiera representar; sin embargo, en este trabajo no se realizó ningún estudio a este respecto, considerándose únicamente el aspecto nutricional.

En el caso de las muestras de harina de maíz, se decidió el empleo de harina de maíz nixtamalizado (marca Minsa). Aunque la calificación química del maíz crudo fue superior a la de las muestras de harina de maíz nixtamalizado, se encontró que la cantidad de fibra dietética presente en el maíz crudo es muy superior a la de las otras muestras, por lo que su empleo en las fórmulas haría que el alimento tuviera un gran contenido de este componente, lo cual sería perjudicial para el niño desnutrido, ya que esto podría reducir el contenido energético del alimento, además de que un alto contenido de fibra podría ocasionar irritaciones gastrointestinales, lo que resultaría contraproducente en el tratamiento de la intolerancia a la lactosa y la desnutrición. Además, como se mencionó anteriormente, puede observarse que los aminoácidos que son deficientes en la proteína de maíz pueden ser aportados por la proteína de pollo.

Una vez elegidas las materias primas para la elaboración de las mezclas, se calculó la cantidad necesaria de cada componente para que la fórmula tuviera el contenido energético adecuado para niños de corta edad. Como fue mencionado en la metodología, se elaboraron cuatro diferentes fórmulas, las cuales fueron comparadas con una fórmula comercial elaborada con proteína aislada de soya suplementada con metionina.

En los cuadros No. 11 y 12 se presenta la composición de cada una de las fórmulas elaboradas así como la composición de la fórmula comercial (Nursoy) en base húmeda y base seca respectivamente. En estos cuadros puede observarse que todas las fórmulas elaboradas en este trabajo presentan un contenido de humedad superior al establecido en las especificaciones para fórmulas no lácteas establecidas por el IMSS; todas presentan un contenido de humedad superior al 3 %. A diferencia de estas, la fórmula comercial sí cumple con la especificación de la norma antes mencionada ya que el contenido de humedad es de 1.91 %. Aunque el contenido de humedad en la fórmulas elaboradas es superior al 3 %, es posible ajustar dicho contenido cuidando las temperaturas de entrada y de salida en el secador por aspersión al elaborar las fórmulas en polvo.

Con respecto al contenido de cenizas, se observa que éste es inferior en las muestras elaboradas comparado con el de la muestra comercial, por lo que es probable que algunos minerales en las fórmulas elaboradas estén en menor proporción con respecto a la fórmula comercial, por lo que se recomienda analizar la concentración de minerales, y en caso de ser necesario, ajustar la cantidad en las fórmulas para que éstas cumplan con los requerimientos de los niños lactantes y preescolares.

En cuanto al contenido de fibra dietética, en la norma del IMSS para fórmulas no lácteas en polvo no se especifica el contenido de fibra dietética que deben contener estas fórmulas; sin embargo, la FAO recomienda que no sea superior al 2 %. De las fórmulas elaboradas, únicamente la fórmula pollo-dextrinas cumple con este parámetro ya que el resto de las fórmulas tiene un contenido superior al 2 %; en el caso de la fórmula comercial, se observa que sí cumple con el contenido de fibra dietética, ya que éste es de 1.73 %.

Con respecto al contenido de proteína en las fórmulas, la norma del IMSS establece que sea de 13 a 18 %; de acuerdo a esto, las fórmulas pollo-harina de maíz y pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35 cumplen con las especificaciones establecidas; la fórmula pollo-dextrinas tiene un contenido ligeramente superior al establecido, mientras que la fórmula comercial al igual que la fórmula pollo-harina de maíz dextrinas 50:50, tienen un contenido inferior al de la norma ya que la primera tiene 12.22% de proteína y la segunda sólo cuenta con un 10.5 %. La razón por la cual esta última fórmula tiene un bajo contenido de proteína se debe a que al mezclar la harina de maíz con las dextrinas en proporción 65:35, y tratar de que la proteína tuviera una composición 50:50 pollo-harina de maíz no se pudo alcanzar el

contenido de proteína que se tenía como objetivo debido a que la cantidad de carbohidratos era muy elevado. Debido a esto, como puede observarse en el cuadro, esta fórmula es la que tiene el mayor contenido de carbohidratos.

Por otra parte, en lo que respecta al contenido de grasa en las fórmulas, sólo las fórmulas pollo-harina de maíz-dextrinas 50:50 y pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35 cumplen con la norma del IMSS, ya que esta establece que el contenido de grasa en las fórmulas debe ser de entre 9 y 18 % de grasa vegetal. El contenido de grasa en las fórmulas pollo-harina de maíz y pollo-dextrinas fue ligeramente superior al establecido en la norma, y en la fórmula comercial, fue aún más elevado, siendo éste de 24.37 %.

Finalmente, se observa que el contenido de carbohidratos en todas las fórmulas cumple con lo establecido en la norma, la cual especifica que este debe ser de 53 a 66 %.

