



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EVALUACION DEL VALOR NUTRITIVO DE UNA FORMULA PARA LACTANTES A BASE DE POLLO Y PAPA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

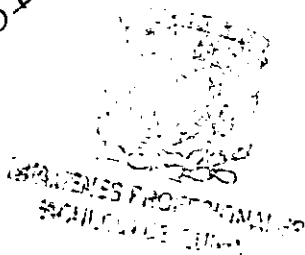
LOURDES PEREZ JIMENEZ



MEXICO, D. F.

2001

289681





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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. Ángela Sotelo López
Vocal	Prof. Bernardo Lucas Florentino
Secretario	Prof. Lucía Gabriela Bascuñan Termini
1er. Suplente	Prof. Lucía Cornejo Barrera
2do. Suplente	Prof. Leticia Gil Vieyra

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 111 del Departamento de Farmacia, Conjunto E, Facultad de Química,  
Ciudad Universitaria.

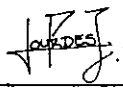
Asesora del tema:



---

M. en C. ~~Angela Sotelo~~ López

Sustentante:



---

Lourdes Pérez Jiménez

## DEDICATORIAS

A mis papás, Alicia y Benjamín que me lo han dado todo y que gracias a su ejemplo y dedicación he podido llevar a cabo todos los logros que hasta el momento he conseguido.

A mis hermanos, Oscar, Benja y César que siempre han estado conmigo apoyándome y brindándome todo su cariño.

Al mejor ser humano que he conocido y que me contagió de su entusiasmo, impulsándome a terminar este trabajo. Por esto y por mucho más, muchas gracias Francisco.

A todos aquellos con los que he convivido momentos inolvidables y que comparten conmigo la alegría de terminar esta etapa de mi vida.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química, que abrieron sus puertas para poder recibir mi formación profesional.

A la M. en C. Angela Sotelo López por su paciencia y apoyo que me brindó durante la realización de este trabajo.

A todos mis profesores por su paciencia y dedicación con la que me transmitieron sus conocimientos.

## AGRADECIMIENTOS

A Iliana, por toda la ayuda que me brindaste desde el inicio y hasta el final de este trabajo. Gracias por inigualable amistad.

A Chayo y Juan Carlos por alegrar hasta los momentos más difíciles de la carrera. Gracias por su valiosa amistad.

A Aida que en todo momento me brindó su ayuda y su más sincera amistad. Gracias por todos tus valiosos consejos, y al tiempo que compartimos.

A Maricarmen, por los momentos que compartimos tanto dentro como fuera de la escuela.

A Lety, por la ayuda y el apoyo y amistad que me brindaste durante la realización de este trabajo.

A Paty, por su gran amistad durante tantos años.

A Erándeni, por todos los años de sincera amistad.

A la señora Vicky que en todo momento estuvo ahí para darme ánimos de seguir adelante. Gracias por hacerme más agradable el tiempo que pasé en el laboratorio.

A todos mis amigos y compañeros, porque de alguna manera siempre llevaré algo de ellos en mí que me ayudará a la realización de nuevas metas.

## INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 General	4
2.2 Particulares	4
3. ANTECEDENTES	5
3.1 Alimentación del niño	5
3.2 Requerimientos nutrimentales del niño	6
3.2.1 Agua	7
3.2.2 Energía	8
3.2.3 Proteínas	10
3.2.4 Carbohidratos	16
3.2.5 Lípidos	17
3.2.6 Macrominerales	18
3.2.7 Oligoelementos	18
3.2.8 Vitaminas	19
3.3 Desnutrición	20
3.4 Leche materna	25
3.4.1 Factores inmunológicos	26
3.4.2 Nutrimientos	27
3.4.3 Factores afectivos	29
3.4.4 Contraindicaciones de la lactancia materna	29
3.5 Intolerancia a la lactosa	30
3.6 Fórmulas para lactantes	32
3.7 Materias Primas	34
3.7.1 Papa	34
3.7.2 Pollo	35
3.7.3 Aceite de maíz	37
3.8 Análisis microbiológico	38
3.8.1 Mesófilos aerobios	38
3.8.2 Coliformes	39
3.8.3 Escherichia coli	40
3.8.4 Salmonella	41
3.8.5 Hongos	42
3.8.6 Levaduras	42

3.9	Conservación por deshidratación	43
3.9.1	Secado por aspersion	45
3.10	Análisis Proximal	48
3.10.1	Humedad	49
3.10.2	Proteína cruda	50
3.10.3	Cenizas	50
3.10.4	Grasa cruda	51
3.10.5	Fibra dietaria	51
3.10.6	Carbohidratos asimilables	53
4.	DESARROLLO EXPERIMENTAL	54
4.1	Materias Primas	54
4.2	Metodología	54
4.2.1	Acondicionamiento de las materias primas	54
4.2.2	Elaboración de las fórmulas	56
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
6.	CONCLUSIONES	75
7.	RECOMENDACIONES	77
Anexo I	Análisis Proximal	78
Anexo II	Determinación de Aminoácidos	91
Anexo III	Contenido Energético y Calificación Química	103
Anexo IV	Análisis Microbiológico	105
Anexo V	Análisis Estadístico	118
Anexo VI	NOM-131-SSA1-1995	122
8.	BIBLIOGRAFÍA	124



## 1. INTRODUCCIÓN

La desnutrición infantil es uno de los principales problemas de salud pública en los países en vías de desarrollo. Se considera que aproximadamente la mitad de la población mundial total ha sobrevivido a un período de desnutrición moderada o avanzada durante la infancia. Los niños desnutridos son más susceptibles a las enfermedades diarreicas debidas a distintos tipos de infección. En México dichas enfermedades tienen una particular importancia epidemiológica ya que ocasionan anualmente cerca de 50,000 decesos en nuestro país, de los cuales tres de cada cuatro casos ocurren en niños menores de cinco años, se estima que éstos niños tienen un promedio de dos a tres ataques por año. (Vega, 1984)

La desnutrición atrofia el aparato digestivo del niño, específicamente a nivel de la mucosa intestinal, impidiendo a ésta la secreción de disacarasas; entre las que se encuentra la  $\alpha$ -galactosidasa, enzima encargada de la hidrólisis de lactosa en glucosa y galactosa.

La lactosa es el azúcar de la leche materna, que es el alimento más adecuado para los niños durante la lactancia. Sin embargo, cuando el niño carece o presenta baja actividad de lactasa se dice que no digiere el azúcar de la leche, trastorno que se conoce con el nombre de intolerancia a la lactosa. Existen dos tipos de intolerancia a la lactosa: la congénita y la adquirida, la primera se presenta cuando se carece de dicha enzima desde el nacimiento; y la segunda se da cuando el niño ha pasado por algún período de desnutrición o por alguna enfermedad gastrointestinal, que haya dañado la mucosa intestinal. Los síntomas de la intolerancia a la lactosa son: flatulencia, diarrea, inflamación y cólico abdominal.

Para el tratamiento de éste trastorno es necesario eliminar la lactosa de la leche y/o de las fórmulas consumidas por el niño. Esto ha llevado a las personas a sustituir la leche materna con otros tipos de fórmulas, hasta ahora las más comunes, para el tratamiento de ésta enfermedad, están elaboradas a partir de proteína de soya o hidrolizados proteínicos de caseína. La soya es una leguminosa que necesita pasar por un proceso de purificación debido a la gran cantidad de tóxicos y de fibras naturales que contiene. Por lo que su proceso tiene un costo muy alto, lo que se ve reflejado en el precio del producto. Además, no es un producto muy accesible en nuestro país dado que la producción nacional de soya es insuficiente. Por otra parte, también se ha vinculado a la proteína de soya con alergias alimentarias, que, al igual que la intolerancia a la lactosa, provocan trastornos digestivos en los niños. (Chandra, 1994) Desde el punto de vista sensorial las fórmulas de soya no han sido bien aceptadas debido al sabor desagradable en concentraciones elevadas.

La difícil situación económica en México ha obligado a la sociedad a desarrollar fórmulas con elevado valor nutritivo empleando materias primas baratas como lo son los alimentos de origen vegetal. Es por ello que se han llevado a cabo diferentes estudios en donde se compara la calidad de algunos cereales y leguminosas con la proteína de soya; encontrándose que fórmulas elaboradas con arroz, amaranto y garbanzo han ayudado, con la misma eficiencia que las fórmulas de soya, en el tratamiento de diarrea aguda. (Sotelo, 1987; Espinosa,1992; Del Valle, 1992) Además de estas fórmulas se han elaborado muchas otras fórmulas específicamente para niños intolerantes a la lactosa; preparadas a partir de maíz, garbanzo, arroz, etc., obteniéndose mezclas de buena calidad nutritiva.

En los hospitales de la Ciudad de México se ha venido utilizando, empíricamente, una fórmula preparada con pechuga cocida, a la cual se agregan los componentes necesarios para tener una composición parecida a la de la leche. (Appendini, 1992)

Una de las proteínas vegetales de mejor calidad nutricional, aunque en baja concentración, es la proteína de la papa. Además, su producción en México sobrepasa el millón de toneladas anuales desde 1990. La papa es una fuente rica de carbohidratos.

Es por ello que en este trabajo se propone utilizar la papa, y el pollo en distintas proporciones para la elaboración de fórmulas en polvo de alto valor nutritivo y de bajo costo que puedan ser utilizadas en niños desnutridos o con intolerancia a la lactosa. Además, al ser dos productos alimenticios que pueden encontrarse en algunos medios rurales, se propone hacer estas mezclas a nivel casero.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 GENERAL

Desarrollar y elaborar fórmulas a base de pollo y papa, mezclando y cambiando la proporción de los mismos en cada una de ellas, con el fin de obtener fórmulas que puedan ser administradas a niños con intolerancia a la lactosa y/o con problemas graves de desnutrición.

### 2.2 PARTICULARES

- Evaluar la composición química de las materias primas.
- Seleccionar las materias primas adecuadas para el desarrollo de las fórmulas.
- A partir de estos datos desarrollar las fórmulas variando la proporción del pollo y de la papa, dándoles una presentación final igual que a los productos en polvo existentes en el mercado.
- Hacer el análisis químico y nutricional de las fórmulas elaboradas.
- Evaluar la calidad microbiológica de las fórmulas.
- Comparar los resultados obtenidos para las fórmulas con una fórmula comercial.
- Calcular el costo de las fórmulas y compararlo con el costo de la fórmula comercial.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 ALIMENTACIÓN DEL NIÑO

A través de los tiempos la alimentación ha ido evolucionando y adaptándose a cada época, lugar y a las necesidades de cada sociedad. Por ello, los alimentos que consumimos son tan variados como variado es el medio ambiente físico, social y cultural en que vivimos, por tanto el número de posibles alimentos y sus combinaciones es enorme. (Morales, 1981)

En nuestra cultura, generalmente, la madre es la encargada de la alimentación del niño lactante y preescolar, por tanto es ella quien tiene que decidir qué va a comer el pequeño; cómo, cuándo y dónde lo hará. (Bascañan, 1998) Y para ello, es importante que tome en cuenta que la alimentación del niño debe cumplir con ciertas reglas y características como son:

**Cantidad:** Debe ser suficiente para satisfacer las exigencias energéticas y nutricionales del organismo según la edad y el estado de salud. En el caso de los lactantes la cantidad de alimento es regulada por el niño a partir de la sensación de hambre, es por ello, que deben ser alimentados según su libre demanda.

**Calidad:** Se refiere a que los alimentos deben tener un alto valor biológico y proporcionar todos los nutrientes necesarios para un adecuado crecimiento y desarrollo del organismo.

**Armonía:** Además, de contener todos los nutrientes, las cantidades de dichos nutrientes deben guardar una relación proporcional entre sí, ya que muchas veces un nutriente necesita de otro para poder ser utilizado o absorbido por el organismo.

**Adecuación:** Consiste en que la alimentación tiene que adaptarse al organismo al que se le proporciona; es decir, en el caso de los lactantes en los que su sistema digestivo no está del todo desarrollado, hay que proporcionar alimentos que sean de fácil digestión y absorción.

**Inocuidad:** Alimentos de buena calidad sanitaria, que estén libres de agentes contaminantes para evitar posibles infecciones en el niño.

**Sensorialmente agradable:** Para evitar algún rechazo por parte del niño.

**Accesibilidad:** El costo debe ser accesible para cualquier nivel socio económico.

### 3.2 REQUERIMIENTOS NUTRIMENTALES DEL NIÑO

Antes de empezar a hablar de requerimientos cabe destacar la diferencia que existe entre un requerimiento y una recomendación. Los requerimientos se definen como “las cantidades que un individuo precisa –entre otros factores- de un nutriente determinado para asegurar un buen funcionamiento orgánico y la necesaria actividad física y mental de acuerdo a sus características particulares”; mientras que, las recomendaciones se refieren a “niveles de ingestión (cantidades) de algunos nutrientes esenciales que, a juicio de los expertos y en base a los conocimientos científicos de que se dispone, se consideran adecuados para cubrir las necesidades nutritivas conocidas prácticamente de todas las personas sanas del grupo”. Los requerimientos son muy variables de un individuo a otro, ya que dependen de características tales como la edad, el sexo, el tamaño corporal, la actividad y el estado de salud del individuo, los factores climáticos y la composición de la dieta entre otros. (Badui,1994)

A continuación se contemplan las necesidades de los recién nacidos y niños en edad preescolar, en lo que se refiere a la ingesta de agua, carbohidratos, proteínas, grasas y ácidos grasos esenciales, macromoléculas, oligoelementos y vitaminas.

### 3.2.1 Agua

Las principales funciones biológicas del agua estriban fundamentalmente en su capacidad para transportar diferentes sustancias a través del cuerpo, ayuda a regular la temperatura corporal e interviene en la regulación de los procesos metabólicos del organismo. El equilibrio hídrico después del nacimiento presenta grandes variaciones, de tal modo que, los recién nacidos y lactantes menores de cuatro meses requieren proporcionalmente más agua que los niños mayores; esto se debe a: mayor área de superficie por unidad de peso corporal, porcentaje elevado de agua corporal y mayor velocidad de recambio, capacidad limitada de los riñones para manejar la carga de solutos de la ingesta de proteínas para crecimiento, y a la mayor susceptibilidad a la deshidratación severa. En el Cuadro 1 se muestran las necesidades de agua para lactantes y preescolares en ml/kcal/día:

Cuadro 1.

Necesidades de agua de lactantes y niños

Edad	Necesidad de agua (ml/kcal/día)
10 días	125-150
3 meses	140-160
6 meses	130-155
1 año	120-135
2 años	115-125
6 años	90-100

Fuente: Krause, 1995.

Los requerimientos de agua en lactantes en ml/día van de 300-840 y para niños de 840-1500, dichos requerimientos se calcularon tomando en cuenta las pérdidas en orina, heces y otras imperceptibles.

### 3.2.2 Energía

Las necesidades calóricas del recién nacido se dividen en gasto, excreción y depósito (Cuadro 2). El gasto energético está representado por la tasa metabólica de reposo, la actividad, termorregulación y síntesis tisular. La energía utilizada para la termorregulación en los lactantes se puede minimizar manteniendo un ambiente térmico neutro. En la mayoría de los recién nacidos la actividad no es un factor importante, sin embargo, a medida que va creciendo el niño aumentan sus necesidades calóricas diarias porque su actividad aumenta. Una vez satisfechas las necesidades energéticas para el metabolismo de mantenimiento, termorregulación y actividad, la energía restante se puede usar para la síntesis tisular y el depósito de energía.

Parte de la variación de los requerimientos energéticos obedece a las diferencias en la composición del crecimiento. La síntesis de tejido graso tiene un costo más alto que la del músculo o la masa corporal magra, que está compuesta fundamentalmente por proteínas y agua.

Los recién nacidos suelen requerir de 100 a 120 kcal/kg/día durante los dos primeros meses de vida para un crecimiento adecuado, después los requerimientos energéticos van disminuyendo, de tal manera que de los 2 a los 6 meses requieren 105 kcal/kg/día, de los 6 a los 12 meses 100 kcal/kg/día y a los 18 meses 90 kcal/kg/día. (Cervera, 1993)



Cuadro 2.  
 Requerimientos energéticos de los recién  
 nacidos alimentados por vía enteral

	Kcal/kg/día
Ingesta total	100-120
Gasto	
tasa metabólica en reposo	45-60
actividad	4-10
termorregulación	5-10
síntesis tisular	10-35
Excreción	7-30
Depósito de energía	20-70

Fuente: Reichman y col., 1982; Schulze y col., 1987

En el Cuadro 3 se presentan las raciones dietéticas recomendadas de energía para niños en edad preescolar:

Cuadro 3.  
 Raciones dietéticas recomendadas de energía para niños

Edad (años)	Kcal		
	Diarias	Por kg	Por cm
1-3	1300	102	14.4
4-6	1800	70	15.2

Fuente: Krause, 1995.

### 3.2.3 Proteínas

La función fundamental de las proteínas en la dieta es la de proporcionar nitrógeno aminoacídico para la síntesis de proteínas y otras sustancias nitrogenadas que intervienen en la composición corporal. Sin embargo cuando no existe un aporte calórico adecuado en el organismo, las proteínas pueden aportar 4 kcal por gramo.

La adecuada ingesta proteínica de buena calidad es esencial para el crecimiento y el desarrollo del niño. Las necesidades de proteínas durante el crecimiento rápido de la infancia son mayores por kilogramo que las de los adultos o de niños mayores. Se debe aportar un 10-15% de las calorías nutricionales como proteínas. Las raciones diarias recomendadas de proteínas en términos de g/kg de peso corporal de niños desde el nacimiento hasta los tres años de edad se presentan a continuación (Cuadro 4).

Cuadro 4.

Raciones diarias recomendadas para niños,  
desde el nacimiento hasta los 6 años

Edad (años)	Proteínas (g/kg/día)
0-0.5	2.2
0.5-1.0	1.6
1-3	1.2
3-6	1.1

Fuente: Krause, 1995.

Las ingestiones aconsejables en g/kcal son de 1.9 g/100 kcal para lactantes de 0 a 4 meses de edad, 1.7 g/100 kcal en los de 4 a 12 meses, y 1.4 g/100 kcal para los de 12 a 36 meses de edad. (Fomon, 1976)

## DIGESTIÓN

Los niños de 0 a 6 meses presentan una inmadurez digestiva ya que su pared intestinal es excesivamente permeable, por lo que las moléculas proteínicas grandes pueden pasar al torrente circulatorio. Estas moléculas son capaces de dar origen a reacciones alérgicas a determinados alimentos, siendo las más frecuentes las que se presentan con la leche de vaca, la yema de huevo y la proteína de soya. Esta permeabilidad exagerada persiste aproximadamente hasta los seis meses de edad. Después de este tiempo los niños sanos pueden asimilar, sin problema alguno, cualquier proteína sin importar su origen. (Langer, 1983)

Por lo anterior es necesario que las proteínas proporcionadas a los lactantes sean de fácil digestión e hipoalérgicas, es decir, que no causen ningún tipo de reacción alérgica.

Las proteínas de los alimentos están constituidas por 20 aminoácidos repetidos distribuidos de manera secuencial. Los aminoácidos en el organismo se utilizan para la síntesis de nuevas proteínas requeridas para el crecimiento, mantenimiento y reparación de las células del cuerpo. Dentro de estos aminoácidos hay ocho que se les denomina indispensables, ya que no pueden ser sintetizados por el organismo y por tanto deben estar presentes en la dieta. Los aminoácidos indispensables en adultos son: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina; en los lactantes, además de los mencionados, la histidina, la taurina y la cisteína, son aminoácidos indispensables, ya que los niños aún no tienen la capacidad de sintetizarlos a partir de precursores endógenos. Cuando la cantidad de uno o más de estos aminoácidos es baja en una proteína, se dice que la proteína es de baja calidad. (Morales, 1981)

## CALIDAD DE LAS PROTEÍNAS

La calidad, el valor o el balance 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, es decir, la capacidad de una proteína de la dieta para dar lugar a proteína corporal. Una proteína de buena calidad, contiene los aminoácidos esenciales en proporciones adecuadas, en otras palabras, proporciones que se aproximan a las que establecen las tablas de las necesidades humanas.

Las proteínas animales suelen ser de calidad superior a las de origen vegetal; esto se da, porque las proteínas vegetales suelen ser deficientes en uno o varios aminoácidos indispensables. Para que una proteína sea de buena calidad debe existir el balance adecuado entre los aminoácidos indispensables de la misma, ya que un exceso o deficiencia de alguno de ellos disminuye su calidad. (Fennema, 1993)

## SUPLEMENTACIÓN

Cuando se combinan dos alimentos puede haber una complementación (o suplementación) de los aminoácidos de ambas proteínas, de manera tal, que una cubre las deficiencias de la otra y viceversa. De este modo, la calidad de la proteína resultante es de mejor calidad que las de cada proteína por separado. La suplementación excesiva puede conducir al “antagonismo aminoacídico” e incluso producir efectos tóxicos. El antagonismo da como resultado un incremento de las necesidades de algunos aminoácidos, por haber aumentado el nivel de otros en la dieta. (Osborne, 1986)

## DISPONIBILIDAD DE LOS AMINOÁCIDOS

Además, de la calidad de las proteínas es importante considerar la disponibilidad de los aminoácidos de las proteínas. Los aminoácidos de las proteínas presentes en la dieta no son siempre enteramente disponibles, dado que la digestión de la proteína o la absorción de los aminoácidos, pueden resultar incompletas. Los aminoácidos de las proteínas animales suelen ser digeridos y absorbidos en una extensión del 90%, en tanto que las proteínas vegetales pueden ser digeridas y absorbidas en un 60-70%. La baja utilización de ciertas proteínas puede ser debida a varios factores:

- a) Conformación de las proteínas: las proteínas fibrosas e insolubles son menos sensibles a las proteasas que las globulinas solubles. Sin embargo, la desnaturalización proteínica por un calentamiento moderado suele facilitar su digestión.
- b) Fijación de metales, lípidos, ácidos nucleicos, celulosa u otros polisacáridos a las proteínas, lo que puede dificultar su digestión.
- c) Presencia de factores antinutricionales, tales como inhibidores de tripsina, que dificultan la digestión de las proteínas; y otros inhibidores perjudican la absorción de aminoácidos.
- d) El tamaño y el área superficial de las partículas proteínicas ingeridas.
- e) El procesado a elevadas temperaturas, a pH's alcalinos, o en presencia de carbohidratos reductores, suele disminuir la digestibilidad proteínica y la disponibilidad biológica de varios aminoácidos, especialmente la lisina.

## DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD DE UNA PROTEÍNA

La determinación de la calidad de una proteína resulta útil: para decidir la cantidad de una proteína, o de una mezcla de proteínas dietéticas, que se requiere para satisfacer las necesidades de aminoácidos durante el crecimiento o el mantenimiento; para establecer una escala de las proteínas en función de su valor nutritivo potencial y para la detección de los cambios nutritivos que las proteínas de los alimentos pueden sufrir durante el procesado y el almacenamiento.

Para efectuar esta evaluación pueden utilizarse métodos biológicos, químicos y microbiológicos.

Los métodos biológicos se basan en la determinación del crecimiento o la retención de nitrógeno en animales experimentales como la rata, o en seres humanos, en función del consumo de proteína. Los métodos son los siguientes:

1. Coeficiente de eficiencia proteínica (PER) es el peso en gramos ganado por las ratas por cada gramo de proteína consumido. Es un valor de fácil determinación, por lo que constituye el método más comúnmente utilizado.
2. Coeficiente proteico neto (NPR) es el valor obtenido al introducir en el cálculo las pérdidas de peso experimentadas por un grupo de ratas sometidas a una dieta carente de proteínas, de esta manera se valora la aptitud de las proteínas para soportar, no solo el crecimiento, sino también el mantenimiento.

Los bioensayos, por otra parte, no identifican el aminoácido limitante de la proteína o dieta sometida a estudio, a menos que se lleven a cabo varios experimentos adicionales, en presencia de aminoácidos libres añadidos. Además, los ensayos biológicos son caros, exigen mucho tiempo y, al extrapolar los resultados obtenidos en los animales experimentales, resultan poco seguros.

Los métodos enzimáticos utilizados para valorar la calidad de una proteína están basados en la determinación de los aminoácidos esenciales liberados de la proteína ensayada, cuando se expone a la acción de una o más proteasas, en condiciones estándar. Estos métodos estiman la digestibilidad de la proteína, el valor proteínico y/o la biodisponibilidad de aminoácidos específicos. Sin embargo estos métodos deben realizarse con personal muy calificado y tienen baja reproductibilidad.

En la mayor parte de los métodos químicos se estima el valor nutritivo de una proteína basándose en su contenido en aminoácidos esenciales y en la comparación del mismo con las necesidades del hombre. La calificación química es la proporción en que se encuentra un aminoácido indispensable limitante con respecto al patrón de referencia (aminoácido indispensable limitante es aquél más escaso con respecto a dicho patrón). El patrón de aminoácidos utilizado en este trabajo es el de la FAO (1985) para niños lactantes y preescolares. (FAO, 1985)

Algunos de los inconvenientes que tiene el método químico es que no establece las compensaciones para las diferencias en la digestibilidad de las proteínas o en la biodisponibilidad de aminoácidos específicos, es por ello que puede llegar a sobreestimar la calidad de la proteína. Sin embargo, algunos experimentos biológicos recientes, llevados a cabo sobre niños en crecimiento, han demostrado que las puntuaciones químicas (basadas en el patrón de la FAO) permiten predecir correctamente la cantidad de una proteína necesaria para satisfacer las necesidades de aminoácidos esenciales para el crecimiento. (Fennema, 1993)

### 3.2.4 Carbohidratos

El papel fundamental de los carbohidratos es aportar energía, 4 kcal por gramo. El niño debe recibir del 50 al 60% de la energía en forma de carbohidratos. *In utero*, el feto recibe un aporte continuo de glucosa a través de la placenta, cuyo flujo se interrumpe en el momento del nacimiento y el recién nacido depende de la gluconeogénesis hasta que se alimenta de su madre. Debido a que sus depósitos de glucógeno son limitados y se agotan rápidamente es necesario administrar carbohidratos para poder satisfacer sus necesidades energéticas.

### DIGESTIÓN

El niño recién nacido sano tiene la capacidad de hidrolizar los carbohidratos de la leche materna, ya que las enzimas encargadas de ello como la maltasa, isomaltasa, sacarasa y lactasa, se terminan de desarrollar al octavo mes de gestación. La amilasa pancreática, que digiere el almidón, continúa baja durante los seis primeros meses de vida. Si se suministra almidón antes de esta época, suele compensarse por un aumento de la actividad de la amilasa salival y de la digestión del colón. A partir del sexto mes de nacidos los niños ya cuentan con todas las enzimas para digerir todos los carbohidratos. Por lo anterior, es recomendable proporcionar al niño carbohidratos de bajo peso molecular como los monosacáridos, disacáridos (lactosa), y oligosacáridos, como las maltodextrinas que han sido utilizadas como carbohidratos en las fórmulas no lácteas como las de soya. Las maltodextrinas son polímeros de glucosa que pueden ser bien digeridas por el lactante y con la ventaja de que no aumentan la osmolaridad del alimento, ya que cuando ésta es alta se pueden ocasionar problemas de diarrea. (Ronayne, 1995)



### 3.2.5 Lípidos

Los lípidos suministran la mayor proporción de la energía que requieren los niños, aportando 9 kcal por gramo. Los infantes deben recibir entre el 25% y el 35% de la energía en forma de grasas. Los lípidos además de ser el principal sustrato energético también forman parte estructural de determinados tejidos así como de las membranas celulares.

El perfil de ácidos grasos es importante para su absorción, porque los ácidos grasos de cadena larga requieren la formación de micelas para una absorción eficiente y los triglicéridos de cadena mediana se absorben sin necesidad de formación de micelas. La absorción también varía dependiendo del grado de saturación, esto es, los ácidos grasos insaturados se absorben mejor que los saturados.

Casi todos ácidos grasos son sintetizados por el organismo excepto el linoleico, el linolénico y el araquidónico. Las necesidades de estos tres ácidos se cubren cuando aportan del 2 al 4% de la energía total diaria. Los ácidos grasos indispensables son precursores de otros ácidos grasos dispensables. (Badui, 1994)

### DIGESTIÓN

La absorción de lípidos es deficiente durante los primeros meses de vida. Las grasas contenidas en la leche materna son las que se absorben en una mayor proporción, si bien tampoco en forma óptima. Aparentemente las enzimas responsables de la digestión de las grasas tienen, en el recién nacido, una actividad semejante a la que existe en etapas posteriores de la vida. Sin embargo, las otras sustancias digestivas indispensables para la digestión y absorción de los lípidos, las sales biliares, no se sintetizan en cantidad suficiente y en forma madura antes de los seis meses de edad. Por lo tanto, no es conveniente incluir en

la dieta alimentos no lácteos que contengan lípidos de difícil absorción para el niño pequeño.

### 3.2.6 Macrominerales

Los recién nacidos requieren entre 1 y 3mEq/kg/día de sodio y potasio, pero su concentración puede aumentar con la administración de diuréticos o pérdidas gastrointestinales excesivas. Es importante conocer la cantidad de estos minerales ya que el riñón del recién nacido es funcionalmente inmaduro y su capacidad de concentración se limita a tan poco como 700 mEq/L, la mitad de la de un adulto.

La ingesta adecuada de calcio y fósforo es esencial para la mineralización ósea; una deficiencia nutricional de estos macrominerales pocas veces constituye un problema en los recién nacidos que consumen leche humana o fórmulas estándares para lactantes.

Los lactantes tienen depósitos adecuados de hierro para aumentar hasta el doble de su peso al nacer. Ello ocurre aproximadamente a los cuatro meses de edad. Las raciones recomendadas de hierro aumentan de 6 mg/día en los seis primeros meses a 10 mg/día hasta los tres años de edad.

### 3.2.7 Oligoelementos

La deficiencia de oligoelementos es muy difícil que se presente en los recién nacidos, ya que durante la gestación se forman depósitos de éstos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la deficiencia de estos compuestos provoca alteraciones y retraso en el crecimiento, y por ello, son necesarias cantidades vestigio de selenio, cobalto, molibdeno y cromo. Los niños alimentados por vía enteral con leche humana o fórmula para lactantes no presentan deficiencias clínicas de estos oligoelementos.

### 3.2.8 Vitaminas

Las vitaminas son sustancias de muy variada riboflavina química y de gran importancia para el organismo pues su carencia produce diferentes riboflavina y malestares. Son nutrimentos indispensables pues el organismo no las sintetiza en cantidad suficiente. Los requerimientos de vitaminas del recién nacido no están bien definidos. Se ha fijado un aporte diario recomendado para la mayoría de las vitaminas (Cuadro 5). La deficiencia de vitaminas es muy rara durante la lactancia.

Cuadro 5.

#### Aportes dietéticos diarios recomendados para lactantes

NUTRIMENTOS	0-0.5 AÑOS	0.5-1 AÑOS	1-3 AÑOS	4-6 AÑOS
Vitamina A ( $\mu\text{g}$ ER) <sup>1</sup>	375	400	400	450
Vitamina D ( $\mu\text{g}$ )	5	5	5	5
Vitamina E (mg $\alpha$ -TE) <sup>2</sup>	2.7	2.7	5	5
Vitamina C (mg)	25	30	30	30
Vitamina K ( $\mu\text{g}$ )	5	10	15	20
Tiamina (mg)	0.2	0.3	0.5	0.6
Riboflavina (mg)	0.3	0.4	0.5	0.6
Niacina (mg EN) <sup>3</sup>	2	4	6	8
B <sub>6</sub> (mg)	0.1	0.3	0.5	0.6
Folato ( $\mu\text{g}$ )	80	80	160	200
B <sub>12</sub> ( $\mu\text{g}$ )	0.4	0.5	0.9	1.2
Calcio (mg)	400	400	500	600
Magnesio (mg)	36	53	60	73
Hierro (mg)	6	8	5	5
Zinc (mg)	2.8	4.1	4.1	5.1
Yodo ( $\mu\text{g}$ )	90	135	75	110
Selenio ( $\mu\text{g}$ )	6	10	17	21

1 ER equivalentes de retinol.

2 TE Equivalentes de alfa-tocoferol.

3 EN Equivalentes de niacina

Fuente: WHO, 1983.

### 3.3 DESNUTRICIÓN

La desnutrición infantil se presenta cuando el niño no recibe su alimentación en cantidades suficientes de uno o más nutrimentos o cuando existen obstáculos para que los aproveche correctamente, por lo cual todas las células del organismo corren peligro de muerte inmediata. Para evitarlo, se pone en juego una serie de mecanismos, como son:

- a) La reducción de la mayoría de las funciones, lo que permite disminuir las necesidades de nutrimentos.
- b) La utilización de las reservas de nutrimentos en los casos en que éstas existan.
- c) El consumo de algunos de los tejidos del organismo para así nutrir a otros tejidos.

Estos mecanismos permiten la supervivencia inmediata del organismo, pero no pueden operar indefinidamente, ya que llega un momento en el que las reservas se agotan o que el consumo de tejidos propios o la reducción de funciones son incompatibles con la vida. En su operación, los mecanismos siguen un principio general: mantener, de la mejor manera posible, los tejidos y funciones más importantes para la vida, aun a costa del deterioro de aquellos que no son estrictamente indispensables para tal propósito.

### CLASIFICACIÓN

#### 1. Etiológica o según su origen:

- a) Desnutrición primaria es la que ocurre por una ingestión insuficiente de nutrimentos (no debida a enfermedad), es decir, sus causas son de orden económico, social y cultural.
- b) Desnutrición secundaria es aquella en la que el aporte de nutrimentos es adecuado, pero el efecto de alguna enfermedad interfiere con la ingestión,

digestión o metabolismo de los nutrimentos. Puede ser causada por la mayoría de las enfermedades, aunque destacan los padecimientos metabólicos y los del aparato digestivo y suelen tener mayor efecto las enfermedades crónicas que las agudas. (Bourges, 1981)

c) Desnutrición mixta se presenta cuando se combinan las dos anteriores, es decir, la ingestión insuficiente de alimentos provoca trastornos biológicos los cuales, a su vez, impiden la utilización de la poca cantidad de alimentos que se consumen, creando un círculo vicioso que conlleva una desnutrición aguda o crónica, dependiendo del tiempo que persistan estas condiciones. Además, en este trastorno, el gasto calórico puede aumentar, lo cual exacerba el problema nutrimental.

## 2. Según el tiempo de evolución:

- a) Desnutrición aguda, de aparición y evolución rápidas; si se trata de manera oportuna, se tiene un buen pronóstico. Se origina por una supresión brusca de alimentos y, por lo general, no evoluciona más allá de una desnutrición de primer grado. Se presenta, por ejemplo en pacientes después de una intervención quirúrgica con una supervisión médica y nutrimental inadecuadas.
- b) Desnutrición subaguda, se presenta a lo largo de un periodo más prolongado que la anterior, aunque los daños son reversibles en su mayoría, requiere de acciones más prolongadas para su tratamiento y recuperación. Evoluciona a una desnutrición de primer o segundo grados y, en raras ocasiones puede llegar a tercer grado. Se llega a observar, por ejemplo, en lactantes cuando el destete es inadecuado.

### 3. Según el peso teórico ideal:

- a) Desnutrición de primer grado, ocurre cuando el déficit de peso ideal está comprendido entre 10 y 25% de lo que la norma establece para la edad. Presenta una reducción en la actividad física y mental del individuo. Puede ser reversible si se mejora la alimentación.
- b) Desnutrición de segundo grado, cuando el déficit es de 26 a 40%. Puede producirse una disminución importante de la actividad física y mental, además de alteraciones bioquímicas y morfológicas en los tejidos. La mayoría de sus manifestaciones son reversibles cuando mejora el estado de nutrición del individuo. En este tipo de desnutrición, se llegan a manifestar diferentes carencias vitamínicas. (Zubirán, 1990)
- c) Desnutrición de tercer grado, cuando hay una pérdida mayor a 40% del peso corporal. Además de las manifestaciones de los dos grados anteriores, aumentan las alteraciones funcionales y morfológicas, por lo que se presentan signos con mayor frecuencia e intensidad y, en las más variadas combinaciones clínicas, la mayor parte de esos trastornos son irreversibles. A este tipo de desnutrición también se le conoce con el término de desnutrición calórico-proteínica.

### 4. Desnutrición clínica:

Dentro de esta clasificación se encuentran dos clases de desnutrición calórico-proteínica:

- a) Marasmo, se le llama así a la desnutrición de tercer grado, en la cual están afectados el peso y la talla de manera importante. Esta deficiencia somática se caracteriza por severa desnutrición, sin edema y sin que existan manifestaciones importantes en piel y mucosas. Por lo general, la

desnutrición se debe a la deficiencia de todos o casi todos los nutrimentos, es decir, a una grave deficiencia calórico-proteínica.

El marasmo afecta, principalmente, a menores de un año, a los cuales se les ha retirado de la lactancia materna y no están recibiendo los nutrimentos en la cantidad adecuada; provocando retraso en el crecimiento, así como pérdida de masa muscular y grasa subcutánea. El peso se encuentra más afectado que las medidas esqueléticas, como altura y circunferencia de cabeza y tórax. Es común la presencia de gastroenteritis por lo que se puede presentar deshidratación, ésta última es una de las causas de muerte en estos niños. La atrofia muscular de los individuos que sufren este tipo de desnutrición ocasiona que presenten aspecto senil.

b) Kwashiorkor, en este trastorno los nutrimentos involucrados en el estado carencial son, de manera fundamental, las proteínas. El kwashiorkor es la alteración nutricional en la que predominan deficiencias somáticas con marcados edemas y alteraciones en piel y mucosas. Dentro de sus características constantes se presentan: retardo en el crecimiento, disminución de masa muscular y conservación de grasa subcutánea. La anemia es frecuente y las lesiones dermatológicas que se presentan con el kwashiorkor son más frecuentes en individuos con piel oscura; la despigmentación de la piel es el cambio más característico. Las manifestaciones en el cabello son: despigmentación, adelgazamiento e implantación débil. (Esquivel, 1998)

Por lo general, el kwashiorkor se presenta cuando los niños han sido amamantados durante periodos largos, pero cuando se interrumpe la lactancia, reciben una dieta suficiente en carbohidratos, pero insuficiente

en proteínas. Este tipo de desnutrición se presenta en niños de 1 a 5 años (edad preescolar).

El cuadro 6 esquematiza las diferencias entre marasmo y kwashiorkor:

Cuadro 6.  
Comparación entre marasmo y kwashiorkor

CARACTERÍSTICAS	MARASMO	KWASHIORKOR
Distribución	Universal	Limitada
Pérdida de peso	Más de 40%	Aparentemente menos de 40%
Edad más frecuente	Infancia, menores de 1 año	Preescolares
Edema	Ausente	Presente
Dermatosis (alteraciones en piel y mucosas)	Rara	Frecuente
Cambios en el cabello	Frecuente	Muy frecuente
Alteraciones mentales	Poco común (apatía)	Muy común (irritabilidad)

Fuente: Esquivel, 1998.

Como consecuencias de la desnutrición hay una desaceleración del crecimiento y desarrollo del niño, lo que determina una menor estatura y masa corporal; los mecanismos de defensa contra los microorganismos se afectan, elevando el riesgo de contraer infecciones; el aparato digestivo no funciona correctamente, secreta cantidades insuficientes de las enzimas digestivas y la mucosa intestinal se atrofia, por lo que absorbe menos. Debido a esto, las diarreas se agravan en el niño al ingerir fórmulas lácteas. Es por ello que para lograr una mejora evidente en el estado de nutrición del niño por medio de la regeneración de la mucosa intestinal



y del tejido pancreático, se debe alimentar al niño con sustitutos de leche o atoles que no contengan lactosa. (Sigurd, 1984; Vega, 1984)

### 3.4 LECHE MATERNA

La leche humana cubre todos los requerimientos nutricionales del recién nacido, sus componentes derivan de los tejidos de reserva maternos y de su dieta durante la lactancia; por lo tanto, es el alimento idóneo para el recién nacido en calidad y cantidad, siempre y cuando la madre se encuentre bien nutrida. Su composición (Cuadro 7) cambia de acuerdo con cada etapa de la lactancia. (Casanueva, et al., 1995)

Cuadro 7  
Composición de la leche materna (por 100ml)

COMPONENTE	LECHE MATERNA
kcal	68
mOsm/kg H <sub>2</sub> O	300
Proteínas (g)	0.9
Seroalbúmina: caseína (%)	60:40
Hidratos de carbono (g)	6.8-7.2
Fuente	Lactosa
Lípidos (g)	3-5
Sodio (mEq)	0.8
Potasio (mEq)	1.4
Calcio (mg)	30
Fósforo (mg)	15
Vitamina A (UI)	190
Vitamina D (UI)	2
Vitamina E (UI)	0.18

Fuente: Taeush, 1993.

### 3.4.1 Factores Inmunológicos

En los primeros cinco días después del parto, la secreción láctea (denominada calostro) se caracteriza por tener mayor cantidad de proteínas y menor contenido de lípidos y lactosa que la leche secretada después del primer mes (que es considerada madura). Una buena parte de las proteínas del calostro tiene como función proteger al niño de la eventual agresión de agentes infecciosos. Algunos de estos compuestos químicos que se encuentran presentes en grandes concentraciones en el calostro son las inmunoglobulinas, la lactoferrina, la lisozima, la lactoperoxidasa y el factor de crecimiento *Lactobacillus bifidus*. Las inmunoglobulinas se encuentran en la luz intestinal para unirse a antígenos y agentes infecciosos, ayudando así a la prevención de gastroenteritis bacteriana y viral. La proteína de unión de hierro, la lactoferrina, priva del hierro a las bacterias y en consecuencia retrasa su crecimiento. Las lisozimas, destruyen las membranas celulares de las bacterias después de haber sido inactivadas por peróxidos y ácido ascórbico. El factor de crecimiento *L. bifidus* produce un ambiente gastrointestinal ácido que interfiere con el crecimiento de ciertos microorganismos patógenos. Cabe mencionar que estos compuestos también están presentes en la leche madura, aunque en menor concentración; y debido a estos factores, la frecuencia de infecciones es menor en niños con lactancia materna que en los que se alimentan con biberón. Además es importante señalar que la leche materna en condiciones normales está libre bacterias contaminantes, por lo cual, en sí misma, nunca es vehículo de infección. (Taeusch, 1993; Krause, 1995)

### 3.4.2 Nutrimientos

#### PROTEÍNAS

Las proteínas de la leche materna se clasifican en caseína y proteínas del suero. Las caseínas de la leche son la  $\beta$ -caseína y  $\kappa$ -caseína, y la proteína del suero es la  $\alpha$ -lactoalbúmina. Estas se encuentran en una proporción de 2/3 de seroalbúmina y 1/3 de caseína. Además de las proteínas, la leche contiene compuestos nitrogenados no proteicos, como son aminoácidos libres, péptidos, urea, factores de crecimiento, N-acetilazúcares y nucleótidos que intervienen en la respuesta inmunológica ya mencionada. Dentro de los aminoácidos libres de la leche se encuentra la taurina que interviene en la conjugación de los ácidos biliares y las funciones retiniana y del sistema nervioso central. La concentración en que se encuentra es de 40 mg/L. En los niños recién nacidos éste y otros aminoácidos, como la cisteína y la histidina, son esenciales ya que todavía no tienen la capacidad de sintetizarlos a partir de precursores endógenos.

#### LÍPIDOS

Los lípidos en la leche humana constituyen la mayor fuente energética de la misma. La concentración de los lípidos en la leche está asociada al tipo de lípidos ingeridos por la madre y con la conformación de lípidos de sus reservas en el tejido adiposo. El ácido graso predominante es el ácido oleico monoinsaturado. El ácido linoleico, ácido graso esencial, proporciona el 4% de las calorías de la leche.

#### CARBOHIDRATOS

El principal carbohidrato de la leche materna es la lactosa, su concentración, a diferencia de los lípidos, no varía a pesar de las modificaciones dietéticas y de las

condiciones nutricias de la madre. Existen otros oligosacáridos cuya función está asociada a mecanismos de defensa del niño contra las infecciones.

## VITAMINAS Y MINERALES

En la leche humana existen vitaminas tanto hidrosolubles como liposolubles que se transfieren directamente de la dieta y de las reservas de la madre. La vitamina A (retinol), D (ergocalciferol, B<sub>6</sub> (piridoxina) y B<sub>12</sub> (hidroxicobalamina) tienen una dependencia especial de la dieta de la madre, por lo tanto su ausencia en la dieta o reserva materna pone en riesgo al lactante de presentar deficiencia.

En cuanto a los nutrimentos inorgánicos, algunos como el calcio, fósforo y magnesio, desarrollan una transferencia estrictamente regulada de la sangre a la leche y no se espera que a mayor ingesta de estos minerales se traduzca en mayores concentraciones en la leche. En cambio, algunos electrolitos como el sodio, potasio y cloro no tienen esta regulación estricta si no que son secretados en la glándula mamaria y alcanzan una concentración en la leche de 7, 15 y 12 mEq/L, respectivamente. La concentración de hierro en la leche (0.5mg/L) es bastante constante y se comporta en forma independiente de la reserva materna; de dicha cantidad el niño absorbe aproximadamente el 50%. El zinc y el cobre tienen concentraciones altas en el calostro y declinan sin relación con las reservas maternas.

Por lo anterior, se observa que los nutrimentos de la leche humana además de estar en la concentración adecuada, tienen una mayor biodisponibilidad que los que pueden aportar cualquier otro tipo de alimento. Dichos nutrimentos cubren los requerimientos de los niños durante los primeros 4 a 6 meses de vida, sin embargo dentro de este lapso es necesario empezar complementar la alimentación materna con otros alimentos.