Siendo uno de los objetivos del presente trabajo la disminución de fibra dietética en la fórmula pollo-harina de maíz, se comparó el contenido de este componente en cada una de las fórmulas elaboradas, encontrándose que hay diferencia significativa entre todas ellas, excepto entre las fórmulas pollo-harina de maíz-dextrinas 50:50 y pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35 (cuadro No. 13). La fórmula pollo-harina de maíz es la que cuenta con un mayor contenido de fibra dietética, y la fórmula pollo-dextrinas es la que tiene un menor contenido de este componente. Por lo anterior, puede observarse que sí se logró disminuir el contenido de fibra dietética en las fórmulas, aunque sólo la fórmula pollo-dextrinas cumple con la especificación establecida por la FAO con respecto a la cantidad recomendada de fibra en las fórmulas en polvo.

**CUADRO No. 11**  
**ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS FÓRMULAS ELABORADAS Y DE LA FÓRMULA COMERCIAL**  
**BASE HÚMEDA**  
**(gramos/100 gramos de fórmula)**

COMPONENTE	FÓRMULA 1 <sup>1</sup>	FÓRMULA 2 <sup>2</sup>	FÓRMULA 3 <sup>3</sup>	FÓRMULA 4 <sup>4</sup>	NURSOY <sup>5</sup>
<b>HUMEDAD</b>	3.64	3.30	3.56	3.59	1.91
<b>CENIZAS</b>	2.58	2.16	1.94	2.50	3.33
<b>FIBRA DIETÉTICA</b>	5.40	0.98	3.68	3.45	1.88
<b>PROTEÍNA</b>	15.77	18.85	10.52	14.88	12.22
<b>GRASA</b>	19.23	20.92	14.79	11.38	24.37
<b>CARBOHIDRATOS</b>	53.38	53.79	65.58	64.20	56.29

1 Fórmula pollo-harina de maíz nixtamalizado

2 Fórmula pollo-dextrinas

3 Fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas (proteína 50:50)

4 Fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas (proteína 65:35)

5 Fórmula comercial elaborada con proteína aislada de soya

**CUADRO No. 12**  
**ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS FÓRMULAS ELABORADAS Y DE LA FÓRMULA COMERCIAL**  
**BASE SECA**  
**(gramos/100 gramos de fórmula)**

COMPONENTE	FÓRMULA 1 <sup>1</sup>	FÓRMULA 2 <sup>2</sup>	FÓRMULA 3 <sup>3</sup>	FÓRMULA 4 <sup>4</sup>	NURSOY <sup>5</sup>
CENIZAS	2.68	2.23	1.94	2.59	3.39
FIBRA DIETÉTICA	5.60	1.01	3.81	3.58	1.92
PROTEÍNA	16.37	19.49	10.91	15.43	12.46
GRASA	19.95	21.63	15.34	11.80	24.84
CARBOHIDRATOS	55.40	55.64	68.00	66.60	57.39

1 Fórmula pollo-harina de maíz nixtamalizado

2 Fórmula pollo-dextrinas

3 Fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas (proteína 50:50)

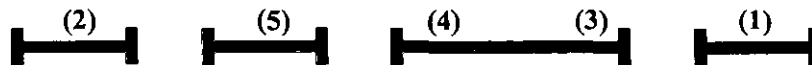
4 Fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas (proteína 65:35)

5 Fórmula comercial elaborada con proteína aislada de soya

CUADRO No. 13

ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE INTERVALOS MÚLTIPLES DE DUNCAN  
 CONTENIDO DE FIBRA DIETÉTICA EN LAS FÓRMULAS

FÓRMULA	% FIBRA DIETÉTICA
POLLO - HARINA DE MAÍZ (1)	5.40
POLLO - DEXTRINAS (2)	0.98
POLLO - HARINA DE MAÍZ - DEXTRINAS 50:50 (3)	3.68
POLLO - HARINA DE MAÍZ - DEXTRINAS 65:35 (4)	3.45
NURSOY (5)	1.88



El aporte energético de las fórmulas elaboradas y de la fórmula comercial se presenta en el cuadro No. 14. En este cuadro, se muestra la cantidad de energía aportada por la proteína, la grasa y los carbohidratos que contiene cada fórmula, y también se muestra el aporte energético total. Este tipo de fórmulas en polvo deben tener un aporte energético de aproximadamente 500 kcal/100 gramos de producto, y de acuerdo a esto, puede observarse que todas las fórmulas presentan un contenido energético ligeramente menor al que se tenía como objetivo. En este caso, la fórmula pollo-dextrinas es la que puede aportar una mayor cantidad de energía, y la fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35 es la que cuenta con un menor contenido energético. Finalmente, con respecto a este parámetro, puede observarse que el contenido energético de las fórmulas es similar al de la fórmula comercial.

En el cuadro No. 15, se presenta la distribución energética de las fórmulas. La fórmula pollo-harina de maíz cumple con las recomendaciones con respecto a los tres componentes antes mencionados. La fórmula pollo-dextrinas tiene un aporte ligeramente superior de energía proveniente de la proteína, y un aporte de energía ligeramente inferior de los carbohidratos; sin embargo el aporte de energía por parte de la grasa vegetal sí se encuentra dentro del rango recomendado. En el caso de la fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas 50:50, la cantidad de energía aportada por las proteínas es inferior a lo recomendado, esto se debe a que, como se mencionó anteriormente, no se pudo alcanzar el contenido de proteína requerido; de igual forma, el aporte energético por parte de las grasas también es ligeramente inferior al recomendado, mientras que la energía aportada por los carbohidratos es superior a las recomendaciones. En la fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35, el aporte energético de la proteína se encuentra en la cantidad recomendada al igual que la energía aportada por los carbohidratos; sin embargo, la cantidad de energía aportada por las grasas es un poco baja. Finalmente, en el caso de la fórmula comercial se encontró que la cantidad de proteína en la fórmula es baja, ya que el aporte energético por parte de este componente está por debajo de lo recomendado, siendo muy similar al aporte energético de proteína en la fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas 50:50; la cantidad de grasa en la fórmula está por encima de lo recomendado como se observó en los resultados del análisis proximal, y la cantidad de carbohidratos se encuentra dentro de las recomendaciones.

En el cuadro No. 16, se muestra la composición aminoacídica de la proteína de cada una de las fórmulas; los resultados presentados son el promedio de tres determinaciones realizadas. En el caso de la fórmula pollo-dextrinas, puede observarse que, en general, el contenido de aminoácidos indispensables es menor al encontrado en el pollo cocido ya que es probable que durante el proceso de deshidratación se hayan perdido estos aminoácidos. En seguida, en el cuadro No. 17, se presenta el aminoácido limitante de cada muestra y la calificación química de las mismas tanto para lactantes como para preescolares. En este cuadro puede observarse que en todas las fórmulas, el aminoácido limitante para lactantes es el triptofano. En el caso de los preescolares, el aminoácido limitante también es el triptofano excepto para la fórmula pollo-dextrinas, en donde el total de aminoácidos aromáticos es el limitante. Aunque se observó una disminución en cuanto al contenido de aminoácidos indispensables en esta última fórmula con respecto al pollo cocido, la calificación química para lactantes entre ambas muestras es similar e inclusive aumenta en el caso de la calificación química para preescolares, lo cual se debe a que mejora la proporción que guardan entre sí los aminoácidos indispensables con respecto al patrón. En general, hay un aumento en la calificación química de las fórmulas con respecto a las materias primas solas, obteniéndose los resultados esperados, ya que el pollo aportó los aminoácidos deficientes en el maíz, es decir, la lisina y el triptofano. Aunque de manera general se observa una disminución en cuanto a la concentración de aminoácidos que se tenía en el pollo con respecto a las fórmulas debido a que se mezcló con el maíz, la calificación química obtenida en las fórmulas es superior a la del pollo, por lo que puede decirse que en estos casos también se mejoró la proporción que guardan entre sí los aminoácidos indispensables.

En la fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas 50:50 se obtuvo una calificación química muy parecida a la de la fórmula pollo-harina de maíz, lo cual era de esperarse ya que la composición de la proteína es la misma, es decir, 50 % de la proteína es aportada por el pollo y el otro 50 % es aportado por la harina de maíz. La calidad proteínica de la fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35 también resulta ser similar a la fórmula pollo-harina de maíz, aunque en este caso la composición de la proteína es diferente, debido a que la mayor parte de la proteína (65%) proviene del pollo. Finalmente, en el caso de la fórmula



comercial, se observó que la calificación química es inferior a la de las fórmulas desarrolladas.

Para establecer si hay diferencia con respecto a la calificación química de las muestras, los resultados fueron analizados por medio de una prueba de intervalos múltiples de Duncan (cuadro No. 18). En la parte superior se muestra el promedio de la calificación química de cada muestra, y en la parte inferior se encuentra un gráfico que muestra cuáles de las fórmulas elaboradas muestran diferencia significativa con respecto a su calificación química, encontrándose, en el caso de la calificación química calculada con el patrón para lactantes, que hay diferencia significativa con  $\alpha$  de 0.05 entre todas las fórmulas, excepto entre las fórmulas pollo-harina de maíz y pollo-harina de maíz-dextrinas 50:50, así como entre las fórmulas pollo-harina de maíz y pollo-harina de maíz dextrinas 65:35. En cuanto a la calificación química de las fórmulas calculada para preescolares se obtuvieron resultados diferentes al caso anterior (cuadro 19), ya que únicamente se encuentra diferencia significativa entre la muestra comercial y todas las fórmulas elaboradas, siendo la fórmula comercial la que cuenta con la calificación química más baja. No se encontró diferencia significativa entre las fórmulas elaboradas.