### 3.4.3 Factores Afectivos

Por último es importante mencionar que desde del punto de vista psicológico, el amamantamiento es una experiencia compartida exclusivamente entre la madre y el niño, se proveen mutuamente de contacto físico y visual, de calor y olor. Una relación esencial como ésta afecta profundamente los sentimientos de ambos y la relación entre ellos se establece sólidamente. Sin embargo, no es ésta la única vía para transmitir el afecto, este puede ser percibido a través del cuidado, el estímulo, el contacto físico, visual y auditivo; por lo que, la alimentación con biberón no impide el desarrollo de una relación sana entre madre-hijo. (Zubirán, 1990)

### 3.4.4 Contraindicaciones de la Lactancia Materna

Ocasionalmente, por distintas causas, la leche materna no es administrada al niño o se suspende a muy temprana edad. Algunas de estas causas se relacionan con la salud, tanto del niño como de la madre, entre las que se encuentran: que la madre o el niño no estén sanos, que la madre no esté bien nutrida, que tenga malformaciones en los pezones, que el niño presente malformaciones, o que presente errores congénitos del metabolismo que requieran el uso de fórmulas especiales. como es el caso de la intolerancia a la lactosa. En todos estos casos es prescrita la lactancia artificial y, dependiendo el caso, el uso de fórmulas especiales.

Existen otras causas de tipo socio-económico-cultural como lo son: el nivel educativo de las madres, el nivel socio económico, madres que trabajan fuera del hogar, el uso del biberón como símbolo de status, mitos sobre estética.

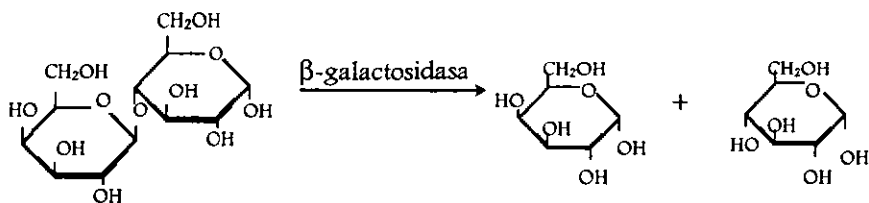
Otras causas están relacionadas con las prácticas hospitalarias como: la separación de la madre y el bebé, una rutina de alimentación con biberón, retraso

en iniciar la lactancia al seno, horarios rígidos de alimentación y la capacitación inadecuada de los trabajadores.

Cualquiera que sea la causa, de la alimentación artificial, el niño presenta mayor riesgo a contraer infecciones respiratorias y/o gastrointestinales, es por ello que a excepción de los casos estrictamente necesarios es recomendable proporcionar al niño la leche materna. (Ruiz-García, 1996)

### 3.5 INTOLERANCIA A LA LACTOSA

La intolerancia a la lactosa o deficiencia de disacaridasas se define como una afectación de la mucosa intestinal que deriva en la imposibilidad para digerir la lactosa (azúcar de la leche) debido a una deficiencia de una enzima llamada  $\beta$ -galactosidasa, que se encuentra en la membrana de los enterocitos de la mucosa intestinal y es la encargada de digerir a la lactosa dejando libres a los dos monosacáridos que la componen, glucosa y galactosa. En general la actividad de esta enzima en los recién nacidos es mayor que en los adultos.



Esta enfermedad puede presentarse por dos causas:

1. La congénita o primaria, se presenta cuando el niño nace con la deficiencia de dicha enzima.
2. La adquirida o secundaria, se presenta cuando la mucosa intestinal sufre daños como en el caso en que haya una desnutrición severa, la enzima

presente en la mucosa o no esta presente o hay una gran deficiencia de ella (Silva,1994).

La lactosa que no se hidroliza permanece en el intestino y actúa osmóticamente extrayendo agua hacia el intestino. Las bacterias fermentan la lactosa no digerida, lo que produce ácido láctico y otros ácidos orgánicos, dióxido de carbono y gas de hidrógeno. Como resultado se presentan los siguientes síntomas: dolor abdominal, diarrea, distensión del abdomen y flatulencia, apareciendo perdida de peso con malnutrición. (Krause, 1995)

Existen diferentes maneras de diagnosticar dicha enfermedad, como:

- Prueba de tolerancia a lactosa: Se basa en administrar una dosis bucal de lactosa equivalente a la cantidad que contiene 1 litro de leche (50 g) se toman muestras de sangre a los 30, 60 y 120 minutos. Cuando existe intolerancia a la lactosa, la glucemia aumenta menos de 25 mg/100 ml de suero arriba del valor en ayuno.
- Prueba de hidrógeno espirado: Se basa en que la lactosa al llegar al colón es fermentada por bacterias y se producen gases como bióxido de carbono, hidrógeno y metano. Los tres son digeridos en parte a través del colón, y todos son espirados en el aliento. Un incremento de hidrógeno o metano después de una dosis de lactosa es una posible indicación de una digestión incompleta.
- Prueba de acidez en las heces: como producto de la fermentación de la lactosa se producen varios ácidos que aumentan la acidez en las heces.
- Prueba de azúcares reductores en las heces: esta determinación se basa en que la lactosa es un azúcar reductor, mientras que la sacarosa no, de esta

forma es posible identificar que al haber sustancias reductoras son una indicación de la mala digestión.

- Biopsia de la mucosa intestinal: se realiza una prueba directa en el intestino para comprobar la presencia o no de lactasa en la mucosa. (Solomons, 1997)

Para aliviar los síntomas de la intolerancia a la lactosa es necesaria la reducción o supresión de la leche y de alimentos que contienen lactosa. Es por ello que los niños deben ser alimentados con sustitutos de leche o fórmulas a base de proteínas de soya o hidrolizados de caseína.

### 3.6 FÓRMULAS PARA LACTANTES

Cuando el amamantamiento no es factible, las fórmulas para lactantes son una alternativa segura y completa desde el punto de vista nutricional, ya que por lo general el lactante no necesita ninguna otra fuente nutricional los primeros 3 a 6 meses de vida.

Las fórmulas se han clasificado con base en la edad y las necesidades nutrimentales del lactante, de la siguiente manera:

- Fórmulas de Inicio: Están diseñadas especialmente para alimentar a los lactantes desde el nacimiento, como sustituto de la leche materna o como complemento durante los primeros cuatro o cinco meses de vida o más si el médico así lo prescribe. Estas fórmulas tienen una composición semejante a la de la leche materna, proporcionando nutrimentos necesarios para el desarrollo del lactante.
- Fórmulas de Continuación: Se elaboran con leche de vaca o de otros animales, o con otros componentes, ya sea de origen animal o vegetal; estas fórmulas



complementan o suplen a la leche materna, cuando el bebé comienza a ingerir alimentos distintos a la leche y se emplean a partir del sexto mes cuando los niños se alimentan con leche materna, o a partir de los cuatro meses o cuando han alcanzado un peso mayor a los seis kilogramos.

- Fórmulas para lactante prematuros y/o niños de bajo peso al nacer: Estas fórmulas se prescriben para la alimentación de lactantes de bajo peso, ya sea prematuros o nacidos al término, pero con peso insuficiente. Tienen la finalidad de proporcionarle una alimentación que le permita desarrollarse, sin ocasionar daño a los órganos inmaduros del lactante.
- Fórmulas especiales: Se utilizan para alimentar al lactante en casos especiales durante el primer año de vida, por ejemplo, hay fórmulas acidificadas con lactobacilos, lo cual facilita la digestión del bebé. También existen fórmulas sin lactosa para alimentar lactantes o niños de corta edad que presentan intolerancia a la lactosa, y para reiniciar su alimentación después de padecer diarrea aguda, así como los niños desnutridos, ya que pueden presentar intolerancia transitoria a la lactosa (PROFECO,1999).

Entre las fórmulas para niños intolerantes a la lactosa que existen en el mercado se encuentran las elaboradas a partir de soya y las que se hacen a partir de hidrolizados de caseína. Las primeras presentan algunas desventajas: en primer lugar son fórmulas muy caras debido al proceso de destoxificación que se requiere para su elaboración; sensorialmente las fórmulas de soya no son muy aceptadas, y finalmente, se ha observado que del 3 al 5% de los lactantes que presentan alergias a la proteína de la leche bovina, son también sensibles a la proteína de soya.

Las fórmulas elaboradas a partir de hidrolizados de caseína son una solución a la alergia de los niños hacia la soya, ya que a pesar de que la caseína es la proteína que causa la alergia de la leche bovina, al estar en forma hidrolizada presenta un efecto protector contra el desarrollo de la alergia. La única desventaja de estas fórmulas es su alto costo. (Calderón, 1997; Chandra, 1994)

### 3.7 MATERIAS PRIMAS

#### 3.7.1 Papa

La papa (*Solanium tuberosum*) constituye uno de los cultivos más importantes no solo por el área que se destina a su cultivo sino también por los altos rendimientos por hectárea que produce. Es el cultivo que produce más energía por hectárea cultivada y es el segundo después de la soya en producción de proteína por hectárea. La papa satisface las necesidades de proteína de más personas por hectárea cultivada de maíz, el trigo, la yuca o el frijol. El Centro Internacional de la Papa, en Lima Perú, lugar de donde es originaria, considera que es uno de los cultivos con mayor potencial para desempeñar un papel importante en la dieta de los países en vías de desarrollo como los latinoamericanos. En México la producción anual de papa en 1997 alcanzó 1, 047, 462 toneladas y media, siendo los principales estados productores Sinaloa, Guanajuato, el Estado de México y Sonora. El consumo en México per cápita es solo de 10 a 15 kg anuales. La variedad más apreciada en México es la papa Alfa pero se han desarrollado nuevas variedades por mejoramiento genético que son más resistentes a plagas y enfermedades o que se prestan mejor para cierto tipo de procesamiento. (SAGAR, 1996; SARH, 1996)

La papa es una buena fuente de nutrimentos en la dieta de muchos pueblos a los cuales provee de proteína de buena calidad, carbohidratos principalmente almidón, minerales (calcio, potasio, sodio, magnesio, sodio y hierro) y vitaminas como ácido ascórbico, tiamina y riboflavina. Se ha calculado que 100 g de papa pueden suministrar de 5 a 7% del requerimiento diario de energía y de 10 a 12% del requerimiento diario de proteína de niños de 5 a 12 años de edad. (FAO, 1990)

La papa tiene un promedio de 2.1% de proteína en base húmeda, sin embargo, la proteína de la papa ha llamado la atención por su calidad que se iguala e incluso supera a la proteína de la soya por su elevado valor biológico y además tiene una calidad nutricional superior a la de los cereales y las leguminosas pues por su balance de aminoácidos presenta calificaciones químicas superiores a éstos. La fracción proteínica de la papa está constituida por albúmina, globulina, prolamina y glutelina principalmente. En general presenta buenos contenidos de lisina y triptófano por lo que podría ser un buen complemento para los cereales. (Eriksen, 1981)

### 3.7.2 Pollo

La carne representa uno de los más importantes alimentos en la nutrición humana. La carne de pollo es una de las más aceptadas en el mundo, debido a la alta calidad de su proteína, a la menor cantidad de tejido conectivo y a su bajo costo en comparación con carnes de otras fuentes.

La composición de las partes comestibles del pollo depende de la manera en que éstas se parten, del método de cocimiento y de la parte comestible en sí. La carne blanca (pechuga) y sin piel contiene alrededor de 64% de agua, 32% de proteínas y el 3.5% de grasas. La carne oscura (piernas y muslos) sin piel tiene

aproximadamente el 65% de agua, 28% de proteínas y el 6% de grasas. La mayor parte de la grasa del pollo se encuentra en la piel y ésta puede eliminarse fácilmente de la carne.

La carne blanca tiene mayor contenido de proteína, y la oscura tiene mayor contenido de grasas y colesterol. Al cocer el pollo el contenido de proteína y colesterol se concentran.

La carne de pollo contiene más proteína y menos grasa que la carne roja. La proteína de pollo es de muy buena calidad y contiene todos los aminoácidos indispensables que el hombre necesita para su desarrollo. Además, es una fuente rica de taurina, aminoácido indispensable en niños lactantes, su contenido varía dependiendo del tipo de músculo en el que se encuentre; en los músculos rápidos como la pierna y el muslo la concentración es de 8.6  $\mu\text{mol/g}$ , en tanto que, en el músculo lento (pectoral) es de 1.4  $\mu\text{mol/g}$ . (Ortiz, 1990)

El pollo tiene más grasa insaturada que la carne roja, esta formada por triglicéridos y fosfolípidos principalmente. La pechuga está compuesta principalmente de triglicéridos y en menor cantidad de fosfolípidos. Sus principales ácidos grasos son el oleico y el palmítico. (Fennema; 1982)

En el tejido muscular del pollo se encuentran pequeñas cantidades de carbohidratos en forma de glucógeno, que es el polisacárido de reserva energética animal más importante. El hígado es el órgano que mayor cantidad de glucógeno contiene.

El pollo es una buena fuente de vitaminas del complejo B y de minerales como el hierro, fósforo, potasio, calcio, magnesio y cobre.

El pollo constituye un alimento excelente para lactantes y preescolares. (Briggs, 1985)

### 3.7.3 Aceite de Maíz

El 100% del aceite de maíz esta constituido, prácticamente, por triglicéridos, los cuales están formados por tres ácidos grasos esterificados con un glicerol. Por tanto, las características del aceite están dadas por su composición de ácidos grasos. El 86.4% de los ácidos grasos del aceite de maíz son insaturados y el 13.6% son saturados, debido a esto el aceite es susceptible a las reacciones de oxidación.

En la composición del aceite de maíz (Cuadro 8) se observa que es una fuente rica de ácido linoleico, que junto con el linolénico y el araquidónico, son considerados como indispensables para el organismo. Entre las funciones más importantes del ácido linoleico están: el formar parte constitutiva de la membrana de diferentes tejidos celulares, ser precursor del ácido araquidónico (también considerado como indispensable) que se requiere para darle rigidez a la mitocondria de las células, y se utiliza en la síntesis de hormonas, intervienen en el mantenimiento de la piel y del pelo, así como en la regulación del metabolismo del colesterol.

Cuadro 8

Composición de ácidos grasos del aceite de maíz

ÁCIDO GRASO	%
linoleico	59.6
oleico	25.4
palmitico	10.9
linolénico	1.2
araquidónico	0.4
palmitoleico	0.2
mirisíto	0.1
margárico	0.1
behénico	0.1

Fuente: Badui, 1994.

### 3.8 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Diversos agentes patógenos y toxigénicos se transmiten por los alimentos. Algunos ocasionan sus efectos tóxicos a través de los metabolitos producidos durante el crecimiento de microorganismos en los alimentos, otros mediante la ingestión de los microorganismos y algunos necesitan la ingestión elevada de gérmenes que esporulan en el tracto digestivo y liberan la toxina. La contaminación en el alimento puede tener lugar durante su industrialización o más probablemente durante su preparación. (Jay 1989; Escartin, 1981)

Entre los requisitos que deben presentar los alimentos para que se consideren de buena calidad higiénica es que deben estar exentos de microorganismos peligrosos o que éstos se encuentren a un nivel que los haga inocuos. En general, no es posible examinar el alimento para investigar la presencia de cada microorganismo.

La práctica que ha estado vigente durante muchos años está representada por la determinación de la calidad higiénica de los alimentos, a través de su contenido de determinados microorganismos indicadores como son: mesófilos aerobios (recuento total de microorganismos), coliformes y enterococos. (Escartin, 1981)

#### 3.8.1 Mesófilos Aerobios

Cuando se pretende investigar la carga bacteriana en un alimento la técnica más utilizada es la de recuento en placa.

Cuando la concentración de mesófilos aerobios es alta nos indica la posible presencia de microorganismos patógenos.

Su análisis determina:

- La eficiencia del proceso de desinfección o cualquier otro tipo de tratamiento.
- Determina la aceptabilidad de un producto en términos de cumplimiento de una norma microbiana.
- Estima la peligrosidad del alimento.

Las técnicas que se han venido utilizando para su determinación son:

1. Cuenta en placa: Esta técnica se aplica para una gran variedad de microorganismos. La variedad de especies y tipos diferenciables por sus distintas necesidades nutricionales, hacen que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente.
2. Técnica del número más probable (NMP): Si la concentración de microorganismos en un alimento es pequeña o si el medio requiere de un enriquecimiento previo a la identificación de algún microorganismo, resulta más satisfactorio aplicar la técnica de dilución en tubos que la de recuento en placas. ((Jay 1989; Escartin, 1981; Merck, 1970)

### 3.8.2 Coliformes

Los organismos coliformes son buenos, indicadores de contaminación fecal en agua. Son bacilos cortos, gram (-), no esporulados, lactosa (+) con producción de gas en 48 hrs a 35°C, oxidasa (-), resistentes a sales biliares y a colorantes.

Los coliformes comprenden además de *E. coli* las especies de *Enterobacter* y *Klebsiella* las cuales no son de origen fecal.

La *Escherichia coli* se acepta como el indicador más positivo de contaminación fecal.

Las técnicas que se han venido empleando para su determinación son las siguientes:

1.- Número más probable (NMP) que comprende dos etapas:

- a) Prueba presuntiva, aquí se seleccionan los tubos de caldo lactosado donde existe formación de gas.
- b) Prueba confirmativa, en ésta se requiere de un medio selectivo como es el caldo bilis verde brillante.

2.- Se emplea el caldo Mac Conkey.

3.- Se usa caldo lactosa verde brillante, y posteriormente se confirma su presencia en agar bilis rojo violeta y en agar Endo. (Jay, 1989)

### 3.8.3 *Escherichia coli*

El aislamiento de *E. coli* se puede agrupar en tres categorías:

1. Las patógenas oportunistas que son inofensivas en su habitat normal, hasta que llegan a otros sitios o tejidos. Pueden producir infecciones del aparato urinario, pulmonares, sépticas, de la piel y heridas, bacteriemias, meningitis y abscesos.
2. Las *E. coli* enteropatógenas que causan gastroenteritis aguda en el tubo digestivo principalmente en recién nacidos o niños menores de 2 años.
3. Las *E. coli* productoras de enterotoxinas que son incapaces de invadir la mucosa intestinal, pero dejan en libertad la enterotoxina que es absorbida por las membranas de las células epiteliales que estimulan la actividad de la adenilciclasa, produciendo enfermedades semejantes al cólera y a la disenteria bacilar. (Jay, 1989; Sinkey, 1978; Pelczar, 1977)



### 3.8.4 *Salmonella*

El género *Salmonella* está formado por bacilos no esporulados de pequeño tamaño y gram (-). Estos organismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza.

La toxoinfección alimenticia por *Salmonella* se produce por la ingestión de alimentos que contienen un número significativo de cepas activas. (Sinkey, 1978)

Los alimentos involucrados con *Salmonella* son la carne y sus derivados, la leche y sus derivados y las verduras.

Todas las *Salmonellas* deben considerarse como potencialmente patógenas para el hombre.

Se diferencian de otros microorganismos entéricos y dentro de su género por reacciones bioquímicas, aspectos de las colonias en medios de cultivo diferenciales y por tipificación serológica. (Jay, 1989; Sinkey, 1978; Pelczar, 1977)

### Hongos y Levaduras

Los hongos y las levaduras son microorganismos que tienen interés como causa de alteración y como elementos biológicos utilizados en la manufactura de algunos alimentos como son queso o cerveza.

Ciertos hongos al desarrollarse en el alimento pueden producir toxinas dañinas para el hombre (micotoxinas).

Los hongos tienen una gran ubicuidad en la naturaleza, siendo muy comunes en el polvo y la tierra; las levaduras se desarrollan con facilidad en los utensilios y equipo mal lavados que se utilizan en industrias que manejan carbohidratos. (Escartin, 1989; SSA, 1978)

### 3.8.5 Hongos

Los hongos son microorganismos eucarióticos y quimioorganotróficos. Se reproducen en forma natural por medio de esporas aunque existen algunas excepciones. No tienen clorofila y sus cuerpos son usualmente alargados o filamentosos. Fisiológicamente, los hongos se adaptan a condiciones más severas que los otros microorganismos:

A diferencia de las bacterias, soportan una presión osmótica elevada.

Toleran y se desarrollan en condiciones de acidez elevada. Soportan un pH entre 2 y 9 aunque su pH óptimo es 5.6. (Escartin, 1989; Pelczar, 1977)

Pueden sobrevivir en ambientes deshidratados, donde producen esporas o pasan al estado de resistencia.

Casi todos los hongos son estrictamente aerobios, se desarrollan en condiciones de temperatura muy variadas siendo la óptima entre 22 y 30°C para la mayor parte de las especies. Algunos hongos pueden crecer a 0°C y algunos otros se desarrollan a 62°C.

La glucosa es una fuente de carbono muy aprovechada aunque también son utilizados otros azúcares como la sacarosa, la maltosa, y compuestos orgánicos como son el almidón y las celulosas. (Pelczar, 1977)

### 3.8.6 Levaduras

Las levaduras se distinguen de los hongos ya que su forma dominante es unicelular. Generalmente se reproducen por gemación por lo que se reproducen más aprisa que los hongos filamentosos y en proporción a su peso, son más aptos para efectuar cambios químicos, se diferencian de la mayor parte de las bacterias por su tamaño relativamente grande y su morfología.

Las levaduras son capaces de crecer en un amplio margen de temperatura desde 0 hasta 47°C, algunas no se desarrollan a más de 15°C y otras lo hacen a temperaturas mucho menores. Su temperatura óptima está entre 20 y 30°C y las variedades patógenas crecen bien entre 30 y 37°C.

En general las levaduras se desarrollan mejor en medios ácidos (pH ajustado entre 3.5-3.8) donde se inhiben casi todas las bacterias. (Jay, 1989; Escartin, 1981; Pelczar, 1977)

### 3.9 CONSERVACIÓN POR DESHIDRATACIÓN

La remoción de la humedad de un alimento es uno de los más antiguos métodos de preservación. Mediante la reducción del contenido de agua en el producto a niveles bajos (menor al 5%), se elimina el deterioro microbiano, así mismo se reducen significativamente otras reacciones de deterioro. Los alimentos deshidratados, además, de preservarse, son fáciles de manejar durante la transportación y el almacenamiento debido a que el peso y el volumen del producto disminuyen significativamente. Además, un producto deshidratado es de fácil uso para el consumidor porque basta con hidratarlo o disolverlo en agua para prepararlo.

La deshidratación es una operación en la cual tienen lugar la transferencia de calor y la transferencia de masa. El calor es transferido al agua en el producto y el agua es evaporada. Por lo tanto, se elimina vapor de agua.

Los secadores pueden ser divididos en dos clases:

- Secadores adiabáticos, en los cuales el calor es llevado dentro del secador por un gas caliente. El gas dona el calor al agua en el alimento y lleva hacia fuera el vapor de agua producido. El gas caliente puede ser producto de combustión o aire calentado.

- Transferencia de calor a través de una superficie sólida, donde el calor es transferido al producto a través de una placa metálica, la cual lleva también el producto. Generalmente, el producto es puesto en un vacío y el vapor de agua es expulsado por medio de una bomba de vacío. En algunos casos, el producto es expuesto al aire y el vapor de agua es eliminado por el aire circundante.

Es posible suministrar el calor por métodos de calentamiento infrarrojo, dieléctrico y de microonda.

Se usan muchos tipos de secadores en la deshidratación de alimentos, la selección de un tipo en particular es guiada por la naturaleza del producto que va a ser secado, la forma deseada del producto terminado, la economía y las condiciones de operación. (Desrosier, 1977)

A continuación tenemos una lista de los diferentes tipos de secadores y en qué tipo de producto alimenticio se aplican:

Secadores	Producto
De tambor	Leche, ciertos jugos de hortalizas, arándanos y plátanos
Cámara de secado al vacío	Producción limitada de ciertos alimentos
Al vacío continuo	Frutas, hortalizas
De banda continua (atmosférico)	Hortalizas
Liofilizadores	Carnes
De esprea o aspersión	Huevos enteros, yema de huevo, albúmina de la sangre y leche
Rotatorios	Algunos productos de carne, generalmente no se utilizan para productos alimenticios
De cabina o compartimiento	Frutas y hortalizas
Hornos secadores	Manzanas, algunas hortalizas
De túnel	Frutas y hortalizas

Fuente: Desrosier, 1977.

El método que se eligió para la deshidratación de las fórmulas fue el de secado por aspersión, ya que es un método en el cual el tiempo de secado es muy corto, y por lo tanto no hay pérdida del sabor, color y principalmente de su valor nutritivo.

### 3.9.1 Secado por Aspersión

Los secadores por aspersión son secadores adiabáticos y muchas de las consideraciones para el secado adiabático de sólidos pueden ser aplicadas a los secadores de esprea. Ellos difieren en que son usados para secar soluciones, pastas y suspensiones.

Un secador por aspersión consta de las siguientes partes básicas:

- 1) Cámara de secado.
- 2) Alguna forma de atomizar el material de alimentación dentro de la cámara de secado.
- 3) Alguna forma de introducir aire caliente dentro de la cámara de secado.
- 4) Alguna forma de sacar el aire de la cámara de secado en algún punto alejado de la zona de alimentación y de la entrada de aire caliente.
- 5) Alguna forma de separar el producto del aire de salida.

Se usan tres métodos distintos para atomizar la alimentación:

- a. Boquillas en las cuales la alimentación líquida es forzada presión a través de los orificios pequeños.
- b. Boquillas en las cuales la atomización es provocada por un fluido secundario, como puede ser aire comprimido.
- c. Discos giratorios.

Se utilizan varios métodos para introducir el aire caliente (o gases) dentro de la cámara. En algunos diseños el aire se introduce por el techo de la cámara y en otros a través de puertas especiales. En la cámara de tipo cónico habitualmente se imparte al aire un movimiento giratorio mediante deflectores ubicados en la abertura de entrada. Esto colabora en el mezclado íntimo del aire con el atomizado y además pronueve el comportamiento de la cámara como un ciclón, al centrifugar el producto contra las paredes de la cámara, de manera que caiga por ellas y se recoja en el fondo del cono. Es necesario que haya un separador en la corriente de salida para recoger el producto arrastrado por el aire.

En algunos diseños todo el producto abandona la cámara de secado junto con el aire para ser recogido en separadores. Para este propósito se emplean habitualmente los ciclones o filtros de saco. (Nonhebel, 1979)

A continuación se presenta un esquema básico de un secador por aspersión (Figura 1), así como la explicación de su funcionamiento:

En el secado por aspersión la humedad es eliminada al pulverizar el líquido en una corriente de aire caliente dentro de la cámara de secado.

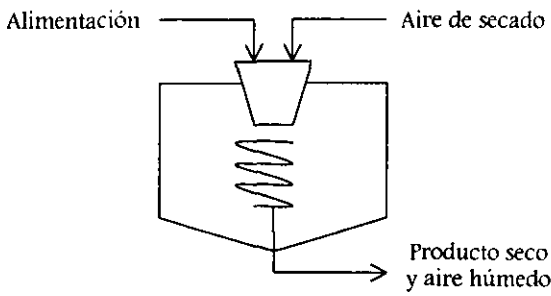


Figura 1. Esquema de un secador por aspersión

Aquí se muestra la alimentación descendente del líquido pulverizado en pequeñas gotas dentro de la corriente de aire caliente. Al moverse las gotitas de líquido dentro de la corriente de aire caliente, el agua se evapora instantáneamente y es eliminada por el aire. Este fenómeno ocurre durante el periodo de velocidad de secado constante, limitándose la transferencia de masa a la superficie de las gotitas.

El producto seco sale de la cámara de secado suspendido en la corriente de aire húmedo y se separa en un colector tipo ciclónico, recogiendo el producto en un frasco sellado, normalmente con un contenido de humedad menor de 5%. (Singh,1993)

Las principales ventajas del secado por aspersión son las siguientes:

- Puesto que los tiempos de secado son muy cortos, muchos materiales termosensibles pueden ser secados satisfactoriamente, mientras que otros tipos de equipos de secado resultarían inadecuados.
- En este secado el material no está en contacto con las paredes del equipo hasta que está en seco y, además, las paredes se encuentran aproximadamente a la temperatura del aire de salida; por lo tanto se reducen los problemas de pegado y corrosión en el equipo.
- El producto es obtenido como un polvo fluido finamente dividido y en forma fácilmente soluble en un disolvente apropiado.
- El tamaño de partícula de algunos productos es ajustable dentro de ciertos límites, variando las condiciones de atomización. El proceso es adecuado para el secado continuo de cantidades relativamente grandes de material.
- En ciertos casos el proceso puede eliminar la necesidad de filtración o molienda, aunque en forma alternativa éstos pueden resultar necesarios.

- Las condiciones de limpieza y semisterilidad son más fácilmente obtenidas que en la mayoría de los otros equipos de secado.

Algunas desventajas del secado por spray son:

- El calor requerido por unidad de peso del producto es alto, pues:
  - ◆ El contenido de humedad en la alimentación puede ser grande comparado con la mayor parte de los otros tipos de secadores
  - ◆ El rendimiento térmico es bajo debido a las restricciones en la temperatura de entrada del aire y a la temperatura relativamente alta del aire de salida.
- El costo del equipo es alto respecto del tonelaje anual de producto secado particularmente en el caso de equipos de pequeña capacidad.
- El equipo requiere mucho espacio.
- La recuperación en los gases de salida de producto que forma polvo puede ser problemática o puede necesitar un equipo auxiliar de alto costo.
- No se puede usar el secador por aspersión con productos tóxicos a menos que se tomen precauciones especiales.
- Todas las impurezas de la alimentación quedan retenidas en el producto.

### 3.10 ANÁLISIS PROXIMAL

El análisis proximal o básico es la determinación conjunta de un grupo de sustancias estrechamente emparentadas que involucra los siguientes componentes: humedad, proteína cruda, grasa cruda, cenizas, fibra y carbohidratos.



El análisis proximal de los alimentos es una herramienta muy utilizada en nutrición para saber en que proporción se encuentra cada uno de los nutrimentos en un alimento, y una vez con estos datos poder calcular la cantidad de energía que proporciona o conocer que componentes se encuentran presentes en dicho alimento.

### 3.10.1 Humedad

Todos los alimentos, cualquiera que sea el método de industrialización al que hayan sido sometidos, contienen agua en mayor o menor proporción. Las cifras de contenido en agua varían entre un 60 y un 95% en los alimentos naturales. En los tejidos vegetales y animales, puede decirse que existe en dos formas generales: agua libre y agua ligada. El agua libre o absorbida, que es la forma predominante, se libera con gran facilidad y es estimada en la mayor parte de los métodos usados para el cálculo del contenido de agua. El agua ligada se halla combinada o absorbida. Se encuentra en los alimentos como agua de cristalización o ligada a las proteínas y a las moléculas de sacáridos y absorbida sobre la superficie de las partículas coloidales. Estas formas requieren para su eliminación en forma de vapor un calentamiento de distinta intensidad. Parte de la misma permanece ligada al alimento incluso a temperaturas que lo carbonizan.

Algunas ventajas que resultan de determinar la humedad de los alimentos son:

1. Permite expresar los resultados en una cierta base (base húmeda o seca).
2. Permite saber la cantidad real de los nutrimentos en el alimento.
3. La cantidad de humedad en los alimentos tiene una estrecha relación con la estabilidad del producto.
4. Tiene gran importancia económica. (Hart, 1991; Pearson, 1976)

### 3.10.2 Proteína Cruda

En la determinación de proteína se incluye no solo el nitrógeno proveniente de las proteínas de la muestra sino también el nitrógeno de compuestos nitrogenados no proteínicos como los aminoácidos libres, bases nitrogenadas, amidas, aminas, etc.

La determinación se realiza, generalmente, utilizando el método de Kjeldahl, que supone que las proteínas tienen un contenido constante de 16% de nitrógeno, de esto resulta que 1 g de nitrógeno está contenido en 6.25 g de proteína, este valor se utiliza como factor para calcular la cantidad de proteína en la muestra a partir de la cantidad de nitrógeno encontrado. Este factor varía en algunos alimentos.

La determinación de proteínas es de gran importancia:

1. A partir de la cantidad de proteína de un alimento se puede calcular su calidad nutricional.
2. Es un índice de calidad en algunos alimentos como en las harinas.

### 3.10.3 Cenizas

Todos los alimentos contienen minerales formando parte de compuestos orgánicos e inorgánicos. Es muy difícil determinarlos tal y como se presentan en los alimentos. Es por esto, que se ha utilizado la incineración para destruir toda la materia orgánica de una muestra, quedando las sales de los metales que había en el alimento. Sin embargo, algunos elementos no pueden ser completamente retenidos en las cenizas perdiéndose por volatilización.

La información que éstas proporcionan es la siguiente:

1. El grado de refinación de algunos alimentos, como las harinas.
2. Posibles adulteraciones que pudiera presentar el alimento.
3. La cuantificación de la materia orgánica que hay en un alimento.

4. A partir de éstas se realiza la determinación de minerales.

### 3.10.4 Grasa Cruda

La grasa o extracto etéreo se refiere al conjunto de sustancias 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, las vitaminas liposolubles, la clorofila y otros pigmentos.

La determinación de grasa cruda en los alimentos es importante:

1. Ayudan a identificar posibles adulteraciones en los alimentos, como en la leche.
2. Para conocer el aporte energético que las grasas de un alimento.
3. Ayudan a conocer la susceptibilidad de los alimentos a las reacciones de oxidación.

### 3.10.5 Fibra Dietaria

La fibra dietaria es un grupo de sustancias que forman parte de la pared celular de los vegetales y que no son digeridas por las enzimas endógenas de los mamíferos. Químicamente incluyen a la lignina y a varios polisacáridos no amiláceos que suelen dividirse en tres categorías: estructurales (celulosa, hemicelulosa, algunas pectinas, fructanos, mananos y Galactomananos) que son parte constitutiva de la pared celular: no estructurales (gomas, mucilagos, ciertas pectinas y polisacáridos de bacterias como el xantano) y polisacáridos no amiláceos de algas (agar, carragenato, alginatos, etc.).

Existe otra clasificación que se basa en la solubilidad de sus componentes: la fibra dietética soluble (pectinas, gommas y mucilagos) y la fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa y lignina). La fibra soluble se digiere casi completamente por

fermentación en el ciego; la fermentación aumenta la masa fecal y facilita la evacuación. Además, eleva la viscosidad del contenido intestinal y hace más lenta la absorción de la glucosa el colesterol y las sales biliares. Entre las fibras insolubles, la celulosa se digiere casi en un 50%. La hemicelulosa y la lignina tienen gran capacidad de retención de agua, que aumenta el volumen fecal y reblandece las heces. Varias fibras actúan a la manera de resinas ligando compuestos potencialmente dañinos.

La fibra dietética no es un nutrimento sino un componente de la dieta no existen recomendaciones de ingestión propiamente dichas, pero se ha propuesto como deseable que se ingieran de 10 a 14 g de fibra dietética por cada 1000 kcal. (Bourges, 1995)

Contrariamente a esto, una dieta abundante en fibra puede llegar a provocar problemas estomacales, sobre todo de diarrea, ya que al hidratarse mucho ocasiona un 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 a la vitamina B<sub>12</sub> y a algunos aminoácidos, lo que provoca que estos nutrimentos no sean aprovechados porque se eliminan en las heces. (Badui, 1994) Debido a esto, la FAO recomienda que el contenido de fibra en los alimentos. para niños menores, de un año sea menor al 2%. (FAO, 1973)

Es necesario hacer una clara distinción entre la fibra cruda y la fibra dietaria. La primera es la que se consigna generalmente en las tablas de composición de los alimentos y que se determina analíticamente sometiendo los productos a un tratamiento en caliente con ácido clorhídrico y posteriormente con hidróxido de sodio; en estas condiciones se pierde una fracción importante de polisacáridos que

sí se incluyen en la fibra dietaria; es decir la fibra cruda normalmente es menos que la dietaria, ya que esta última representa el contenido total de los polímeros antes indicados. En términos generales, el procedimiento de determinación de la fibra cruda provoca la pérdida de 70 a 80% de la hemicelulosa, de 30 a 50% de la celulosa y hasta un 90% de la lignina; por ello, se ha considerado que es hasta de seis veces la subestimación de la fibra dietaria cuando se determina fibra cruda. (Badui, 1994)

### 3.10.6 Carbohidratos Asimilables

Los carbohidratos asimilables están formados por azúcares reductores, azúcares no reductores, almidón y derivados.

Es el valor obtenido restando de 100 la suma de la grasa, la proteína, las cenizas, el agua y la fibra, es decir se obtienen por diferencia.

## 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 4.1 MATERIAS PRIMAS

Las materias primas utilizadas para este trabajo fueron las siguientes:

- Pechuga de pollo deshuesada y sin piel
- Papa blanca
- Aceite de maíz (marca Dorella)

Todas las materias primas fueron adquiridas en una tienda de autoservicio.

### 4.2 METODOLOGÍA

Durante el desarrollo del proyecto fue necesario efectuar los siguientes análisis:

1. Acondicionamiento y análisis proximal de las materias primas.
2. Análisis de aminoácidos de las materias primas.
3. Elaboración de las fórmulas a partir de las materias primas.
4. Análisis proximal de las fórmulas diseñadas y de la comercial.
5. Análisis de aminoácidos de las fórmulas elaboradas y de la comercial.
6. Análisis microbiológico de todas las fórmulas.

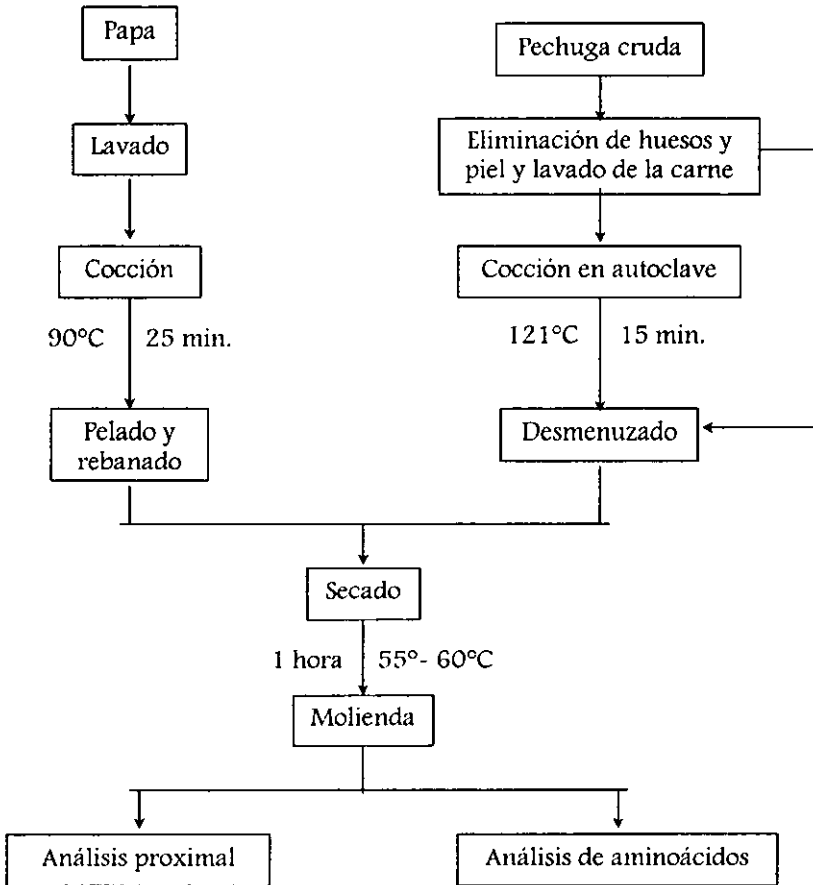
#### 4.2.1 Acondicionamiento de las Materias Primas

Para realizar el análisis proximal de las materias primas fue necesario someterlas a un acondicionamiento previo (Diagrama 1). Se observa que una parte del pollo quedó crudo y la otra parte se coció. La pechuga de pollo y la papa se secaron en una estufa (modelo Imperial III 3405, marca Lab-Line Instruments, Inc.) a una temperatura de 55-60°C. Posteriormente, se molieron en un molino Thomas-Wiley con una malla de 0.5 mm. De esta manera se obtuvieron las harinas de pollo crudo y cocido y de la papa. A éstas harinas se les hizo el análisis proximal de acuerdo a la AOAC (AOAC, 1991), cuyas metodologías se detallan en el Anexo

I; también se hizo la determinación de aminoácidos mediante cromatografía de intercambio iónico (Anexo II), se calcularon las calificaciones químicas para cada una de las materias primas (Anexo III) y se seleccionó la muestra de pollo con la cual se elaborarían las fórmulas, por medio de un análisis estadístico t de student (Anexo IV) a las calificaciones químicas tanto del pollo crudo como el cocido.

Diagrama 1

ACONDICIONAMIENTO DE LAS MATERIAS PRIMAS



#### 4.2.2 Elaboración de las Fórmulas

Las fórmulas fueron elaboradas en base a los resultados obtenidos del análisis proximal de las materias primas, calculando teóricamente qué cantidad de cada uno de ellos era necesaria para igualar el contenido de proteína (14%) de una fórmula comercial para niños intolerantes a la lactosa, fórmula “Nursoy”, la cual fue seleccionada por ser la fórmula para niños intolerantes a la lactosa de menor precio de las que había en existencia en el supermercado al momento de comprarla.

Se decidió trabajar con el pollo cocido y con harina de papa, en lugar de la papa cocida; ya que de esta manera, y debido al alto contenido de humedad de las papas, se pudo tener un mayor control sobre el aporte proteínico de la papa a cada una de las fórmulas; es decir, al utilizar la harina de la papa la proteína está más concentrada, por lo que resulta más sencillo manejarla de esta manera. Sin embargo, y como se puede apreciar en el diagrama de elaboración de las fórmulas (Diagrama 2), resultaría más práctico trabajar con las papas cocidas ya que finalmente al mezclar todos los ingredientes, la harina de papa se vuelve a hidratar al agregar el agua necesaria para la obtención del licuado que se introducirá en el secador por aspersión. De esta manera se aprovecharía el contenido de agua de las papas cocidas y al hacer el licuado solo se agregaría el agua faltante.

Se elaboraron tres fórmulas a partir del pollo cocido y harina de papa variando la proporción de los mismos como se indica a continuación (Tabla 1):



Tabla 1.

Proporciones utilizadas en la elaboración de las fórmulas

FÓRMULA	Proporción en Base a la Proteína de las Materias Primas (%)	
	Pollo Cocido	Harina de Papa
Fórmula 50:50	50	50
Fórmula 60:40	60	40
Fórmula 70:30	70	30

Además de las materias primas mencionadas se utilizaron: aceite de maíz, para obtener una adecuada relación proteico-calórica en las fórmulas; lecitina de soya, para ayudar a emulsificar la mezcla; lactato de calcio y palmitato de ascorbilo, que trabajan de manera sinérgica como antioxidantes en las fórmulas; y por último, goma xantana, se agrega por su capacidad de estabilizar sustancias que contienen dos diferentes medios inmiscibles entre sí.

En la Tabla 2 se muestran las cantidades finales utilizadas en cada una de las fórmulas elaboradas.

Tabla 2.

Cantidades utilizadas de cada ingrediente para la elaboración de las fórmulas

INGREDIENTES	POLLO: PAPA	POLLO: PAPA	POLLO: PAPA
	50:50	60:40	70:30
Pollo cocido	16.65	22.80	33.53
Harina de papa	71.68	65.19	48.28
Aceite	9.59	12.00	16.09
Lecitina	1.00	1.00	1.00
Lactato de calcio	1.00	1.00	1.00
Goma xantana	0.06	0.06	0.06
Palmitato de ascorbilo	0.01	0.01	0.01

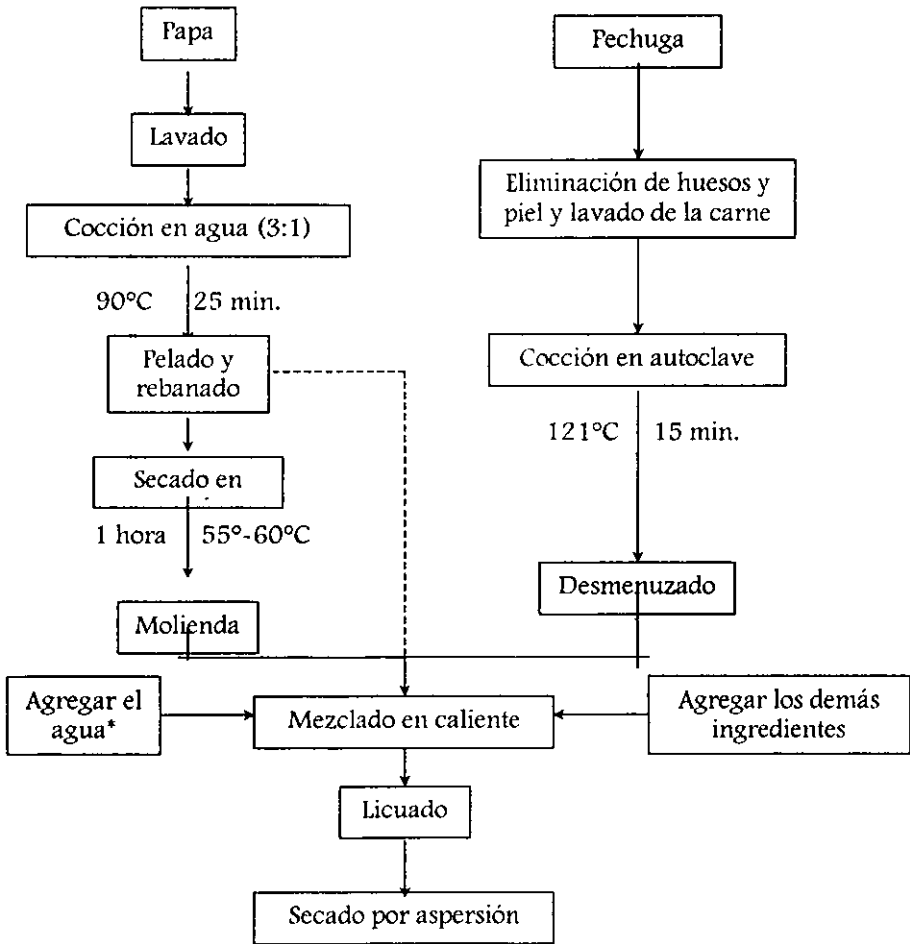
Las fórmulas fueron elaboradas de la manera indicada en el Diagrama 2. Durante el mezclado y licuado de las fórmulas se agrega el agua de cocción del pollo. La relación de agua con respecto al total de sólidos de la mezcla fue de 5 a 1, sin embargo, algunas veces era necesario agregar más agua porque los gránulos de almidón al hidratarse absorbían más agua.