En términos generales, las fórmulas más recomendables son: pollo-dextrinas y pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35 ya que son las que más se acercan a las recomendaciones en cuanto a composición y calidad proteínica. En el caso de la fórmula pollo-harina de maíz el contenido de fibra dietética es elevado, y en la fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas, se obtuvo una baja cantidad de proteína. A pesar de lo anterior, cabe hacer notar que la calidad proteínica de la fórmula comercial fue inferior a la de las fórmulas elaboradas.

Finalmente, en el cuadro No. 20 se muestran los resultados obtenidos después de realizar las pruebas microbiológicas a las fórmulas elaboradas en el laboratorio. En este cuadro puede observarse que la calidad microbiológica de las fórmulas elaboradas es aceptable, ya que la cantidad de microorganismos encontrada se encuentra por debajo de lo máximo permitido para fórmulas en polvo no lácteas de acuerdo a la norma del IMSS; la cantidad total de microorganismos es muy inferior a lo recomendado, y no se encontró presencia de microorganismos patógenos (*E. coli*, *Salmonella* y *S. aureus*). A este respecto, no se determinó presencia de coliformes, por lo que ya no se realizaron las pruebas para establecer presencia de *E. coli* y *Salmonella*, sin embargo, en el cuadro se señala la ausencia de estos microorganismos con el fin de comparar los resultados con las especificaciones del IMSS. La calidad microbiológica es sumamente importante en alimentos infantiles, sobre todo en alimentos dirigidos a lactantes, debido a que los niños no cuentan con factores de protección que proporciona la leche materna, por lo que son más susceptibles a sufrir enfermedades.

**CUADRO No. 14**  
**CONTENIDO ENERGÉTICO DE LAS FÓRMULAS ELABORADAS Y DE LA FÓRMULA**  
**COMERCIAL**  
**(kcal/100 gramos de fórmula)**

COMPONENTE	FÓRMULA 1 <sup>1</sup>	FÓRMULA 2 <sup>2</sup>	FÓRMULA 3 <sup>3</sup>	FÓRMULA 4 <sup>4</sup>	NURSOY <sup>5</sup>
<b>PROTEÍNA</b>	63.08	75.40	42.08	59.52	48.88
<b>GRASA</b>	173.07	188.28	133.11	102.42	219.33
<b>CARBOHIDRATOS</b>	213.48	215.16	263.24	255.92	227.36
<b>TOTAL</b>	449.63	478.84	438.43	417.86	459.54

1 Fórmula pollo-harina de maíz nixtamalizado

2 Fórmula pollo-dextrinas

3 Fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas (proteína 50:50)

4 Fórmula pollo-harina de maíz-dextrinas (proteína 65:35)

5 Fórmula comercial elaborada con proteína aislada de soya

**CUADRO No. 15**  
**DISTRIBUCIÓN ENERGÉTICA EN LAS FÓRMULAS ELABORADAS**  
**Y EN LA FÓRMULA COMERCIAL**  
**(kcal/100 kcal)**

COMPONENTE	FÓRMULA 1 <sup>1</sup>	FÓRMULA 2 <sup>2</sup>	FÓRMULA 3 <sup>3</sup>	FÓRMULA 4 <sup>4</sup>	NURSOY <sup>5</sup>	RECOMENDACIÓN
<b>PROTEÍNA</b>	14.03	15.75	9.60	14.24	9.86	15
<b>GRASA</b>	38.49	39.32	30.36	24.51	44.26	35 - 40
<b>CARBOHIDRATOS</b>	47.48	44.93	60.04	61.25	45.88	45 -50

1 Fórmula Pollo-Harina de Maíz

2 Fórmula Pollo-Dextrinas

3 Fórmula Pollo-Harina de Maíz-Dextrinas 50:50

4 Fórmula Pollo-Harina de Maíz-Dextrinas 65:35

5 Fórmula comercial elaborada con proteína aislada de soya

CUADRO No. 16

CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS INDISPENSABLES EN LAS FÓRMULAS ELABORADAS  
Y EN LA FÓRMULA COMERCIAL

(gramos de aminoácido/16 gramos de nitrógeno)

AMINOÁCIDO	FÓRMULA 1	FÓRMULA 2	FÓRMULA 3	FÓRMULA 4	NURSOY
ISOLEUCINA	3.99	2.98	3.89	3.61	4.54
LEUCINA	7.32	5.90	9.34	7.69	8.19
LISINA	7.91	6.62	9.40	7.41	4.25
TOT. AZUFRADOS*	3.15	3.38	3.69	5.54	3.52
TOT. AROMÁTICOS**	9.00	4.81	7.51	7.23	8.51
TREONINA	4.06	4.11	4.37	4.34	4.22
TRIPTOFANO	1.05	0.99	1.06	1.00	0.77
VALINA	5.55	3.68	3.96	4.36	5.50
HISTIDINA	3.85	4.90	2.52	3.14	2.80