Las condiciones del secado por aspersión fueron:

- Temperatura de la mezcla (fórmula) a secar: 40°C
- Presión del aire para mover el aspersor: 4.5 bar
- Temperatura del aire de entrada: 80 a 85°C
- Temperatura de salida: 200°C

Una vez que se tuvieron las fórmulas, se procedió a hacer los análisis proximales, de aminoácidos y microbiológicos (Anexo IV) de las mismas también se sacó la calificación química para cada una de ellas. Posteriormente, los resultados fueron comparados con los de la fórmula comercial (Nursoy), a la cual también se le hicieron los mismos análisis. Finalmente, se hizo un análisis estadístico, prueba de Duncan (Anexo V), para determinar si existía diferencia significativa entre las calificaciones químicas de las fórmulas.

Diagrama 2  
ELABORACIÓN DE LAS FÓRMULAS



\* Incluyendo el agua de cocción del pollo.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis proximal en base húmeda de las materias primas se muestran en el Cuadro No. 1, donde se observa que todas las materias primas tienen un alto contenido de humedad. Además, la humedad en el pollo cocido es menor a la del pollo crudo, por lo que, los demás componentes se encuentran en mayor proporción. Ahora, para analizar la composición de los demás nutrientes observamos el Cuadro No.2, en donde, se presenta la composición de las materias primas en base seca. Aquí se observa que el pollo es una rica fuente de proteínas, hecho por el cual se escogió para el desarrollo de este proyecto. En este cuadro el pollo crudo presenta un contenido mayor de proteína, contrariamente, a lo que se había observado en la composición en base húmeda, esto era de esperarse porque como se mencionó la humedad en el pollo crudo es mayor, entonces al no considerar la humedad hay una concentración de los demás componentes. También se observa que la proteína de la papa aumenta, pero a pesar de ello, sigue siendo un valor muy bajo.

Con respecto a la grasa se observa que ninguna materia prima tiene un valor significativo, lo cual era de esperarse, ya que durante el acondicionamiento del pollo se elimina la piel y la mayor parte de materia grasa que pudiera contener, como los nervios; la papa por tratarse de un tubérculo no se caracteriza por tener altos contenidos de grasa.

El contenido de carbohidratos en las muestras de pollo es muy baja, lo cual se debe a que en la carne hay pequeñas cantidades de glucógeno, polisacárido que sirve de reserva energética en los animales. Otra razón por la cual hay cierta cantidad de carbohidratos es que pudo haber algún error experimental en la

determinación de cualquiera de los otros componentes, ya que los carbohidratos fueron calculados por diferencia.

Por otro lado la cantidad de carbohidratos en la papa es alta, es por ello que se eligió dicha materia prima como fuente de carbohidratos, los cuales están conformados principalmente de almidón.

El contenido de cenizas en las materias primas es muy similar y sus valores van desde 4.2 g/100 g en el pollo cocido hasta 4.39 g/100 g en la papa.

Por último, en esta tabla, se observa que el pollo, como es obvio, no contiene fibra dietaria por tratarse de un tejido muscular, no así, la papa, la cual, tiene un alto contenido de fibra, por tratarse de un tejido vegetal sus células contienen pared celular, la cual debido a su composición no puede ser digerida por el hombre y forma parte de la fibra.

Cuadro No. 1  
Análisis proximal de las materias primas en base húmeda  
(g/100g de muestra)

	Pollo crudo	Pollo cocido	Papa
Humedad	67.20	60.52	75.81
Proteína cruda	30.11	35.01	1.68
Grasa cruda	0.72	1.77	0.72
Carbohidratos	0.56	0.95	18.44
Cenizas	1.41	1.66	1.06
Fibra dietaria	—	—	2.29

Cuadro No. 2  
Análisis proximal de las materias primas en base seca  
(g/100g de muestra)

	Pollo crudo	Pollo cocido	Papa
Proteína cruda	91.8	88.9	7.0
Grasa cruda	2.2	4.5	3.0
Carbohidratos	1.7	2.4	76.2
Cenizas	4.3	4.2	4.3
Fibra dietaria	—	—	9.5

En el siguiente cuadro, No. 3, se presenta el contenido de aminoácidos de las materias primas, en donde se aprecia que las muestras de pollo tienen mayor contenido de aminoácidos que la papa, lo cual era de esperarse porque las proteínas animales son de mejor calidad nutricional que las de origen vegetal. Aunque, cabe hacer resaltar que el contenido de triptófano en la papa es semejante al contenido en las muestras de pollo. En este cuadro también se presentan los patrones de aminoácidos que la FAO establece para niños lactantes y preescolares. Se puede observar que la cantidad de aminoácidos indispensables en la edad preescolar es menor que la de los lactantes esto se debe a que durante el primer año de vida el crecimiento es rápido y uniforme; por lo que requieren una mayor cantidad de aminoácidos y, en general, de todos los nutrimentos; mientras que en la edad preescolar la tasa de crecimiento disminuye.

Cuadro No. 3  
 Contenido de aminoácidos indispensables en las materias primas  
 (g/16 g de nitrógeno)

Aminoácido	Pollo crudo	Pollo cocido	Papa	Patrón lactantes <sup>3</sup>	Patrón preescolares <sup>3</sup>
Isoleucina	5.7	6.2	2.9	4.6	2.8
Leucina	9.3	10.4	6.0	9.3	6.6
Lisina	9.5	12.1	5.2	6.6	5.8
Azufrados <sup>1</sup>	5.2	6.0	4.3	4.2	2.5
Aromáticos <sup>2</sup>	9.1	7.8	7.6	7.2	6.3
Treonina	6.6	5.9	4.9	4.3	3.4
Triptófano	1.2	1.3	1.2	1.7	1.1
Valina	5.7	6.6	3.1	5.5	3.5
Histidina	3.8	4.9	1.8	2.6	1.9

1 Metionina + cistina

2 Fenilalanina + tirosina

3 FAO/WHO/UNU, 1985.

En el cuadro No. 4, se observan los aminoácidos limitantes y las calificaciones químicas de las materias primas que en este caso en particular coincidió que el aminoácido limitante tanto para lactantes como para preescolares resultó ser el mismo para cada materia prima, sin embargo éstos pudieron ser diferentes ya que los patrones para lactantes y preescolares son distintos. El aminoácido limitante para ambas muestras de pollo fue el triptófano, mientras que el aminoácido limitante en la papa fue la valina. A continuación se presentan las calificaciones químicas para cada muestra y patrón, que se calcularon de dos distintas formas. En la primera (I) se calcula la proporción en la que se encuentra el aminoácido limitante con respecto al mismo aminoácido establecido en el patrón, tomando a éste último como el 100%. Para el cálculo de la segunda calificación química (II) se toma en cuenta, además de la cantidad del aminoácido limitante, el total de

aminoácidos, tanto de la proteína problema como la del patrón, lo que nos permite conocer el balance de aminoácidos indispensables en la proteína, dato que resulta interesante ya que, como se sabe, no solo la cantidad del aminoácido es importante, sino también la proporción que guardan entre ellos. Habiendo hecho esta aclaración se analizaron las calificaciones químicas de la siguiente manera: la primera calificación química nos dice qué tanto porcentaje cubre el aminoácido de la proteína problema con respecto al patrón y la segunda calificación nos indicará la proporción que guardan los aminoácidos entre sí.

Al ver las calificaciones químicas (I y II) para lactantes en ambas muestras de pollo, se observa que el valor de la primera calificación química es mayor que el de la segunda, esto nos indica que a pesar de que el aminoácido limitante cubre en 72.4 y 75.9 (pollo crudo y cocido) de la cantidad establecida por el patrón, los aminoácidos del pollo no guardan una buena proporción entre sí; esto quiere decir, que mientras la cantidad de algunos aminoácidos está por encima del valor establecido por la FAO, la de otros aminoácidos ni siquiera alcanza a cubrir dicha cantidad.

Vemos que esto mismo ocurre en las calificaciones químicas para preescolares en las dos muestra de pollo, solo que en este caso la primera calificación química (>100) nos indica que no hay aminoácidos limitantes, ya que todos los aminoácidos exceden la cantidad que establece el patrón. A pesar de esto, se observa que el valor de la segunda calificación química disminuye mucho lo que nos vuelve a indicar, que el pollo no guarda una buena proporción entre sus aminoácidos, con respecto al triptófano.

En la papa, contrariamente a lo que pasó con el pollo, se observa que en las calificaciones químicas para lactantes, la valina de la papa cubre el 56% de la



valina del patrón, pero al ver la segunda calificación para lactantes se observa que este valor es mayor, lo que significa que la papa en general tiene un bajo contenido de aminoácidos en comparación a los patrones de la FAO, sin embargo éstos guardan una buena proporción entre ellos. En las calificaciones químicas de la papa para preescolares se tiene que de la primera calificación a la segunda hay una ligera disminución (8%) pero aún así no baja tanto como las calificaciones del pollo.

Cuadro No.4

Aminoácidos limitantes y calificaciones químicas de las materias primas

Materia prima	Aminoácido limitante	Calificación Química I <sup>1</sup>		Calificación Química II <sup>2</sup>	
		Lactantes	Preescolares	Lactantes	Preescolares
Pollo crudo	Triptófano	72.4	>100	58.4	67.2
Pollo cocido	Triptófano	75.9	>100	57.0	66.7
Papa	Valina	56.0	88.0	69.75	80.1

1 Calculada con la siguiente fórmula:  $C.Q. = \frac{\text{Aminoácido limitante problema}}{\text{Aminoácido limitante patrón}}$

2 Calculada con la siguiente fórmula:  $C.Q. = \frac{\text{Aminoácido problema} \times \text{Total de aminoácidos patrón}}{\text{Aminoácido patrón} \times \text{Total de aminoácidos problema}} \times 100$

Para seleccionar con cuál muestra de pollo se elaborarían las mezclas, se hicieron análisis estadísticos (t student) en los que se compararon las diferentes calificaciones químicas entre ambas muestras de pollo. Las comparaciones que se hicieron fueron las siguientes: la calificación química (I) para lactantes en el pollo crudo vs. la calificación química (I) para lactantes en el pollo cocido; otra comparación fue la de las calificaciones químicas (II) para lactantes en el pollo crudo vs. el pollo cocido; y la última comparación se hizo con la segunda calificación química para preescolares del pollo crudo vs. la calificación química (II) del pollo cocido. Las calificaciones químicas (I) para preescolares no se

analizaron ya que las dos resultaron ser mayores a 100. De este modo se hicieron 3 diferentes análisis estadísticos, de los cuales en ninguno de ellos se observó diferencia significativa. Por tanto, la elección se hizo en base a las ventajas que se obtenían al trabajar con el pollo cocido. En primera las proteínas del pollo durante el tratamiento de cocción sufren una hidrólisis parcial, lo cual permite que las proteínas sean más digeribles; y en segunda desde el punto de vista microbiológico la cocción ayuda a disminuir la carga microbiana que el pollo crudo pudiera contener.

Cuadro No. 5

Análisis proximal de las fórmulas elaboradas y de la fórmula comercial  
(g/100g de muestra)

	Fórmula 50:50	Fórmula 60:40	Fórmula 70:30	Nursoy
Humedad	4.02	2.45	3.90	1.91
Proteína cruda	12.80	14.82	15.86	12.22
Grasa cruda	15.76	19.70	20.80	24.37
Carbohidratos	53.89	51.52	51.59	56.44
Cenizas	4.69	4.08	3.64	3.33
Fibra dietaria	8.84	7.43	4.21	1.73

En el Cuadro No. 5 se muestra la composición proximal de las fórmulas elaboradas, así como la comercial, se observa que con respecto al contenido de humedad de las muestras éstas que no presentaron ningún comportamiento o tendencia al variar la formulación, esto habla de que no se llevó un buen control durante el secado de las mismas. Sin embargo, todas se encuentran por debajo del 5% de humedad que es lo que se recomienda para productos en polvo.

En cuanto al contenido de proteína se observa que conforme aumenta la cantidad de pollo en las mezclas ésta va aumentando, a pesar de que en teoría el cálculo se había ajustado a un 14% de proteína. Estas variaciones pueden deberse a que los pollos con los que se elaboraron las fórmulas fueron diferentes a los pollos con los que se hizo el análisis proximal, ya que tanto el pollo como la papa se iban adquiriendo conforme se fueron necesitando, y no se partió de un solo pollo. Todas las fórmulas elaboradas presentaron mayor contenido de proteínas que la comercial, siendo de 12.22, aún cuando en la lata se reporta un valor de 14%.

En la grasa sucedió algo similar, ésta aumenta conforme el pollo se encontraba en mayor proporción en las fórmulas, la razón puede ser que como se sabe, entre los músculos de la carne se encuentra tejido graso, por lo que al aumentar la carne de pollo en las mezclas la grasa aumenta. La fórmula Nursoy tiene un mayor contenido de grasa que las elaboradas y por consiguiente mayor densidad calórica.

Ahora, contrariamente a lo ocurrido con los dos componentes anteriores, los carbohidratos fueron disminuyendo, lo cual era de esperarse ya que éstos fueron calculados por diferencia, y al aumentar la cantidad de proteína y de grasa en las fórmulas los carbohidratos disminuyeron. Sin embargo, se observa que ésta disminución es pequeña comparada al aumento que tuvieron las fórmulas en cuanto al contenido de proteínas y grasa; por ejemplo: el contenido de proteína en la primera fórmula (50:50) fue de 12.8% mientras que para la segunda (60:40) fue de 14.82, obteniéndose una diferencia aproximada de 2%; en el contenido de grasa la diferencia obtenida en las mismas fórmulas es de 3.94%; por tanto el aumento total fue de 5.96%. Ahora, analizando la disminución del contenido de

carbohidratos en estas fórmulas se observa que presentan una diferencia de 2.37%. Y recordando que los carbohidratos se calcularon por diferencia se hubiera esperado que el aumento total (proteína y grasa) hubiera sido igual o muy parecido a la disminución del contenido de carbohidratos; sin embargo, esto no sucedió debido al gran contenido de fibra que presentaron las fórmulas. Esto quiere decir que el contenido de fibra juega un papel determinante, diluyendo la cantidad de los demás componentes.

En el contenido de cenizas se observa que conforme disminuye la cantidad de papa en las mezclas, éstas disminuyen, lo cual era de esperarse ya que como se pudo observar en la composición química de las materias primas, la papa tiene mayor contenido de cenizas que las muestras de pollo. Por otro lado se observa que el contenido de cenizas en las fórmulas es mayor que en la comercial.

Al igual que en la cantidad de cenizas, el contenido de fibra dietaria de las fórmulas disminuye conforme la proporción de papa en ellas disminuye, debido a que la papa es un vegetal y por lo tanto tiene gran cantidad de fibra. La fórmula 70:30 es la que menor contenido de fibra presentó, pero éste valor aún está muy por encima del valor que recomienda la FAO para los alimentos de niños lactantes, que es del 2%. La única que cumple con esta recomendación es la fórmulas Nursoy.

El cuadro 6 muestra el contenido de aminoácidos indispensables, obtenido por cromatografía de intercambio iónico, de las fórmulas elaboradas y de la comercial. En las fórmulas elaboradas se ve una clara tendencia, mientras mayor proporción de proteína de pollo tienen, el contenido de aminoácidos en la fórmula se ve favorecido. Al comparar las fórmulas con la Nursoy se observa que por lo general las fórmulas elaboradas tienen un mayor contenido de aminoácidos

que ésta, sobre todo en el contenido de lisina, el cual es superado, hasta por la fórmula 50:50 que, entre las elaboradas, es la que menor contenido de lisina presenta. Este dato resulta curioso ya que al tratarse de una fórmula elaborada a partir de proteína de soya aislada se hubiera esperado que el contenido de lisina fuera mayor, y sin embargo, no resultó así. Lo que pudo haber sucedido es que la cantidad de lisina haya disminuido por algún tratamiento drástico que se le haya dado durante la obtención de la proteína aislada de soya, ya que en este proceso se lleva a cabo en varios pasos, en primer lugar se obtiene la harina de soya, posteriormente, se obtiene el concentrado de soya y, finalmente, se obtiene la proteína aislada de soya.

Por otro lado, el aminoácido que se encuentra en menor cantidad de las fórmulas elaboradas es el triptófano, la cantidad de éste en la fórmula 70:30 y la comercial es igual.

Cuadro No. 6  
Contenido de aminoácidos indispensables en las fórmulas elaboradas  
(g de aminoácido/16 g de N<sub>2</sub>)

Aminoácido	Fórmula 50:50	Fórmula 60:40	Fórmula 70:30	Nursoy	Patrón lactantes	Patrón preescolares
Isoleucina	3.61	4.23	4.72	4.84	4.6	2.8
Leucina	6.58	7.63	8.94	8.49	9.3	6.6
Lisina	6.40	7.62	11.65	2.45	6.6	5.8
Azufrados	4.48	4.89	5.89	2.41	4.2	2.5
Aromáticos	7.55	7.59	7.67	8.91	7.2	6.3
Treonina	4.27	5.37	5.81	4.12	4.3	3.4
Triptofano <sup>1</sup>	1.07	1.25	1.54	1.54	1.7	1.1
Valina	5.59	5.56	6.19	5.54	5.50	3.5
Histidina	1.95	2.65	4.80	2.57	2.6	1.9

<sup>1</sup> Triptofano se determinó por método químico empleando dimetilaminobenzaldehído.

Cuadro No. 7

Aminoácidos limitantes y calificaciones químicas de las fórmulas elaboradas y de la Nursoy

Fórmula	Aminoácido limitante	Calificación Química I		Calificación Química II	
		Lactantes	Preescolares	Lactantes	Preescolares
50:50	Triptófano	63.0	97.3	69.8	78.7
60:40	Triptófano	73.5	>100	72.3	82.3
70:30	Triptófano	90.6	>100	72.8	85.5
Nursoy	Lisina	37.7	42.8	42.3	35.8

Al obtener las calificaciones químicas de las fórmulas se observa, Cuadro No. 7, que, todas las fórmulas elaboradas coincidieron en tener al triptófano como limitante tanto en lactantes como en preescolares, excepto en la calificación I de las fórmulas 60:40 y 70:30 para preescolares en donde el valor es mayor a 100 lo que indica que todos los aminoácidos están por arriba de la cantidad del patrón.

En este caso, casi todas las calificaciones calculadas de la primera forma son mayores a las que se obtuvieron por el segundo método, excepto las calificaciones de la fórmula comercial para lactantes en donde la segunda calificación es mayor a la primera.

Por medio de esta tabla se puede confirmar que conforme aumenta la proporción de pollo en las fórmulas la calidad nutricional de éstas aumenta ya que la calificación de la última fórmula 70:30 es mayor que las calificaciones de las otras dos fórmulas. Comparando las fórmulas elaboradas con la fórmula comercial se observa que todas éstas presentaron mejores calificaciones que la comercial.

Para conocer si existía diferencia significativa entre las calificaciones químicas de las fórmulas se hicieron los análisis estadísticos (prueba de intervalos múltiples de Duncan) comparando entre las fórmulas, es decir se hicieron 3 análisis: uno para las calificaciones (I) para lactantes de las cuatro fórmulas, otro para las calificaciones (II) para lactantes y la última para las calificaciones (II) para preescolares; el análisis no se realizó para las calificaciones (I) para preescolares ya que se observa a simple vista que la única que es diferente es la fórmula comercial. En dichos análisis se observó que en la primera calificación química para lactantes todas las fórmulas resultaron ser diferentes entre sí. En los otros dos análisis se observa que la única fórmula que presenta diferencia significativa con todas las demás fue la fórmula Nursoy. Por lo que se puede decir, que la composición de aminoácidos de las fórmulas elaboradas es similar.

El aporte y distribución energética de las fórmulas se presentan en el Cuadro No. 8, así mismo se observan las recomendaciones que se hacen para este tipo de fórmulas. En primer lugar al comparar el aporte energético en kcal por 100 gramos de fórmula se observa que todas las fórmulas están por debajo de lo recomendado que es de 500 kcal, la que más se aproxima a dicho valor es la fórmula comercial con 494 kcal. Ahora, con respecto al porcentaje de energía aportado por parte de las proteínas se observa que las fórmulas elaboradas se encuentran dentro del rango establecido en las recomendaciones (10-15%), y que la fórmula Nursoy está ligeramente por debajo de dicha recomendación. En cuanto a la cantidad de grasas se observa que a excepción de la fórmula 50:50 todas las demás tienen un aporte mayor al recomendado. Este exceso de grasa en las fórmulas se relaciona directamente con el aporte de energía por parte de los carbohidratos ya que al haber mayor cantidad de grasa, los carbohidratos, que

fueron calculados por diferencia, no alcanzan a aportar toda la energía que se recomienda por parte de éstos; es por ello que la única fórmula que cumple tanto con la recomendación de grasa como con la de carbohidratos es la fórmula 50:50.

Cuadro No. 8

Aporte y distribución energética de las fórmulas elaboradas y la comercial

Fórmula	50:50	60:40	70:30	Nursoy	Recomendación
Aporte energético (kcal/100 g)	408.6	442.7	457.0	494.0	500
Proteína (%)	12.5	13.4	13.9	9.9	10-15
Grasa (%)	34.7	40.0	41.0	44.4	25-35
Carbohidratos (%)	52.8	46.6	45.1	45.7	50-60

La NOM-131-SSA1-1995 de Alimentos para Lactantes y Niños de Corta Edad, establece la cantidad de proteínas y de grasas en gramos por 100 kcal de producto, es por ello, que para poder compararlos a continuación se presentan dichos componentes para cada fórmula en gramos/100 kcal (Cuadro No. 9), en el que se observa que todas las fórmulas cumplen con lo establecido por la norma.

Cuadro No. 9

Aporte de proteínas y de grasa de las fórmulas elaboradas y de la comercial (g/100 kcal)

	Fórmula				NOM-131-SSA1-1995	
	50:50	60:40	70:30	Nursoy	Fórmulas para lactantes	Fórmulas de continuación
Proteínas*	3.13	3.35	3.74	2.47	Mínimo 1.8	Mínimo 3.0
Grasa	3.85	4.45	4.55	4.93	3.3 a 6	3 a 6

\* Con una relación de eficiencia proteínica (REF) mayor al 85% del de la caseína



Por último, al evaluar la calidad microbiológica tanto de las fórmulas elaboradas como de la comercial (Cuadro No.10), se observa que la cantidad de mesófilos aerobios y de coliformes encontrada en las fórmulas esta por debajo de los límites establecidos por la Norma Oficial Mexicana para alimentos para lactantes y niños de corta edad. Así mismo, en ninguna de ellas se encontró la presencia de microorganismos patógenos (*E. coli*, *Salmonella*, *S. Aureus*), ni la presencia de hongos y levaduras, lo cual nos refiere que las materias primas eran de buena calidad microbiológica y que durante la elaboración de las fórmulas no hubo fuente de contaminación alguna.

Cuadro No. 10  
Análisis Microbiológico

	FÓRMULA 1	FÓRMULA 2	FÓRMULA 3	Nursoy	NOM
Mesófilos aerobios	370 UFC/g	290 UFC/g	120 UFC/g	—	2500 UFC/g
Coliformes	15 NMP/g	11 NMP/g	4 NMP/g	—	20 NMP/g
<i>E. coli</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>Salmonella</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>S. aureus</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Hongos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Levaduras	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Finalmente, y para completar este trabajo se hizo un estudio de costos de las fórmulas elaboradas, para compararlo con el precio de la fórmula comercial. El precio de las fórmulas comerciales elaboradas con proteínas de soya o con hidrolizados de caseína se encuentran entre \$70 y \$100 pesos. La fórmula Nursoy es de las más económicas ya que en su presentación de 454 g tiene un precio de \$70.00, por lo que 100 g de ésta saldrían en \$15.42 pesos, mientras que como se

observa en el Cuadro No.11 el costo de materias primas de las fórmulas elaboradas es menor de \$5; y aunque en éste no se toman en cuenta los costos de: proceso, envase, comercialización, etc.; el costo de las materias no es muy alto, por lo que puede ser una buena opción en el caso de que en un futuro quisiera llegar a comercializarse el producto.

Cuadro No. 11

Costo de las Materias Primas de las Fórmulas Elaboradas

Materias Primas	Precio por kilo (\$)	Fórmula 50:50		Fórmula 60:40		Fórmula 70:30	
		Cantidad (g)	Precio (\$)	Cantidad (g)	Precio (\$)	Cantidad (g)	Precio (\$)
Pollo (%H= 60.52) <sup>1</sup>	35.00	16.65 (6.57) <sup>3</sup>	0.58	22.80 (9.0)	0.80	33.53 (13.24)	1.17
Papa (%H= 75.81) <sup>2</sup>	6.00	71.68 (296.32) <sup>4</sup>	1.77	65.19 (269.49)	1.62	48.28 (199.57)	1.19
Aceite	10.00	9.59	0.10	12.0	0.12	16.09	0.16
Lecitina de soya	13.80	1.0	0.10	1.0	0.01	1.0	0.01
Lactato de calcio	52.00	1.0	0.05	1.0	0.05	1.0	0.05
Goma Xantana	140.00	0.06	0.01	0.06	0.01	0.06	0.01
Palmitato de ascorbilo	52.90	0.01	<0.01	0.01	<0.01	0.01	<0.01
TOTAL		100 <sup>5</sup>	2.52	100 <sup>5</sup>	2.61	100 <sup>5</sup>	2.59
Producto seco final <sup>6</sup>		60		60		60	
COSTO de 100 g			4.20		4.33		4.32

1 Porcentaje de humedad del pollo.

2 Porcentaje de humedad de la papa.

3 Peso del pollo en base seca.

4 Peso de la papa cocida húmeda, con el cual se calculó el costo de la papa, ya que en el mercado se adquiere húmeda.

5 Suma de materias primas antes del secado tal como se utilizaron en la elaboración de las fórmulas (pollo cocido húmedo y harina de papa cocida).

6 Es la cantidad de producto que salió del aspersor después del proceso de secado, es decir, el rendimiento de este proceso. Los 40 gramos (40%) que se perdieron corresponden a la eliminación de agua del pollo cocido, y a las mermas debidas al producto adherido en las paredes del aspersor y la cantidad de licuado que se quedaba tanto en la manguera de alimentación como en el vaso donde se calentaba el licuado.

## 6. CONCLUSIONES

- Las materias primas presentaron las características adecuadas para la elaboración de las fórmulas, ya que de acuerdo al análisis proximal realizado a estas materias acondicionadas, se concluye que el pollo es una fuente rica de proteínas y que la papa es una fuente rica de carbohidratos.
- Debido a que la principal fuente de carbohidratos de la papa es el almidón, es recomendable dar estas fórmulas a niños mayores de seis meses, ya que es, a partir de ésta edad, que los niños empiezan a sintetizar la amilasa pancreática que es la enzima responsable de la hidrólisis del almidón.
- El pollo presentó mayor cantidad de aminoácidos que la papa, aunque al obtener las calificaciones químicas se observa un mejor balance en la papa. Sin embargo, la proteína de la papa no es tan digerible como la del pollo debido a que presenta un contenido de fibra dietaria mayor.
- La única fórmula que cumplió con la distribución energética recomendada fue la fórmula pollo-papa 50:50, sin embargo, fue la que menor contenido energético presentó.
- Ninguna de las fórmulas cumplió con el aporte energético recomendado para este tipo de productos que es de 500 kcal por 100 gramos de fórmula, los valores fueron ligeramente inferiores.
- La calidad nutricional de las fórmulas aumentó a medida que se incrementaba la proporción de pollo en las mismas.

- Las fórmulas elaboradas resultaron ser de mejor calidad que la fórmula comercial, la cual a pesar de contener proteína de soya presentó deficiencia en lisina.
- Todas las fórmulas tienen una buena calidad higiénica ya que la presencia de microorganismos se encuentra por debajo de los límites establecidos por la NOM-131-SSA1-1995 para alimentos infantiles.
- Se obtuvieron tres fórmulas en polvo de color amarillo pálido, que, para su consumo, tienen que ser reconstituídas, disolviéndolas en agua; en cuanto al sabor y el olor de las mismas predominan el olor y el sabor de la papa sobre el pollo.
- Estas mezclas pueden ser administradas en comunidades rurales, ya que las materias primas son accesibles y la elaboración de las mezclas es muy sencilla, consistiendo en la cocción y licuado de ambas materias primas en las cantidades adecuadas. De esta manera se obtiene un producto de buena calidad nutricional que puede ayudar a muchos niños con intolerancia a la lactosa o en estado de desnutrición.
- La mejor fórmula fue la de pollo-papa 70:30 ya que además de ser la de mejor calidad nutricional el costo de las materias primas para su elaboración es casi igual al de las otras dos fórmulas.

## 7. RECOMENDACIONES

- Para disminuir la cantidad de fibra en las fórmulas se recomendaría disminuir la cantidad de papa en las fórmulas y adicionar a estas un poco de dextrinas como fuente de carbohidratos, ya que éstas son carbohidratos más fáciles de digerir por los niños que el almidón presente en la papa; cuidando que el contenido de proteína no disminuya.
- Realizar pruebas biológicas y de digestibilidad para ver si realmente las fórmulas son aprovechadas por el organismo adecuadamente.
- Analizar la cantidad de vitaminas y minerales que contienen las fórmulas para determinar si es necesario agregar mezclas de éstos.
- Realizar pruebas físicas y sensoriales a las fórmulas, para mejorar su solubilidad, su estabilidad y su sabor.

## ANEXO I

### ANÁLISIS PRÓXIMAL

#### HUMEDAD

##### Fundamento :

Esta determinación se basa en la pérdida de humedad de una muestra cuando se aplica calor. Si ésta se realiza a presión reducida, el punto de ebullición del agua se abate y es menor el daño que sufre la muestra por efecto de la temperatura.

(AOAC,1990; Winton, 1967)

##### Material:

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

##### Procedimiento:

Se pone a peso constante la charola de aluminio donde se va llevar a cabo la determinación, colocándola en la estufa de vacío a 60-65°C de 2 a 4 horas aproximadamente. Una vez que está a peso constante, se pesan de 2 a 5 gramos de muestra y se introduce la charola en la estufa de vacío a 60-65°C durante un tiempo aproximado de 4 hrs. Posteriormente, se saca la charola y se coloca en un desecador donde se deja enfriar hasta llegar a temperatura ambiente para pesarla. El procedimiento anterior se repite hasta 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)

## CENIZAS

Fundamento:

Las cenizas forman el residuo inorgánico que queda después de una incineración de la materia orgánica del alimento, por lo cual se puede cuantificar mediante una diferencia de pesos después de haber realizado la incineración. (AOAC,1990; Winton, 1967)

Material:

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

Procedimiento:

Poner los crisoles a peso constante colocándolos en la mufla a una temperatura de 500 – 550°C. Una vez que están a peso constante se pesan de 2 a 3 g de muestra aproximadamente, se ponen a carbonizar a la flama de un mechero hasta que ya no desprendan humo, luego se introducen en la mufla la cual debe

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

encontrarse entre 500-550°C durante el tiempo necesario (2 hrs. o más) para obtener cenizas blancas o grises homogéneas. Se dejan enfriar los crisoles, se colocan en un desecador y ya que están a temperatura ambiente se pesan. Es recomendable subir la temperatura en forma gradual para que los crisoles no se dañen.

Cálculos:

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

Donde:

$P_f$  = Peso del crisol con las cenizas (g)

$P_o$  = Peso del crisol vacío y a peso constante (g)

$m$  = Peso de la muestra (g)

## PROTEÍNA CRUDA

Fundamento:

Esta determinación se realiza mediante el método de Kjeldahl, el cual se basa en la oxidación de la materia orgánica mediante una mezcla digestiva ( $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$ ,  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ ) formándose una sal fija de sulfato ácido de amonio ( $NH_4HSO_4$ ) con el nitrógeno de la muestra. Posteriormente se realiza una destilación durante la cual se libera el amoniaco de dicha sal mediante la adición de NaOH al 60% que se fija en una solución de ácido bórico, formándose borato de amonio el cual se titula con una solución valorada de ácido clorhídrico. De ésta forma se obtiene el porcentaje de nitrógeno en la muestra el cual al multiplicarlo por un factor, nos da el porcentaje de proteína cruda. (AOAC,1990; Winton, 1967)



### Material y reactivos:

- Digestor TECATOR MOD. ab-20/40
- Dispositivo de microdestilación LABCONCO
- 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 60%
- Solución de ácido bórico 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 que esté bien disuelta la sal, adicionar con cuidado y resbalando por las paredes 430 ml de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Se agita la mezcla durante 30 minutos aproximadamente.

(b) Solución de ácido bórico con indicadores: Se pesan 5 g de ácido bórico y se colocan en un matraz aforado de un litro, se adiciona agua destilada hasta disolver el ácido y se agregan 35 ml del indicador A (100 mg de fenolftaleína aforados a 100 ml con alcohol etílico) y 10 ml del indicador B (33 mg de verde bromo cresol más 66 mg de rojo de metilo aforados a 100 ml con alcohol etílico). Se ajusta el color a un tono café rojizo con ácido o álcali según se requiera y se afora a un litro con agua destilada.

### Procedimiento:

Pesar de 20 a 80 mg de muestra, dependiendo de la cantidad de proteína que contenga la misma y colocarla en el tubo de digestión, agregar 0.5 g de sulfato de potasio y 3 ml de mezcla digestiva. Colocar el tubo en el digestor a  $370^\circ\text{C}$  durante

15 min. Después de ello, sacar el tubo del digestor, dejar enfriar y adicionar 1.5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y colocar nuevamente en el digestor que se encuentra a 370°C. Se considera que la digestión se termina cuando el tubo no muestra manchas ni puntos negros y la mezcla de digestión es transparente.

Una vez realizada la digestión se deja enfriar el tubo y se procede a realizar la destilación en el microdestilador, para ello se le adicionan 25 ml de agua destilada al tubo donde se llevó a cabo la digestión y se introduce en el equipo. Una vez que el equipo terminó la destilación y la titulación, indica la cantidad en mililitros de HCl que utilizó para titular la muestra problema.

Cálculos:

Es conveniente realizar un blanco donde se sustituya la muestra por el equivalente en peso de glucosa o sacarosa trabajándose en la misma forma, con el fin de medir cualquier contribución de los reactivos al destilado.

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

$$\% \text{ Proteína cruda} = N_2 \times 6.25$$

Donde:

P = ml de la titulación de las muestras

B = ml de la titulación del blanco

N = normalidad de la solución de HCl

meq = miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

m = peso de la muestra (g)

## GRASA CRUDA

### Fundamento:

Esta determinación se basa en la solubilidad de las grasas en éter etílico el cual al calentarse se volatiliza y al hacer contacto con una superficie fría se condensa pasando a través de la muestra arrastrando consigo sustancias solubles en el éter. Finalmente el éter se evapora y en el vaso queda el residuo conocido como grasa cruda. (AOAC,1990; Winton, 1967)

### 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 de petróleo RA

### Procedimiento:

Se colocan de 2 a 5 g de muestra seca dentro de un cartucho de celulosa y se tapa con un pedazo de algodón. El cartucho se coloca en el porta dedal y éste a su vez en el seguro metálico del aparato. A continuación se agregan 50 ml aproximadamente del disolvente (éter de etílico) en el vaso esmerilado puesto previamente a peso constante y éste, con la ayuda de un anillo metálico con rosca, se coloca en el aparato de extracción. Se sube la parrilla hasta que quede en contacto con el vaso, se abre la válvula del agua para que ésta circule sobre los refrigerantes y se procede a un calentamiento moderado que permita un período de extracción de 8 hrs aproximadamente.

Una vez transcurrido el tiempo de extracción, se baja la parrilla de calentamiento, se retira el porta dedal 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 tubo recuperador.

Una vez que el vaso está libre del disolvente, se coloca en la estufa de vacío a una temperatura de 60-65°C durante 2 hrs., se deja enfriar en el desecador hasta temperatura ambiente, se pesa y se repite la operación anterior hasta que el vaso está a peso constante.

Cálculos:

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

Donde:

$P_f$  = Peso del vaso con el extracto etéreo (g)

$P_o$  = Peso del vaso a peso constante (g)

$m$  = Peso de la muestra en gramos (g)

### GRASA MÉTODO GERBER

Este método no pertenece a lo establecido por el esquema de Weende, sin embargo, fue necesario emplearlo para la determinación del contenido de grasa de la muestra de leche de soya comercial.

Fundamento:

Es un método volumétrico en el que se utilizan recipientes especiales llamados butirómetros, en donde por fuerza centrífuga se produce la ruptura de la emulsión, en este caso la leche, utilizando ácido sulfúrico, logrando así la

separación de la grasa para su posterior medición con la ayuda de la escala del mismo butirómetro. Para favorecer la ruptura de la emulsión, se utiliza alcohol isoamílico que disminuye la tensión interfacial de la grasa, también propicia la separación de la misma y previene la sulfonación y la carbonización.

Material y reactivos:

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

Procedimiento:

En un butirómetro de Gerber transferir 10 ml de ácido sulfúrico para Gerber (a no más de 15°C); pesar 1.5 g de muestra y colocarlos en el butirómetro, agregar 1 ml de alcohol isoamílico y finalmente insertar el tapón y sujetar el butirómetro por el cuello, agitando los líquidos (totalmente) con el tapón hacia arriba.

Una vez que el polvo se haya disuelto por completo continuar la agitación 10 ó 15 segundos más para asegurar la digestión. Al finalizar la agitación mezclar el ácido remanente en el cuello invirtiendo el butirómetro varias veces.

Colocar el butirómetro invertido y centrifugar a 1000 rpm durante 5 minutos, pasado este tiempo sacar el butirómetro (utilizando un trapo) y tomar la lectura en la escala del butirómetro del nivel de la grasa que contiene la muestra.

## FIBRA DIETARIA

La fibra dietaria, al igual que la determinación de grasa por el método de Gerber, no pertenece al esquema de Weende, sin embargo, la información obtenida con la fibra dietaria resulta de mayor utilidad para los propósitos de este trabajo que la información obtenida con la fibra cruda.

### Fundamento:

Esta determinación se basa en la digestión de la muestra desengrasada con enzimas como amilasas y proteasas para remover la proteína y el almidón presente. La fibra se precipita con etanol y se filtra y la fibra dietaria total es el peso del residuo menos el peso de la proteína y las cenizas.

### Material y reactivos:

- Kit de fibra dietaria SIGMA TDF-100 A para determinación de fibra dietética que cuenta con las siguientes enzimas:  $\alpha$ -amilasa (No. A3306), amiloglucosidasa (No. A9913), proteasa (No. P3910)
- Crisoles Pirex para fibra de porosidad #2-c (ASTM 40-60)
- Crisoles de porcelana
- Tubos de digestión TECATOR de 25 ml
- Matraces Erlenmeyer 250 ml
- Micropipetas
- Estufa de vacío LAB-LINE mod. 3620
- Digestor TECATOR mod. ab-20/40
- Dispositivo de destilación TECATOR mod. 1030
- Mufla TERMOLYNE mod. 1500
- Baño de agua a 60 y 90°C con agitación
- Balanza analítica
- Desecador
- Parrilla de calentamiento
- Potenciómetro CORNING mod. 430, ajustado a pH 4 y pH 7

- Celite libre de enzimas (SIGMA No. C8656)
- Etanol al 95%
- Etanol RA
- Acetona RA
- Buffer de fosfatos pH 6
- HCl 0.325N
- NaOH 0.275N

#### Preparación de la muestra:

Si el contenido de grasa de la muestra es mayor a 10%, desengrasar con éter de petróleo. La muestra debe tener un tamaño de 3 a 5 mm.

#### Preparación de los crisoles:

Se lavan y se calientan durante una hora a 525°C y se dejan enfriar. Se pesan 0.5 g de celita en cada crisol y se secan a 130°C hasta peso constante (una hora o más). Dejar enfriar en un desecador y pesar. (peso de celita + crisol)

#### Procedimiento:

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 en cuadruplicado para obtener duplicados de proteína y cenizas.

Pesar en cada matraz 1 g de muestra a analizar. El peso de las muestras no debe diferir por más de 20 mg, registrando los pesos hasta décimas de mg. Añadir 50 ml de buffer de fosfatos a pH 6 y 0.1 ml de  $\alpha$ -amilasa termorresistente a cada matraz y mezclar bien. Cubrir cada matraz con papel aluminio y colocarlos en un baño de agua hirviendo, agitando los matraces a intervalos de 5 minutos durante

15 minutos, contados a partir de que la temperatura interna de los matraces alcance 90°C.

Dejar que las soluciones se enfríen a temperatura ambiente y ajustar el pH de las soluciones a  $7.5 \pm 0.2$  añadiendo 10 ml de NaOH 0.275 N a cada matraz. Revisar el pH, ajustando 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) a cada matraz, cubrirlos 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. Dejar enfriar las soluciones a temperatura ambiente y ajustar el pH de las soluciones a un pH 4.0-4.6, agregando 10 ml de HCl 0.325 N a cada matraz. Revisar el pH, ajustando de ser necesario con NaOH o HCl.

Después añadir 0.3 ml de amilogucosidasa y colocar el papel aluminio a cada matraz, se ponen en baño a 60°C, con agitación continua durante 30 minutos después de que la temperatura interna alcance 60°C. Una vez transcurrido dicho tiempo añadir 40 ml de etanol al 95% a cada matraz y dejar la solución durante la noche a temperatura ambiente para lograr la precipitación total.

Para el proceso de filtración se debe mojar y redistribuir la cama de celita en cada crisol usando etanol al 78%. Aplicar succión y mantenerla mientras se transfiere cuantitativamente el precipitado y la suspensión de cada matraz a su respectivo crisol. Posteriormente lavar el residuo con 3 porciones de 20 ml de etanol al 78%, 2 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 líquido; para evitarlo se puede romper la película superficial con una



espátula, y así acelerar la filtración, asegurándose de remover cualquier material adherido a la espátula. El tiempo de filtración varía de 0.1-6 horas por crisol, siendo el promedio de 0.5 horas por crisol. Dejar secar los crisoles que contienen los residuos durante la noche en un horno a 105°C o a 70°C en una estufa de vacío, enfriarlos en un desecador, pesar a 0.1 mg y registrar este peso como “residuo + celite + peso del crisol”. Finalmente analizar 2 residuos de muestras y blancos para proteína por kjeldahl, usando 6.25 como el factor para convertir el amoníaco determinado en el análisis de la proteína excepto en donde el contenido de nitrógeno de la muestra es conocido; finalmente, obtener las cenizas de los 2 residuos restantes de las muestras y blanco por 5 horas a 525°C. Enfriar en desecador, pesar a 0.1 mg y registrar este peso como “cenizas + celite + crisol”.

Cálculos:

$$\text{Peso de las cenizas} = \text{PCCC} - \text{PCC}$$

$$\text{Blanco} = \text{PPRB} - \text{PPBP} - \text{PPCB}$$

$$\% \text{ Fibra dietaria total} = \frac{\text{PPRM} - \text{PPPM} - \text{PPCM} - \text{blanco}}{\text{PPM}} \times 100$$

Donde:

PCCC = Peso de cenizas + celita + crisol (mg)

PCC = Peso de celita + crisol (mg)

PPRB = Promedio del peso del residuo del blanco (mg)

PPBP = Promedio del peso del blanco de proteína (mg)

PPCB = Promedio del peso de las cenizas del blanco (mg)

PPRM = Promedio del peso del residuo de la muestra (mg)

PPPM = Promedio del peso de la proteína de la muestra (mg)

PPCM = Promedio del peso de las cenizas de la muestra (mg)

PPM = Promedio del peso de la muestra (mg)

## CARBOHIDRATOS ASIMILABLES

### Fundamento:

Este concepto comprende a los carbohidratos asimilables y digeribles para el hombre como son azúcares, almidones y derivados.

### Cálculos:

Este dato se obtiene en forma teórica por diferencia al restar al 100% el resultado de la suma de los porcentajes de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra dietaria de la muestra.

## ANEXO II

### DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS

#### Fundamento:

Para la determinación de aminoácidos, excepto el triptófano se lleva a cabo una hidrólisis ácida con la finalidad de romper los enlaces peptídicos de la proteína y liberar los aminoácidos que las componen. Posteriormente se hace la separación de éstos pasándolos por una resina de intercambio iónico, en donde la separación se basa en la polaridad eléctrica de los aminoácidos (cromatografía de intercambio iónico), al ser separados se hacen reaccionar con ninhidrina para formar un complejo colorido que permite cuantificar colorimétricamente la cantidad de cada aminoácido en la muestra. En el caso del triptófano se lleva a cabo una hidrólisis alcalina, ya que éste es destruido durante la hidrólisis ácida que se hace para todos los demás aminoácidos. (Lucas y col., 1982; Moore y col., 1963).

#### 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 XX300 12-00
- Membrana Millipore tipo HATF-02500 (poro 0.45 M)
- Micro-jeringa HAMILTON, mod. 1001-LTN
- Tubos de cultivo de pared gruesa con tapón de rosca y cubierta de teflón PYREX No. 9826
- Ácido clohídrico 6N

- Metil-celósolve al 50%
- Amortiguador de acetato de sodio 0.4N (a)
- Sulfato de hidracina (b)
- Ninhidrina (c)
- Solución lavadora (d)
- Amortiguador de dilución (e)
- Amortiguadores de acetatos para regeneración y elución (f)
- Hidróxido de sodio 0.1N
- Hidróxido de litio 4N

#### Preparación de reactivos:

(a) Amortiguador de acetato de sodio 0.4N: Colocar aproximadamente 3 litros de agua destilada en un dispositivo de agitación, adicionar lentamente 1, 312 g de acetato de sodio anhidro para prevenir la cristalización, si se requiere se puede calentar para la completa solubilización de la sal. Una vez fría la solución se le añade 400 ml de ácido acético glacial lentamente y se deja enfriar. Por último se lleva a un aforo de 4 litros.