\* Total de aminoácidos azufrados: cisteína + metionina

\*\* Total de aminoácidos aromáticos: fenilalanina + tirosina

**CUADRO No. 17**  
**AMINOÁCIDO LIMITANTE Y CALIFICACIÓN QUÍMICA DE LAS FÓRMULAS ELABORADAS**  
**Y DE LA FÓRMULA COMERCIAL**

MUESTRA	PATRÓN FAO 1985 LACTANTES		PATRÓN FAO 1985 PREESCOLARES	
	AMINOÁCIDO LIMITANTE	CALIFICACIÓN QUÍMICA	AMINOÁCIDO LIMITANTE	CALIFICACIÓN QUÍMICA
FÓRMULA 1 <sup>1</sup>	TRIPTOFANO	61.93	TRIPTOFANO	72.67
FÓRMULA 2 <sup>2</sup>	TRIPTOFANO	71.68	AROMÁTICOS	75.24
FÓRMULA 3 <sup>3</sup>	TRIPTOFANO	65.07	TRIPTOFANO	71.35
FÓRMULA 4 <sup>4</sup>	TRIPTOFANO	61.05	TRIPTOFANO	70.64
NURSOY <sup>5</sup>	TRIPTOFANO	49.26	TRIPTOFANO	56.71

1 Fórmula Pollo-Harina de Maíz

2 Fórmula Pollo-Dextrinas

3 Fórmula Pollo-Harina de Maíz-Dextrinas 50:50

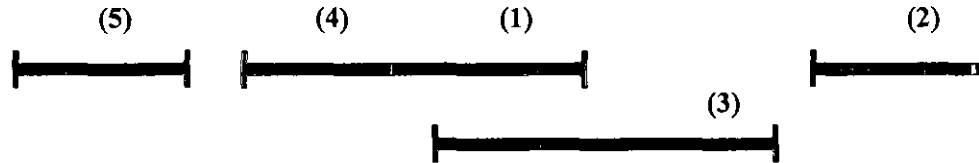
4 Fórmula Pollo-Harina de Maíz-Dextrinas 65:35

5 Fórmula comercial elaborada con proteína aislada de soya

CUADRO No. 18

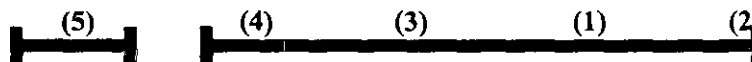
ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE INTERVALOS MÚLTIPLES DE DUNCAN  
 CALIFICACIÓN QUÍMICA EN FÓRMULAS (lactantes)

FÓRMULA	CALIFICACIÓN QUÍMICA
POLLO - HARINA DE MAÍZ (1)	61.68
POLLO - DEXTRINAS (2)	65.54
POLLO - HARINA DE MAÍZ - DEXTRINAS 50:50 (3)	62.57
POLLO - HARINA DE MAÍZ - DEXTRINAS 65:35 (4)	60.98
NURSOY (5)	49.07



**CUADRO No. 19**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO CON PRUEBA DE INTERVALOS MÚLTIPLES DE DUNCAN**  
**CALIFICACIÓN QUÍMICA EN FÓRMULAS (preescolares)**

FÓRMULA	CALIFICACIÓN QUÍMICA
POLLO - HARINA DE MAÍZ (1)	72.32
POLLO - DEXTRINAS (2)	72.57
POLLO - HARINA DE MAÍZ - DEXTRINAS 50:50 (3)	71.21
POLLO - HARINA DE MAÍZ - DEXTRINAS 65:35 (4)	70.55
NURSOY (5)	56.50





CUADRO No. 20

PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS REALIZADAS A LAS FÓRMULAS ELABORADAS

FÓRMULA	MESÓFILOS AEROBIOS (UFC/g)*	COLIFORMES (NMP/g)**	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>	HONGOS (UFC/g)*	LEVADURAS (UFC/g)*
FÓRMULA 1	80	- 3.0	Ausente	Ausente	Ausente	< 10	< 10
FÓRMULA 2	20	- 3.0	Ausente	Ausente	Ausente	< 10	< 10
FÓRMULA 3	240	- 3.0	Ausente	Ausente	Ausente	< 10	< 10
FÓRMULA 4	10	- 3.0	Ausente	Ausente	Ausente	< 10	< 10