El pH de este amortiguador debe ser de  $5.51 \pm 0.02$ ; si se requiere ajustar se debe usar álcali o ácido concentrado ya que 4 g de NaOH apenas incrementan dicho amortiguador en 0.04 unidades de pH.

(b) Sulfato de hidracina: Se disuelven en agua destilada y desionizada 1.049 g de sulfato de hidracina, a continuación se adicionan 0.4 ml de ácido sulfúrico concentrado (R. A.) y 30 ml de solución BRIJ-35 al 20% y se lleva esta solución a un volumen de 4 litros; para su conservación se requiere agregar 0.8 ml de ácido caprílico.

- (c) Ninhidrina: Disolver 40 g de ninhidrina en 2 litros de metil-celolve, a continuación adicionar lentamente 1 litro del amortiguador de acetato de sodio 0.4N. Por último se lleva a un volumen de 4 litros.
- (d) Solución lavadora: Agua-etanol (3:1 v/v) con hidroquinona al 0.01% como agente antioxidante.
- (e) Solución amortiguadora: Se prepara una solución de ácido clorhídrico 0.2N (A) y una solución de cloruro de sodio 0.2M (11.69 g/l) (B). Se toman 50 ml de (A) y 33.3 ml de (B), se lleva a 200 ml con agua destilada y adicionando 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 la preparación de NaOH 0.2N. 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, después se adicionan los reactivos líquidos y 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 1 litro y se agregan unas gotas de ácido caprílico para romper la espuma. Finalmente se agrega la cantidad especificada de ácido caprílico y se vacía el amortiguador a su recipiente.

TABLA 1. Cantidades para preparar soluciones amortiguadoras

REACTIVO	BUFFER 1	BUFFER 2	BUFFER 3	NaOH 0.2N
Acetato de sodio	4.1 g	5.0 g	87.0	—
Ácido acético glacial	20.0 ml	15.0 ml	20.0 ml	—
Solución acetato de zinc	—	0.6 ml	2.0 ml	—
Etanol absoluto	78.0 ml	78.0 ml	—	—
Alcohol bencílico	—	—	11.0 ml	—
Hidroquinona	0.11 g	0.11 g	—	—
Solución 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 < 1ppm Na	1.0 L	1.0 L	1.0 L	1.0 L
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 presente análisis de aminoácidos, tanto para el análisis de aminoácidos como el de triptófano:

Condiciones físicas	Aminoácidos	Triptófano
Tamaño de la columna	470 X 4 mm	286 X 5 mm
Altura de empaque de la columna	420 mm ± 5	250 + 5 mm
Temperatura de la columna	60°C ± 0.1	55 + 0.5°C
Velocidad de flujo de amortiguadores	0.6 ml/min	0.62 ml/min
Velocidad de flujo de ninhidrina	0.8 ml/min	0.80 ml/min
Velocidad de flujo de sulfato de hidracina	0.6 ml/min	0.60 ml/min
Velocidad de flujo de nitrógeno	0.32 ml/min	0.60 ml/min
Velocidad de flujo sobre el colorímetro	0.6 ml/min	0.32 ml/min
Temperatura del baño de reacción	89°C ± 0.5	89 + 0.5°C
Sensibilidad del registrador	2.5 U	2.5 U
Velocidad de la carta	3.0 mm/min	3.0 mm/min

Programa:

PASO	TIEMPO (min.)	CARACTERIZACIÓN
1	2	Amortiguador #1, metil-celosolve
2	6	Amortiguador #2, metil-celosolve
3	70	Amortiguador #2, ninhidrina, registrador
4	80	Amortiguador #3, ninhidrina, registrador
5	8	NaOH 0.2N, ninhidrina, registrador
6	2	NaOH 0.2N, metil-celosolve, registrador
7	6	Amortiguador #1, metil-celosolve registrador
8	2	Amortiguador #1, metil-celosolve. Apagar registrador
9	16	NaOH 0.2N, metil-celosolve
10	30	Amortiguador #1, metil-celosolve

NOTA: En todos los pasos hay flujo de sulfato de hidracina.

Procedimiento:

#### HIDRÓLISIS ÁCIDA TEMPERATURA ALTA TIEMPO CORTO:

Se pesa dentro del tubo de hidrólisis la muestra finamente molida y desengrasada cuando el contenido de grasa sea mayor a 5%. A continuación, se adiciona con mucho cuidado la cantidad de ácido requerida, tratando de que toda la muestra se humedezca con el reactivo de hidrólisis; de ser necesario para lo anterior se puede ayudar con un agitador mecánico (Vortex). Los cálculos para conocer la cantidad de muestra a pesar, así como la cantidad de ácido para la hidrólisis se muestran a continuación:

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

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

Donde:

A = Cantidad de muestra (g)

B = ml de ácido HCl 6N

% P = Porcentaje de proteína en la muestra

Una vez pesada la muestra con la cantidad de ácido correspondiente, se le insufla nitrógeno durante 30 segundos aproximadamente, se cierra perfectamente con el tapón de rosca para evitar fugas. El material se somete a la hidrólisis a una temperatura de  $145^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , durante 4 horas contadas a partir del momento en que el tubo se coloca en el digestor.

Una vez transcurrido este tiempo, se enfría un poco el tubo y se trasvasa cuantitativamente a un matraz de bola de 100 ml, dándole algunas lavadas al tubo con agua caliente y solución lavadora, también se agregan 5 ml de norleucina (estándar interno). Se lleva a sequedad en el rotavapor para eliminar el exceso de ácido clorhídrico, a continuación se trasvasa el contenido a un vaso de precipitado, enjuagando el matraz con solución lavadora (15 ml aproximadamente). Se neutraliza el hidrolizado hasta obtener un pH de  $6.8 \pm 0.2$  y se filtra sobre el papel de filtración rápida en un buchner con ayuda de vacío, lavando el residuo con solución lavadora caliente. Al hidrolizado ya filtrado se afora a 25 ml con agua desionizada, si no se utiliza inmediatamente se debe poner en un recipiente, etiquetar y congelar hasta su uso.

Para inyectar el hidrolizado en el autoanalizador, se diluye con el amortiguador de dilución (1:1), se filtra a través de la membrana Millipore, descartando las primeras cinco gotas del filtrado y finalmente se inyecta en el autoanalizador en una cantidad de 100 a 200  $\mu\text{l}$ .



## CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS:

Previamente hay que correr una solución estándar de aminoácidos que contenga 0.025  $\mu\text{m}$  de cada uno, para poder obtener el área de cada uno de los aminoácidos en cada aminograma.

Además, tanto en el estándar como en cada corrida del hidrolizado se debe inyectar una cantidad constante del aminoácido sintético norleucina (estándar interno), para poder hacer los cálculos en base a los llamados equivalentes de norleucina de cada uno de los aminoácidos:

$$\text{EN}_{\text{aa}} = \frac{\text{AN}_{\text{std}}}{\text{AA}_{\text{std}}}$$

Donde:

EN aa = Equivalente de norleucina del aminoácido correspondiente

AN std = Área de norleucina del estándar

AA std = Área del aminoácido correspondiente en el estándar

Del aminograma del hidrolizado de la muestra, se calcula el área bajo la curva de cada uno de los aminoácidos, así como el área de norleucina en el correspondiente aminograma; para lo anterior es conveniente trabajar con la mitad superior de cada uno de los picos, para no tener problemas con la línea base que a veces es muy irregular. A continuación se muestran los cálculos que se deben desarrollar para cada uno de los aminoácidos, en donde se expresa su contenido en g del aminoácido por 10 g de nitrógeno en la muestra.

$$\text{Aaa} = \text{Baa} \times \text{haa}$$

$$\text{g}_{\text{aa}} / 16 \text{ g N} = \frac{\text{Aaa} \times \text{Enaa} \times \mu\text{m std} \times \text{Pmaa} \times \text{A} \times 0.016}{\text{Anm} \times \text{a} \times \text{mgNm}}$$

Donde:

Aaa = área del aminoácido en el aminograma de la muestra.

Baa = Base a la mitad del pico.

haa = Altura del pico desde la línea base.

Enaa = Equivalente de norleucina del aminoácido correspondiente.

$\mu\text{m std}$  =  $\mu\text{moles}$  del aminoácido en el estándar.

Pmaa = Peso molecular del aminoácido.

A = Aforo al que se llevó el hidrolizado (ml)

Anm = Área de norleucina en el aminograma de la muestra.

a = Alícuota inyectada (ml)

mgNm = Miligramos de nitrógeno de la muestra hidrolizada.

#### HIDRÓLISIS ALCALINA PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIPTOFANO:

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

$$\text{mg de muestra} = \frac{10000}{\% \text{Proteína}}$$

A continuación se le adiciona con mucho cuidado la cantidad de álcali necesaria, cuidando de no salpicar la muestra en la pared del tubo, y agitando vigorosamente para evitar que alguna parte de la muestra no se humedezca.

$$\text{ml de álcali} = \frac{400}{\% \text{ proteína}}$$

Una vez que se agregó el álcali a la muestra, se le insufla nitrógeno durante 30 segundos aproximadamente, se cierra bien el tubo y se coloca en el digestor que

debe estar a 145°C. El tiempo de hidrólisis va 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

Transcurrido el tiempo de hidrólisis se deja enfriar el tubo, y se trasvasa cuantitativamente a un matraz de bola de 100 ml, dándole algunas lavadas al tubo con agua caliente y solución lavadora. Se lleva a sequedad en el rotavapor (75-80°C) para eliminar el exceso de hidróxido de litio, a continuación se trasvasa el contenido a un vaso de precipitado, enjuagando el matraz con solución lavadora (15 ml aproximadamente). Se neutraliza el hidrolizado con ácido ortofosfórico y se filtra sobre el papel de filtración rápida en un buchner con ayuda de vacío, lavando el residuo con solución lavadora caliente. Al hidrolizado ya filtrado se le mide el pH que debe ser 6.8+ 0.2 y se afora a 25 ml.

Para inyectar el hidrolizado en el autoanalizador se filtra a través de la membrana Millipore, descartando las primeras cinco gotas del filtrado y finalmente se inyecta en el autoanalizador una cantidad de 100 a 200 µl.

#### CÁLCULOS PARA TRIPTÓFANO:

Previamente hay que correr una solución estándar que contenga 0.025 µm de triptófano, para poder obtener el área de referencia con el que se comparará el área de la muestra. Con la siguiente fórmula se calcula de cantidad de triptófano en la muestra:

$$\text{mg triptófano/g N}_2 = \frac{A_m \times \mu\text{M} \times \text{P.M.} \times A}{A_{\text{std}} \times a \times \text{gN} \times 10^3 \text{ m}}$$

Donde:

$A_M$  = Área del triptófano en la muestra ( $\text{cm}^2$ )

$\mu M_{STD}$  = Concentración del estándar de triptófano ( $\mu\text{mol/L}$ )

P.M. = Peso molecular del triptófano ( $\text{g/mol}$ )

A = Aforo del hidrolizado (mL)

$A_{STD}$  = Área del triptófano en el estándar ( $\text{cm}^2$ )

a = Alícuota inyectada en el autoanalizador (mL)

gN = Gramos de nitrógeno de la muestra hidrolizada (g)

Los gramos de nitrógeno se calculan de la siguiente manera:

$$\text{g de nitrógeno} = P_m \times \frac{\%P}{100} \times \frac{16 (\text{gN})}{100(\text{g de prot})}$$

Donde:

$P_m$  = Peso de la muestra (g)

$\%P$  = Porcentaje de proteína de la muestra

## DETERMINACIÓN DE TRIPTÓFANO POR EL MÉTODO QUÍMICO

Fundamento:

Debido a que la hidrólisis ácida utilizada generalmente para la determinación de aminoácidos en una proteína, destruye completamente al triptófano se realiza una hidrólisis alcalina de la proteína que no lo daña y una vez que éste es liberado se hace reaccionar con el reactivo de Erlich (p-dimetil-aminobenzaldehído en medio ácido) que produce un compuesto colorido, cuya intensidad es proporcional al contenido del aminoácido en la proteína (Lucas y col., 1982)

### 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
- Hidróxido de litio 4N
- Solución lavadora agua-etanol (3:1)
- Ácido ortofosfórico concentrado
- Solución estándar de triptófano (50 g/ml)
- Ácido clorhídrico concentrado
- Solución de p-dimetil-aminobenzaldehído al 0.5% en HCl conc.
- Nitrito de sodio al 0.2%

### Procedimiento:

La hidrólisis alcalina es igual que la descrita para la determinación de triptófano por cromatografía.

Se toman 3 alícuotas de 2 ml del hidrolizado (aforado a 25 ml) cada una (uno de los tubos será el blanco), se adiciona a uno de los tubos 7.5 ml de ácido clorhídrico concentrado, mientras que a los otros dos se les adiciona 7.5 ml de DMAB (p-dimetil-aminobenzaldehído en medio ácido), se agitan y se dejan en reposo en oscuridad durante 15 minutos.

Una vez transcurrido este tiempo, se les adiciona 0.5 ml de nitrito de sodio, se agita y nuevamente se deja en la obscuridad por 15 minutos más para que desarrolle la coloración y finalmente se leen en el espectrofotómetro a 590 nm, usando el tubo del blanco par ajustar a cero el aparato.

Se corre al mismo tiempo una curva estándar de triptófano de 0 100 µg, tomando alícuotas de 0.0, 0.4, 0.8, 1.0, 1.6 y 2.0 ml de la solución estándar de triptófano y llevando cada tubo a 2.0 ml con agua destilada.

Cálculos:

El contenido de triptófano se reportará como g de triptofano en 100 g de proteína (16 g de nitrógeno) en la muestra.

$$\text{g de triptofano/100 g de proteína} = \frac{t \times A \times 10}{a \times m \times \%P}$$

Donde:

t = g de triptófano obtenidos por interpolación

A = aforo

a = alicuota

m = cantidad de muestra (mg)

% P = porcentaje de proteína en la muestra

## ANEXO III

### CONTENIDO ENERGÉTICO

El contenido energético puede ser calculado teóricamente a partir de la cantidad de proteína, grasa y carbohidratos presentes en un alimento, de acuerdo a los factores de Atwater, en donde por cada gramo de proteína se generan 4 kcal, al igual que por cada gramo de carbohidratos y por cada gramo de grasa se obtienen 9 kcal.

### CALIFICACIÓN QUÍMICA

Fundamento:

Es un método químico de evaluación biológica de una proteína que se basa en señalar la cantidad del aminoácido indispensable que esta en mayor deficiencia en la proteína en estudio, al compararla con el nivel presente de una proteína de referencia (Cornejo, 1989).

Existen dos maneras de calcular la calificación química, en la primera se toman en cuenta el total de aminoácidos indispensables, tanto del patrón como de la proteína problema; y en el segundo no, solo se hace una relación para conocer en qué porcentaje se encuentra el aminoácido de la proteína problema con respecto al aminoácido del patrón.

Cálculos:

$$\text{Calificación química} = \frac{A_x E_e}{A_e E_x} \times 100$$

Donde:

Ax = g de aminoácido en la proteína problema

Ae = g de aminoácidos del patrón de referencia

Ex = Total (g) de aminoácidos indispensables

Ee = Total (g) de aminoácidos indispensables en el patrón de referencia

En este caso el patrón de referencia usado fue el de la FAO/WHO/UNU 1985, en donde se especifican las recomendaciones para lactantes y preescolares (2 a 5 años):

AMINOÁCIDOS	NECESIDADES REQUERIDAS (g/16 g de nitrógeno)	
	Lactantes	Preescolares (2-5 años)
Histidina	2.6	1.9
Isoleucina	4.6	2.8
Leucina	9.3	6.6
Lisina	6.6	5.8
Azufrados (metionina + cistina)	4.2	2.5
Aromáticos (fenilalanina + tirosina)	7.2	6.3
Treonina	4.3	3.4
Triptofano	1.7	1.1
Valina	5.5	3.5

Fuente: FAO/WHO/UNU, 1985.



## ANEXO IV

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

#### MESÓFILOS AEROBIOS

##### Fundamento:

Cuando se requiere determinar la concentración de microorganismos en una muestra, se emplean medios de cultivo y condiciones que favorezcan su desarrollo, el medio que comúnmente se utiliza para la cuenta de mesófilos aerobios es el agar triptona extracto de levadura para el método de cuenta en placa.

##### Material y medios:

- Mechero
- Gradilla
- Termómetro
- Pipetas estériles de 1, 5 y 10 ml
- Matraz de 250 ml con 90 ml de agua peptonada al 0.1%
- Tubos de 16 x 150 con 9 ml de agua peptonada estéril al 0.1%
- Agar triptona-extracto de levadura para cuenta en placa (Bioxon)
- Cajas petri estériles
- Incubadora BLUEM
- Campana de flujo laminar NIRO
- Agitador mecánico

##### Preparación de la muestra:

Pesar 10 g de la muestra y agregarlo a un matraz conteniendo 90 ml de agua peptonada y agitar hasta homogeneizar la mezcla. Hacer las siguientes diluciones:  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , como se muestra en el Diagrama 1.

DIAGRAMA 1

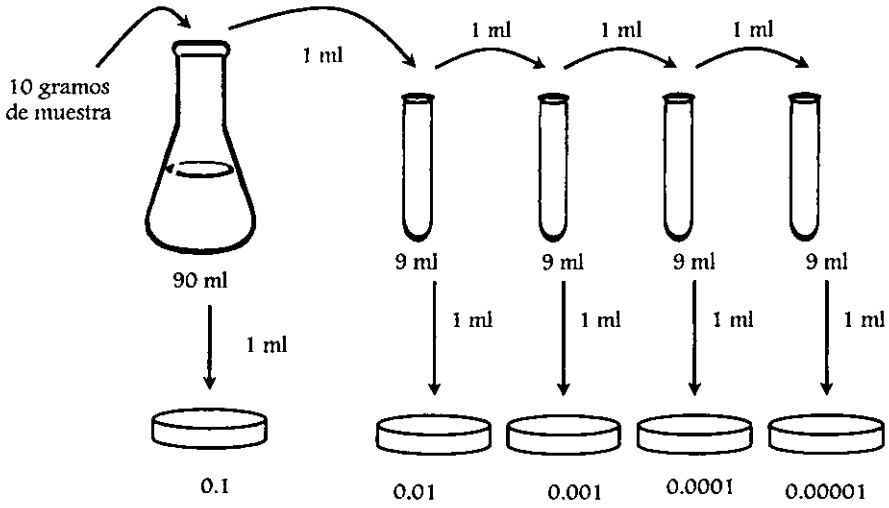
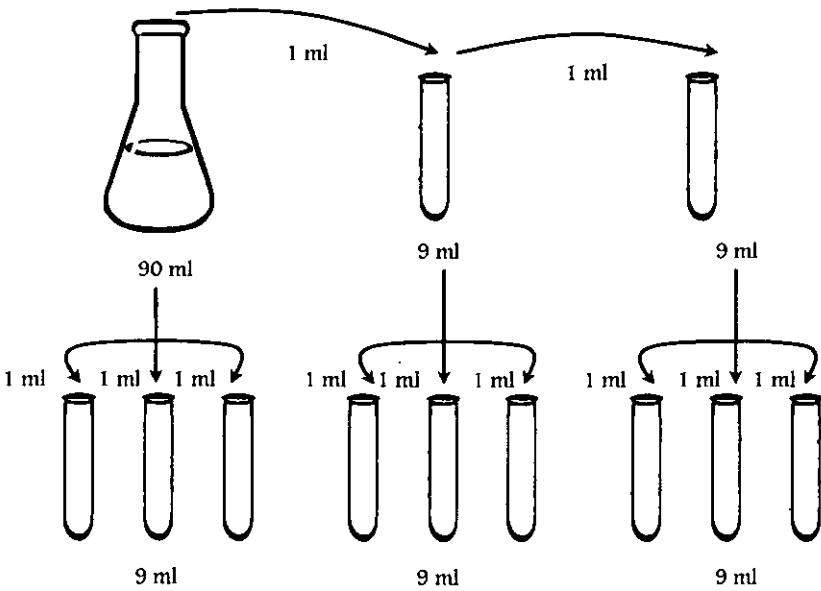


DIAGRAMA 2



### Procedimiento:

Adicionar 1 ml de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  en las cajas de petri vacías y estériles, aplicando la punta de la pipeta al fondo de la caja mientras escurre el líquido. Agregar de 15-20 ml de agar tripton extracto de levadura fundido y enfriado a  $45^{\circ}\text{C}$ . 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 que la muestra se incorpora al diluyente, hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas no debe exceder 20 min. Incubar a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas en posición invertida (la tapa hacia abajo). Contar las colonias desarrolladas y reportar las colonias por mililitro de muestra.

### Cálculos:

El número de mesófilos aerobios se expresa en relación al peso (g) o el volumen (ml) de la muestra analizada.

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

Donde:

UFC = Unidades formadoras de colonias

## COLIFORMES

### Fundamento:

Los coliformes fermentan la lactosa con la producción de gas en 48 horas cuando se incuban de 32 a 35°C. Por lo anterior, una de las maneras de identificar estos microorganismos es mediante el empleo de tubos de fermentación que contengan caldo lactosado con campanas de Durham para observar el gas producido. Finalmente, se utilizan las tablas del número más probable para determinar la cuenta de coliformes.

### Material y medios:

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

### Procedimiento:

Pesar 10g de la muestra y agregarlo a un matraz conteniendo 90 ml de agua peptonada y agitar hasta homogeneizar la mezcla. Se inocula 1 ml de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  en cada uno de los tubos de las 3 series de tubos con caldo lauril triptosa con campana de Durham (ver Diagrama 2). Incubar los tubos a 35-37°C durante 48-51 horas. Trancurrido este tiempo observar si hay

formación de gas en los tubos. Los tubos negativos se vuelven a incubar otras 24 horas. Los tubos que resultaron positivos (formación de gas) se agitan suavemente y se transfieren de 2 a 3 asadas del cultivo a un tubo de fermentación con caldo bilis verde brillante al 2%. Para efectuar la reinoculación se debe sostener el primer tubo con caldo lauril triptosa en un ángulo tal que se pueda tomar la asada evitando la película que pudiera existir en la parte superior del medio. Sacar el asa del líquido en sentido perpendicular a su superficie de manera que se forme un mecanismo bien definido. Finalmente, los tubos reinoculados con bilis verde brillante se incuban durante 48 hora a 35-37°C. Después se observan cuidadosamente si los tubos son positivos y se determina el número de microorganismo de acuerdo a la Tabla 1 del número más probable (NMP) de microorganismos.

Tabla 1

Número más probable (NMP)/g de muestra

Número de tubos positivos			NMP/g de muestra
0.1 g	0.01 g	0.001 g	
0	0	0	<3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	39
3	1	0	43
3	1	1	75
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>1100

*Escherichia coli*

Fundamento:

Debe realizarse un pre-enriquecimiento en caldo lactosado, el cual es seguido por un enriquecimiento en agar Mac Conkey ó agar Levine-eosina azul de metileno. En el primero se observa la degradación de la lactosa a ácido con un cambio de color de rojo neutro a rojo oscuro del indicador que contiene, las bacterias intestinales son seleccionadas debido a la presencia de sales biliares, por lo tanto, el crecimiento de la flora gram negativa restante es inhibida por el cristal

violeta. En el segundo medio se observa una selección por la presencia de colorantes, con lo que se inhibe el crecimiento de los microorganismos gram positivos.

#### Material y medios:

- Autoclave
- Incubadora BLUEM
- Mechero
- Campana de flujo laminar NIRO
- Asa microbiológica
- Cajas de 100 x 15 mm
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml
- Matraces Erlenmeyer de 500 ml

#### Procedimiento:

Pesar 10 g de muestra agregar 100 ml de caldo lactosado estéril, incubar a 30-35°C/24 horas. Pasado este tiempo y una vez observado el crecimiento (turbidez) aislar por estría cruzada en agar Mc Conkey, incubar 35°C/24 horas. Las colonias características de *E. coli* son aquellas que presentan color rojo ladrillo y zonas precipitadas (Cuadro 1); si estas características no son observadas pueden confirmarse al sembrar en agar Levine-eosina a 35°C/24-48 horas, en este medio las colonias características de *E. coli* son de color negro azulado a trasluz y presentan un brillo metálico a la luz incidente. También puede confirmarse la presencia de *E. coli* por medio de pruebas bioquímicas representativas de este microorganismo.

Cuadro 1

MEDIO	CARACTERÍSTICAS
Agar Mc Conkey	Colonias grandes de color rojo ladrillo, que pueden estar rodeadas de una zona con precipitado de bilis
Agar Levine-eosina	Colonias de tamaño pequeño de color azul-negro con brillo metálico, verdoso a la luz reflejada en la parte central

### *Salmonella*

#### Fundamento:

La determinación de *Salmonella* incluye pasos como el cultivo en medios de pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo y medios sólidos diferenciales. El objetivo de los dos primeros medios es estimular la multiplicación de *Salmonella* y reducir o inhibir el crecimiento de microorganismos competidores. Los medios sólidos diferenciales generalmente contienen sustancias inhibidoras para otras bacterias, y un indicador que colorea específicamente determinados tipos 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*. En caso de que hubiera colonias sospechosas se requiere comprobar dicha suposición por medio de pruebas bioquímicas.

#### Material y medios:

- Agitador mecánico (vortex)
- Balanza
- Espátula
- Cajas de petri estériles
- Matraz de 500 ml con 225 ml de caldo lactosado



- Pipeta de 1 ml
- Tubos de 16x150 con 10 ml de caldo selenito de sodio
- Cajas de petri con agar Mac Conkey
- Cajas de petri con agar sulfito de bismuto
- Cajas de petri con agar XLD
- Cajas de petri con agar para *Salmonella*

Procedimiento:

Pre-enriquecimiento:

Pesar 25 g o 25 ml de la muestra y adicionarlos a 225 ml de caldo lactosado. Homogeneizar en licuadora (durante un minuto) si es necesario. Incubar a 35-37°C, durante 24 horas. Si se dispone de baño María a 43°C para la incubación, la probabilidad de recuperación se incrementa.

Enriquecimiento:

Inocular 1 ml de la muestra incubada en 10 ml de caldo selenito de sodio. Incubar a 35°C durante 24 horas. Si el alimento no requiere pre-enriquecimiento colocar 12-15 g en 125 ml de caldo selenito y licuar si es necesario durante 1 min. Incubar durante 24 horas a 35°C

Aislamiento diferencial:

Inocular a partir de cada uno de los medios de enriquecimiento, una caja de agar Mac Conkey, agar XLD y agar sulfito de bismuto. Utilizar 2 o 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 horas. Seleccionar las colonias sospechosas de pertenecer al género o si no hay desarrollo, proseguir con la incubación por 24 horas más. Observar las colonias y si hay colonias sospechosas de *Salmonella* se pueden inocular por estría o picadura en el medio de agar triple azúcar hierro (TSI), o bien en el medio de agar de hierro lisina (LIA)

durante 18-24 horas a una temperatura de 35-37°C. Interpretar comparando las colonias desarrolladas con las características que se presentan en el Cuadro 2.

MEDIO	CARACTERÍSTICAS
Agar Mc Conkey	Colonias translúcidas e incoloras, a veces con centro oscuro
XLD	Colonias rojas o rosas de aproximadamente 1 mm
TSI	Fermentación de glucosa: en el agar inclinado la reacción es alcalina (color rojo). En el fondo reacción ácida (amarillo). Si hay producción de H <sub>2</sub> S, se produce un precipitado negro. Fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa: en la superficie del agar inclinado reacción ácida (amarillo) y en el fondo también hay una reacción ácida (color amarillo)
LIA	Positiva: turbidez en el medio y un color púrpura. Negativa: Color amarillo claro brillante.

### *Staphylococcus aureus*

#### Fundamento:

Para la identificación de *Staphylococcus* manita positivos, se utiliza un medio selectivo como el agar Vogel-Johnson, ya que estos microorganismos presentan la capacidad de coagular el plasma, característica que se asocia a la capacidad de fermentación de la manita. De acuerdo a la tolerancia que este microorganismo presenta a concentraciones elevadas de cloruro de sodio y su poca sensibilidad frente a agentes bacteriostáticos como cloruro de litio y telurito se puede hacer una estimación de su contenido en la muestra.

### Material y medios:

- Cajas petri de 100x15 mm
- Tubos de ensayo (20x150 mm)
- Matraces Erlenmeyer de 500 ml
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml
- Mechero
- Campaña de flujo laminar NIRO
- Incubadora BLUEM
- Autoclave
- Agua peptonada al 1%
- Caldo soya-tripticaseína (Bioxon)
- Medio Vogel-Johnson (Bioxon)

### Preparación de la muestra:

Pesar 10g de muestra en polvo y colocarlo en 90 ml de agua peptonada al 1%. Realizar las diluciones correspondientes de acuerdo al Diagrama 1.

### Procedimiento:

Colocar 1 ml de cada dilución en tubos que contengan 4.5 ml de caldo soya tripticaseína. Incubar a 35°C durante  $48 \pm 3$  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  $48 \pm 3$  horas. Observar si hay aparición de colonias negras (reductoras de telurito), convexas y brillantes, rodeadas de una zona amarilla, lo que indicaría que si hay *S. aureus* en la muestra. Para confirmar las sospechas de las colonias desarrolladas se puede realizar la prueba de la coagulasa.

## HONGOS Y LEVADURAS

### Fundamento:

En la determinación 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:

- Balanza
- Campana de flujo laminar NIRO
- Mechero
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml
- Incubadora BLUEM
- Autoclave
- Espátula estéril
- Cajas petri de 150 x 100 mm
- Tubos de ensaye (20 x 150 mm)
- Agitador mecánico (vortex)
- Matraces erlenmeyer de 500 ml
- Agar papa- dextrosa (Bioxon) acidificado con 1.5 ml de ácido tartárico al 10% por cada 100 ml de medio.
- Agar extracto de malta (Bioxon) acidificado con 1.5 ml de ácido tartárico al 10% por cada 100 ml de medio.
- Agua peptonada al 0.1%

### Preparación de la muestra:

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 1).

**Procedimiento:**

Transferir 1 ml de cada dilución por duplicado en cajas petri estériles y agregar de 12 a 15 ml de agar papa-dextrosa fundido (para hongos), y a otras cajas agregar el medio extracto de malta (para levaduras). Ambos medios 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 los medios en las cajas petri. Posteriormente, 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 horas; contar las colonias de levaduras.

Contar las colonias (UFC) de hongos en el medio agar papa-dextrosa y las colonias de levaduras en el medio agar extracto de malta y realizar la siguiente operación y expresar las unidades formadoras de colonias por gramo de muestra.

**Cálculos:**

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

Donde :

UFC = Unidades formadoras de colonias

## ANEXO V

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

#### t DE STUDENT

La t de student es un valioso auxiliar estadístico que se utiliza para medir probabilidad. Se usa principalmente para expresar intervalos de confianza y para comparar los resultados de diferentes experimentos. Algunas veces se requiere comparar los resultados de dos pruebas a fin de saber si son “iguales” o “diferentes”.

Para dos conjuntos de datos se calcula un valor de t mediante la fórmula:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

Donde:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{\text{conj.1}} (x_i - \bar{x}_1)^2 + \sum_{\text{conj.2}} (x_j - \bar{x}_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Donde:

$\bar{x}_1$  = promedio de los resultados de la prueba 1

$\bar{x}_2$  = promedio de los resultados de la prueba 2

$n_1$  = número de calificaciones de la prueba 1

$n_2$  = número de calificaciones de la prueba 2

$s$  = desviación estándar combinada

$x_i$  = calificaciones de la prueba 1

$x_j$  = calificaciones de la prueba 2

El valor de  $s$  es una desviación estándar *combinada* que se obtiene con las dos series de datos. El valor de  $t$  obtenido a partir de la primera ecuación debe compararse con el valor de  $t$  de la Tabla de valores críticos para  $t$  de student, para  $n_1 + n_2 - 2$  grados de libertad. Si el valor de  $t$  calculado es mayor que el valor tabulado, las dos series de resultados son significativamente diferentes para el nivel de confianza considerado. (Harris, 1992)

**PRUEBA DE INTERVALOS MÚLTIPLES DE DUNCAN**

La prueba de Duncan es un procedimiento ampliamente usado para la comparación de pares de medias. Para aplicarlo es necesario que los promedios a evaluar se ordenen de manera ascendente.

Para empezar los datos a analizar se organizan en una tabla de la siguiente manera:

Tratamiento (nivel)	Observaciones				Totales	Medias
1	$y_{11}$	$y_{12}$	. . . .	$y_{1n}$	$y_{1.}$	$y_{1.}$
2	$y_{21}$	$y_{22}$	. . . .	$y_{2n}$	$y_{2.}$	$y_{2.}$
.	.	.	. . . .	.	.	.
.	.	.	. . . .	.	.	.
.	.	.	. . . .	.	.	.
a	$y_{a1}$	$y_{a2}$	. . . .	$y_{an}$	$y_{a.}$	$y_{a.}$
					$y_{..}$	$y_{..}$

Una vez acomodados los datos en la tabla anterior se hace un cuadro que contenga la siguiente información:

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad	Media de cuadrados (MS)
Tratamiento	$SS_{\text{tratamiento}}$	$a - 1$	$MS_{\text{tratamientos}}$
Error	$SS_{\text{error}}$	$N - a$	$MS_{\text{error}}$
Total	$SS_{\text{total}}$	$N - 1$	

La suma de cuadrados del tratamiento se calcula con la siguiente fórmula:

$$SS_{\text{tratamiento}} = n \sum_{i=1}^a (\bar{y}_{i.} - \bar{y}_{..})^2$$

La suma de cuadrados total es igual a:

$$SS_{\text{total}} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_{..})^2$$

La suma de cuadrados del error es igual:

$$SS_E = SS_{\text{total}} - SS_{\text{tratamiento}}$$

En los grados de libertad  $N = n \times a$ , el número de tratamientos por el número de observaciones para cada tratamiento.

Finalmente para completar la tabla se calculan las medias de cuadrados de la siguiente manera:

$$MS_{\text{tratamiento}} = \frac{\text{g. l. del tratamiento}}{SS_{\text{tratamiento}}}$$

$$MS_{\text{error}} = \frac{\text{g. l. del error}}{SS_{\text{error}}}$$



El error estándar se calcula de la siguiente manera:

$$S_{y_i} = \sqrt{\frac{MS_e}{n}}$$

Teniendo ésta desviación estándar se obtienen, de la tabla de rangos significativos de Duncan, los valores de los intervalos significativos  $r_{\alpha}(p,f)$  para  $p = 2, 3, \dots, a$ , donde  $\alpha$  es en nivel de significancia y  $f$  es el número de grados de libertad del error. Estos rangos se convierten a rangos mínimos significativos multiplicando los intervalos significativos por la desviación estándar obtenida, de la siguiente manera:

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

A continuación se acomodan los promedios de menor a mayor y se procede a hacer las comparaciones, restando el promedio más chico con el más grande, después el siguiente con el más grande, y así sucesivamente hasta comparar todos los pares de medias. Estas diferencias se comparan con los rangos mínimos significativos calculados. Cuando el valor de la resta es mayor al de los rangos se dice que hay diferencia significativa entre esas dos muestras con el nivel de significancia seleccionado.

## ANEXO VI

Norma Oficial Mexicana NOM-131-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos para lactantes y niños de corta edad. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales.

Fórmulas para lactantes y de continuación

Especificaciones nutrimentales

Fórmulas para lactantes

Proteínas: como mínimo 1.8 g/100 kcal utilizables de proteínas de calidad nutritiva equivalente a la de la caseína, o una cantidad mayor de otras proteínas en proporción a su valor biológico. La calidad nutritiva de las proteínas deberá determinarse empleando el método de la Relación de Eficiencia Proteínica (REP). La REP de las proteínas no será inferior al 85% del de la caseína. La cantidad total de las proteínas no debe exceder de 4 g por 100 kcal utilizables. Para mejorar la calidad nutritiva de las proteínas, pueden añadirse aminoácidos esenciales, únicamente en las cantidades estrictamente necesarias, los cuales deben ser en su forma natural L.

Grasas: como mínimo deben tener 3.3 g y máximo 6 g.

Ácido linoleico (en forma de glicérido): como mínimo deben tener 300 mg/100 kcal.

### Fórmulas de continuación

Proteínas: como mínimo 3.0 g/100 kcal utilizables de proteínas de calidad nutritiva equivalente a la de la caseína. La REP de las proteínas no deber ser inferior al 85% del de la caseína. La cantidad total de las proteínas no debe exceder de 5.5 g por 100 kcal utilizables.

Grasas: como mínimo 3 g / 100kcal y máximo 6 g/100kcal.

Ácido linoleico: mínimo 300 mg/100 kcal

### Especificaciones sanitarias

Las fórmulas para lactantes y fórmulas de continuación deben cumplir con las siguientes especificaciones microbiológicas:

ESPECIFICACIÓN	LIMITE MÁXIMO
Mesófilos aerobios	2500 UFC/g <sup>1</sup>
Salmonella spp en 25 g	Ausente
Staphylococcus aureus	Negativo
Coliformes totales	20 NMP/g <sup>2</sup>
Escherichia coli	Negativo
Hongos y levaduras	Negativo

<sup>1</sup> UFC/g: Unidades formadoras de colonias por gramo de fórmula  
<sup>2</sup> NMP/g: Número más probable por gramo de fórmula

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre, G., González, S. Caracterización de fórmulas en polvo para niños intolerantes a la lactosa Tesis. Facultad de Química, UNAM. México, D. F. (1993)
2. AOAC, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist published by AOAC, Inc. (Herlich, K. ed.) 15<sup>th</sup> adition. Vol I & II. USA p.p. 17-18, 40-62, 1012 (1990)
3. Badui, Salvador. Química de los alimentos. Editorial Alhambra Mexicana, S. A. México, D. F. p.p. 117-119, 523- 568 (1994)
4. Bascuñan Termini, L., Bascuñan Blset, A. Concepto de Alimento, nutrimento y dieta: su enseñanza en la educación secundaria. Trabajo presentado en el Congreso de la Sociedad Química de México, en Oaxaca. (1998)
5. Bourges, H. Panorama alimentario de México. Cuadernos de Nutrición. Julio/Agosto/Septiembre. p.p. 17-31 (1981)
6. Briggs, M. Muscle foods and human health. Food Technology. 39:2:54-38 (1985)
7. Calderón de la Barca, A. M. ¿Son las fórmulas infantiles basadas en la soya una buena alternativa para alimentar niños alérgicos? Cuadernos de Nutrición Vol. 20 No. 4. Julio/Agosto. p.p. 37-39 (1997)
8. Casanueva E., Kaufer M., et al. Nutriología Médica. Ed. Medica Panamericana. 1ª Edición. México, D. F. p.p. 34-35, 371-372(1995)
9. Cervera, P., Clapes, J., Rigolfos, R. Alimentación y dietoterapia. Editorial Interamericana Mc Graw Hill, 2ª ed. Madrid, (1993)
10. Chandra, R. K., Prasad, C. Alergias alimentarias. Diagnóstico y estrategias de prevención. Cuadernos de nutrición Vol. 17. No. 1. Enero-Febrero. p.p. 21-28 (1994)
11. Cornejo L. Desarrollo de una fórmula no láctea para niños con intolerancia a la lactosa. Tesis de Maestría. Universidad Iberoamericana. México, D. F. (1989)
12. Del Valle, F. R., Escobedo, M., Sánchez-Marroquín, Bourges, H., Bock M. A., Biemer, P. Nitrogen Balance in Infants Fed Formulas Containing Amaranth o a Soy-Oats Formula. Cereal Chemistry, Vol. 69 No. 2. p.p. 156-159 (1992)

13. Desrosier, N. W. Principios de la conservación de alimentos por secado. Compañía Editorial Continental, S. A. 8va. Impresión. México D. F. p.p. 157-172 (1977)
14. Eriksen, S. Protein nutritional quality of air-classified potato fractions. *Journal of Food Science* 46:540-542 (1981)
15. Espinoza, J., Araya, M., Cruchet, S., Pacheco, I., 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. p.p. 139-146 (1992)
16. Esquivel Hernández, R. I., Martínez Correa, S. M., Martínez Correa, J. L. *Nutrición y Salud, Manual Moderno*. México D. F. p.p. 76-80 (1998)
17. FAO/OMS Informe de un comité especial misto FAO/OMS de expertos, en necesidades de energía y proteínas. Roma. p.p. 34 (1973)
18. FAO/OMS/UNU Energy and protein requirements. Report of a joint FAO/OMS/UNU Consultation. World Health Organization. Technical Report Series 724. (1985)
19. FAO Estudio Alimentación y Nutrición 47/2. Papa y Batata en: Utilización de alimentos tropicales: raíces y tubérculos. FAO, Roma. p.p. 45-65 (1990)
20. Fennema, O. R. *Química de los Alimentos*. 2ª edición. Editorial Acribia S. A. Zaragoza. p.p. 351-365 (1993)
21. Fomon, J. S. *Nutrición Infantil*. Ed. Interamericana. México, D. F. p.p. 458 (1976)
22. Harris, Daniel C. *Análisis Químico Cuantitativo*. Grupo Editorial Iberoamérica S. A. de C. V. México, D. F. 1992. p.p. 54, 55.
23. Hart, F., Fisher, H. J. *Análisis Modernos de los Alimentos* Editorial Acribia. Zaragoza. p.p. 1-21 (1991)
24. Jay, J. M. *Modern Food Microbiology*, 6<sup>th</sup> Edition. Aspen Publication. USA (1989)
25. Krause. *Nutrición y Dietoterapia*. Interamericana, Mc Graw Hill. 8ª Edición. México, D. F. p.p. 180-193 (1995)
26. Langer, A. *La alimentación durante el primer año de vida*. Cuadernos de Nutrición. Vol. 10. Octubre, Noviembre y Diciembre. p.p. 18-32 (1983)

27. Lucas B., Sotelo A. Amino acids determination in pure proteins foods and feeds using two different acid hydrolysis. *Analytical Biochemistry* 123:349-356 (1982)
28. Moore S., Stein W. Chromatographic determination of aminoacids by the use of automatic recording equipment. In *methods in enzymology*. Vol. VI. Academic Press. New York. (1963)
29. Morales de León, J. Los alimentos. Composición y clasificación. Cuadernos de Nutrición. Octubre, Noviembre y Diciembre. p.p. 19-31 (1981)
30. Nonhebel, G. El sacado de sólidos en la industria química. Editorial Reverté. Barcelona España. p.p. 295-307 (1979)
31. Ortiz, M. E., Alcocer L., Quesada O. Taurina y Desarrollo Cerebral. Cuadernos de Nutrición. Vol. 13. No. 3 p.p. 1-32 (1990)
32. Osborne, D. R., et al. Análisis de los Nutrientes de los Alimentos, Editorial Acribia. Zaragoza. p.p. 7-20 (1986)
33. Pearson, D. The Chemical Analysis of Foods. Churchill Livingtone. New York p.p.13-40 (1976)
34. Procuraduría Federal del Consumidor. Fórmulas para lactantes y niños de corta edad. *Revista del Consumidor*. No. 263. México, enero 1999.
35. Reichman, B.L., Cheesex, P., Pulef, G., et al., Partition of energy metabolism and energy cost in the very low-birth-weight infant. *Pediatrics* 69:446-451, 1982.
36. Ronayne de Ferrer, P., A. Pasado y presente en el diseño de fórmulas infantiles, *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Vol. 45 No. 4. p.p. 265-272 (1995)
37. Ruiz-García J., Pantoja B. C., Pérez-González M. Morbilidad infecciosa gastrointestinal y respiratoria en lactantes amamantados. *Perinatología y Reproducción Humana*. Ed. MPM Investigación realizada en el Hospital General Regional con Medicina Familiar No. 1, IMSS. Morelia, Mich. (1998)
38. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Estadísticas de producción nacional: papa. Dirección General de Estadística. (1996)
39. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. AAC y UAR de Papa y Centro de Estadística Agropecuaria. SAGAR. (1997)
40. Schulze, K. F., Stefanski, M., Masterton, J., et al., Energy expenditure, energy balance, and composition o weight gain in low birth weight infants fed diets

- of different protein and energy content. *Journal Pediatrics* 110:753-759, (1987)
41. Sigurd, N. *Manual de Nutrición*, Editorial CECSA. México, D. F. p.p. 19 (1984)
  42. Silva, C. Fórmulas no lácteas para intolerantes a la lactosa, *UNAM hoy*. Año 3. No. 14. Septiembre-Octubre p.p. 5-10 (1994)
  43. Singh, R. P., Heldman, D. R. *Introduction to Food Engineering*, Academic Press, Inc. 2<sup>nd</sup> Edition. USA (1993)
  44. Solomons, N. W. *Cuadernos de nutrición*, Vol. 20. No. 4. Julio-Agosto p.p. 21-28 (1997)
  45. Sotelo, A., Hernández, M., Larracilla, J., Arena, M. L., Palapa, E. Utilización del garbanzo en fórmulas no lácteas. II. Balance de nitrógeno en niños con intolerancia a la lactosa, alimentados con una fórmula a base de garbanzo y un producto comercial de soya. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Septiembre Vol. XXXVII No. 3 p.p. 468-477 (1987)
  46. Taeusch, H. W., Ballard, R. A., Avery, M. E., *Enfermedades del recién nacido*. Editorial Médica Panamericana S. A. Buenos Aires. p.p. 744-750 (1993).
  47. Vega Franco, L. Las enfermedades diarreicas en los niños: lo que todos debemos saber. *Cuadernos de Nutrición*. No. 4. Julio/Agosto. p.p. 38-42 (1984)
  48. WHO, *Measuring Change in Nutritional Status. Guidelines for Assessing the Nutritional impact of Supplementary Feeding Programmes for Vulnerable Groups*, World Health Organization. (1983)
  49. Winton, L., Winton, B. *Análisis de alimentos*, Ed. Continental S. A. México, D. F. p.p. 64-81 (1967)
  50. Zubirán S., Arroyo, P., Avila H. *La Nutrición y la Salud de las Madres y los Niños Mexicanos. II Pediatría*. Secretaría de Salud y Fondo de Cultura Económica. 1<sup>a</sup> Edición. México, D. F. p.p. 23-27 (1990)