\* UFC/g = unidades formadoras de colonias por gramo de alimento

\*\* NMP/g = número más probable de microorganismos por gramo de alimento

## 7. CONCLUSIONES

- Se encontró diferencia significativa con respecto al contenido de proteína y fibra dietética en las muestras de harina de maíz evaluadas.
- No hay diferencia significativo con respecto a la calificación química entre las muestras de pollo crudo y cocido.
- Hay diferencia significativa con respecto a la calificación química de las muestras de harina de maíz evaluadas, siendo el maíz crudo el que cuenta con la calificación química más alta.
- Se logró disminuir el contenido de fibra dietética en las fórmulas, aunque sólo la fórmula pollo-dextrinas tiene un contenido de fibra menor al 2 %.
- El contenido energético en las fórmulas es inferior al recomendado (500 kcal/100 gramos de alimento), siendo la fórmula pollo-dextrinas la que más se acerca a este valor (478.84 kcal/100 gramos de fórmula).
- Hay diferencia significativa con respecto a la calificación química para lactantes entre las fórmulas elaboradas excepto entre las fórmulas pollo-harina de maíz y pollo-harina de maíz-dextrinas 50:50 y entre las fórmulas pollo-harina de maíz y pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35. En el caso de la calificación química para preescolares no hay diferencia significativa entre las fórmulas elaboradas.
- Hay diferencia significativa entre las fórmulas elaboradas y la fórmula comercial con respecto a la calificación química, siendo ésta última la que cuenta con la calificación química más baja.
- La calidad de la proteína de las fórmulas elaboradas es superior a la de la fórmula comercial evaluada.
- La calidad microbiológica de las fórmulas elaboradas en el laboratorio cumple con las especificaciones de la Norma del IMSS, por lo que cuentan con una calidad sanitaria buena.

- Las fórmulas pollo-dextrinas y pollo-harina de maíz-dextrinas 65:35 son las de mejor calidad, ya que su composición es la más similar a las especificaciones de la Norma del IMSS, la distribución energética es adecuada, tienen un contenido de fibra dietética menor al de la fórmula pollo-harina de maíz y la calificación química es buena al igual que la calidad microbiológica.

## 8. RECOMENDACIONES

- Para que las fórmulas tengan un contenido de humedad menor al 3 %, se recomienda cuidar las condiciones con las que se trabaje en el secador por aspersión.
- Se recomienda analizar la composición de las fórmulas en cuanto a vitaminas y minerales, y de ser necesario, ajustar su contenido para que cumplan con los requerimientos de los niños lactantes y en edad preescolar.
- Es necesario realizar pruebas biológicas con las fórmulas con el fin de saber si los resultados que se obtengan concuerdan con los obtenidos químicamente en cuanto a la calidad proteínica de las fórmulas.
- Se deben realizar pruebas de reconstitución de los polvos, y de ser necesario, utilizar procedimientos que mejoren dichas propiedades.

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. UNICEF, El Estado Mundial de la Infancia, España, pp 1 -3 (1998).
2. Casanueva E., Kaufér-Horwitz M., Pérez-Lizaur A. B., Arroyo P. Nutriología Médica Ed. Panamericana, México, pp 20-23, 29, 32-44, 50-52, 152. 193, 361-365 (1995).
3. Barrera G., Gattás V., Uavy R. Evaluación biológica de un sustituto lácteo para el escolar a base de harina de trigo cruda refinada sometida a hidrólisis enzimática. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 45 (2) : 90-91 (1995).
4. UNICEF, El Estado Mundial de la Infancia, España, pp 1-3 (1991).
5. Hernández B., Guerra M. Desarrollo y evaluación de una fórmula para niños con diarrea a base de auyama, arroz, pollo y aceites vegetales. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 47 (1) : 57-61 (1997).
6. Sotelo A., Arenas L., Hernández M. Utilización del garbanzo en fórmulas no lácteas I. Composición química y calidad nutritiva del garbanzo y su comparación con fórmulas infantiles comerciales. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 37 : 551-559 (1987).
7. Bourges H. Panorama alimentario de México. Cuadernos de Nutrición 5 (1) : 19 – 31 (1981).
8. Ronayne de Ferrer P. Pasado y presente en el diseño de fórmulas infantiles. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 45 (4) : 265 – 273 (1995).
9. Silva C. Fórmulas no lácteas para intolerantes a la lactosa. UNAM Hoy. 14 (3) : 5 -10 (1994).
10. Appendini E. Elaboración y evaluación nutricional de un alimento para niños con intolerancia a la lactosa. Tesis de Licenciatura. UNAM, México (1992).
11. Aguirre G., González M. Caracterización de fórmulas en polvo para niños intolerantes a la lactosa. Tesis de Licenciatura. UNAM, México (1993).
12. Guías de Alimentación (compilación). Archivos Latinoamericanos de Nutrición 38 (3) : 397-398 (1988).
13. Zubirán S., Arroyo P, Avila H. La nutrición y la salud en las madres y los niños mexicanos. Biblioteca de la Salud, Tomo II, Pediatría. Fondo de Cultura Económica, México, pp 251 – 269 (1995).

14. Franco R. Desarrollo, pobreza y necesidades básicas en América Latina. ILPES/UNICEF (1982).
15. Valiente S., Abala C., Avila B., Monckeberg F. Patología nutricional en América Latina y el Caribe. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 38 (3) : 445 – 468 (1988).
16. Burton B. Human Nutrition. Ed. Mc Graw Hill, E.U.A, pp 241 – 261 (1976).
17. WHO/UNICEF. The menagement of diarrhoea and use of oral rehidratation therapy. Italia, pp 6 (1983).
18. Lehninger, Bioquímica. Ciencia por una educación popular, E.U.A. Tomos I y II, pp 284 – 285, 419, 686, 765, 767 (1990).
19. Ogra P. Greene L. Human milk and breast feedeing: an update on the state of the art. Pediatric Research 16 : 266 – 271 (1982).
20. Guías dietológicas. Instituto Mexicano del Seguro Social, México, pp 37 – 42 (1977).
21. Cuéllar R. Alimentación del lactante. Soc. Mex. Ped. México, pp 220 – 225 (1985).
22. FAO/OMS Informe de un comité especial mixto, FAO/OMS de expertos en necesidades de energía y proteínas. Italia, pp 34 – 64 (1973).
23. World Health Organization WHO. Energy and protein requeriments. Report of a joint FAO/WHO/ONU. Expert consultation. Technical report series 724, Italia (1985).
24. Badui S. Química de los alimentos. Ed. Alhambra Mexicana, México pp 45, 46, 102, 117 –119, 197 – 200, 213 (1996).
25. Beal V. Nutrición en el ciclo de la vida. Ed. Limusa, México, pp 235 – 281 (1983).
26. Burton B. Nutrición humana. OPS – OMS, E.U.A., pp 89 – 119 (1980).
27. Wilson H. Intestinal absortion. W.B. Saundes, E.U.A., pp 69 – 77 (1962).
28. Carnblath M., Schwartz R. Disorders of carbohidrates metabolism in infancy. W.B. Saunders, E.U.A., pp 5 –9 (1966).
29. Solomons N. La lactosa y sus implicaciones en la gastroenterología. Cuadernos de Nutrición. 20 (4) : 21 – 28 (1997).
30. Lozano J., Céspedes J. Lactose vs. Lactose free regimen in children with acute diarrhoea: a randomized controlled trial. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 44 (1) : 6 – 11 (1994).

31. Espinoza, J., Araya M., Cruchet S., Pacheco E., Cordano A., Brunser O. Rice-based formulas for rapid refeeding of infants with acute diarrhoea. A field trial. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 43 : 139 – 146 (1992).
32. Kleinman R., Bell E., Hatch T., Klish W., Kretmmer N., Tolia V., Udall J. Practical significance of lactose intolerance in children. Supplement Committee on Nutrition. *Pedr* 86 (4) : 643 – 644 (1990).
33. Lactose intolerance. National Digestive Diseases Information Clearinghouse, E.U.A. (1998).
34. Deficiencia de lactasa e intolerancia a la lactosa en México. *Cuadernos de Nutrición* 20 (31) : 18 – 19 (1997).
35. Gómez F., Rull J. Tratado de diabetología México pp 78 – 79 (1991).
36. Torres I., Beltrán F., Irigoyen J., Tejada A. Nutrición y desarrollo infantil. Textos Universitarios, Universidad Veracruzana, México pp 9 – 16 (1993).
37. Robinson H. Normal and therapeutic nutrition. The Mc Millan Company, Inglaterra pp 17 (1967).
38. FAO/WHO. Necesidades de energía y proteínas. Serie de Informes Técnicos no. 724 (1985).
39. Torún B. Proteínas y aminoácidos: características y satisfacción de requerimientos con dietas latinoamericanas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 38 (3) : 483 – 497 (1988).
40. Carias D., Cioccia A., Hevia P. Grado de concordancia entre la digestibilidad de proteínas animales y vegetales medidas *in vivo* e *in vitro* y su efecto sobre el cómputo químico. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 45 (2) : 111 – 113 (1995).
41. Osborne D. Voogt P. Análisis de los nutrientes de los alimentos. Ed. Acribia S.A., España pp 126 (1986).
42. Pellet P. Young R. Nutritional evaluation of protein foods. The United University World Hunger Programme. Food and nutrition bulletin. Supplement 4, Japan (1980).
43. Ramos Galván R. Alimentación normal en niños y adolescentes. *El Manual Moderno*, México, pp 123 – 128 (1985).
44. Sánchez-Castillo C., Dewey P., Bourges H., James P. Dietary fibre, what it is and how it is measured. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 44 (2) : 68 – 74 (1994).

45. Fomon J. Nutrición infantil. Editorial Interamericana, segunda edición, México, pp 458 (1976).
46. OMS Código internacional de comercialización de los sucedáneos de la leche materna. Suiza (1981).
47. Fomon J. Reflections on infant feeding in the 1970's and 1980's. *American Journal of Clinical Nutrition* 46:171 – 182 (1987).
48. Kleinman R. Cow milk allergy in infancy and hypoallergenic formulas. *Journal of Pediatrics* 21 : 516 – 521 (1992).
49. Norma del IMSS de fórmula no láctea en polvo. México, Junio (1990).
50. García Garibay M., Quintero Ramírez R., López-Munguía A. Biotecnología alimentaria. Limusa Noriega Editores, México pp 126, 133 (1993).
51. Catricheo R., Sánchez F., Aguayo M., Ballester D., Yáñez E. Desarrollo y evaluación química y nutricional de un alimento infantil a base de lupino dulce, trigo y leche. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 39 (2) : 142 (1989).
52. Hernández M., Sotelo A. Protein quality of masa and tortillas supplemented with chickpea. *Nutritional Reports International*, 36 (1) : 213 – 221 (1987).
53. Cañedo C. El cultivo del maíz, su origen, importancia y usos. Ciclos de seminarios, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, México (1974).
54. Macrae R., Robinson R., Sadler M. *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*. Academic Press. Vol. III, UK, pp 1469 – 1473, 1485 – 1488, 2825 –2831, 3686 – 3692 (1993).
55. Inglett G. Corn: cultur, processing and products. AVI, USA (1980).
56. Gómez M., McDonough C., Rooney L., Waniska R. Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. *Journal of food science*, 54 (2) : 330 – 336 (1989).
57. Fox B., Cameron A. *Ciencia de los alimentos, nutrición y salud*. Ed. Limusa, México, pp 369, 370, 376, 385, 389 (1992).
58. Mossel D. *Microbiología de los alimentos*. Ed. Acribia S.A., España, primera edición, pp 192, 193, 195 (1981).
59. Cheftel J.C. *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Ed. Acribia S.A., España 2: 229, 230 (1989).



60. Hart L., Johnstone H. *Análisis moderno de los alimentos*. Ed. Acribia S.A., España, pp 1 – 29 (1991).
61. Prosky L. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *Journal of the Association of Analytical Chemistry* 68 : 677 – 679 (1985).
62. Prosky L. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *Journal of the Association of Analytical Chemistry*. 71 : 1017 – 1023 (1988).
63. *Manual de laboratorio “Microbiología de Alimentos”, Prácticas de laboratorio*. Depto. de Biología básica y aplicada, Facultad de Química, UNAM, México (1996).
64. Jay J. *Microbiología moderna de los alimentos*. Ed. Acribia S.A., España, segunda edición, pp 300, 301, 309, 331-334 (1989).
65. Pelczar J., Reid R., Chan E. *Microbiología*. Ed. McGraw Hill, España, cuarta edición, pp 248, 254, 255, 271, 527, 528 (1977).
66. Normas del IMSS de leche entera en polvo
  - Cuenta total microbiana 01/M5.709 / Agosto/ 1988. Mesófilos aerobios.
  - Identificación de microorganismos patógenos 01/M5.733 / Agosto / 1988.
67. Diagnostica Merck. Control microbiológico de calidad de productos farmacéuticos y materias primas. E.U.A. Segunda parte pp 59-65 (1970).
68. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*, pp 201 – 211 (1989).
69. NOM – 254 - 1997.
70. Subsecretaría de Salubridad y Asistencia. *Técnicas generales para análisis microbiológico de alimentos S.S.A.*. Dirección General de Laboratorios de Salud Pública, México pp 18, 19, 28, 37 – 40 (1978).
71. Mendenhall W., Wckerly D., Scheaffer R. *Estadística matemática con aplicaciones*. Grupo Editorial Iberoamérica, segunda edición, México. pp 424 – 429 (1994).
72. Pedrero D., Pangborn R.M. *Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos*. Alhambra Mexicana, México, pp 127, 128 (1989).
73. Montgomery D. *Diseño y análisis de experimentos*. Grupo Editorial Iberoamérica, México pp 67 – 69, 556 (1991).

## **FE DE ERRATAS**

En la metodología presentada para la determinación de fibra dietética (p. 46), se omitió por error una de las etapas de la misma. Dicha etapa se lleva a cabo después de la incubación con la proteasa y antes de la adición de etanol al 95 %. La parte de la metodología que falta es la siguiente:

Enfriar las soluciones a temperatura ambiente. Ajustar el pH de las soluciones a 4.0 - 4.6 por medio de la adición de 10 ml de HCl 0.325 M a cada matraz. Revisar el pH y ajustar de ser necesario con NaOH o HCl.

A continuación, añadir 0.3 ml de amiloglucosidasa a cada matraz. Tapar los matraces con papel aluminio y poner en baño a 60°C. Con agitación continua, incubar 30 minutos después de que la temperatura interna alcance 60°C.