

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EFFECTO DE DOS TIPOS DE FIBRA DIETÉTICA EN LA EXCRECIÓN
DE LÍPIDOS Y EN LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE COLESTEROL Y
TRIGLICÉRIDOS EN RATAS

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A
VERÓNICA DANIELA BARRERA GARCÍA



México D. F.

2003

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

PAGINACION DISCONTINUA

Jurado asignado:

Presidente : Profra. Ángela Sotelo López
Vocal : Profra. Lucía Gabriela Bascañán Termini
Secretario : Profra. Lucía Cornejo Barrera
Primer Suplente : Profra. Leticia Gil Vieyra
Segundo Suplente : Profra. Rosa María Argote Espinosa

Sitio donde se desarrolló el tema:

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

Asesor del tema:


M. en C. Ángela Sotelo López

Supervisor técnico:


M. en C. Rosa Ma. Argote Espinosa

Sustentante:


Verónica Daniela Barrera García

Dedico esta Tesis a mi familia:

A mis hermanos, Archi (ahora Jacobito), Davicín y la Pepis.

Es difícil ser la mayor porque se tiene la responsabilidad de dar un buen ejemplo, espero habérselos dado. Gracias por comprenderme y apoyarme en todo momento, incluso en aquellos de indecisión. No siempre hice las cosas en el momento correcto pero recuerden, siempre éstas son correctas si estás seguro de que son tu pasión...

A mi Abue por su inmenso cariño, por amar como amas a esta nieta, la consentida.

A Sara por su apoyo en cualquier momento y para cualquier cosa para su linda sobrinita.

A Iván por ser siempre un amigo, un gran tío, una gran persona... por quererme.

A Beto y Becki por escucharme en cualquier momento, por enseñarme otra filosofía de la vida.

A Meche y Rodolfo por su peculiar forma de ser.

A Gaby y Javier porque de ustedes aprendí que para lograr nuestros sueños, hay que sacrificar muchas cosas, incluso el amor.

A Emilia, porque las sencillas palabras que escribes en un papel toman sentido en nuestro corazón.

A Diego, Bruno y Ximenita, mis queridos primos, que con sus sonrisas, bailes, juegos y travesuras hacen mi vida más divertida.

A cada uno de mis amigos, por todos esos pequeños momentos que fueron grandes al compartirlos juntos. Juntos logramos grandes metas ¡gracias por estar aquí!

A "Negrita" ... ¡claro no podía faltar!

Al final, pero en primer lugar este trabajo va para ustedes.

Les agradezco el siempre exigirme, el apoyarme, en fomentar con su ejemplo la lucha para lograr nuestras metas, siempre con éxito.

GRACIAS PAPÁ
GRACIAS MAMÁ
LOS AMO

Una especial dedicatoria:

Al ángel que desde el cielo cuida de mí... a mi Abuelito.

A San Miguel Tlax, Oaxaca, lugar de descanso e inspiración.

Al Niñito de Nundichi y a San Miguel Arcángel por escuchar mis oraciones...

Gracias a Dios por la bendición de tener esta familia.

Dany

Agradecimientos:

Esta investigación es el resultado de la aportación de personas que merecen una mención especial y mi más sincero agradecimiento:

Maestra Ángela Soltelo López, gracias, primero, por confiar en este tema, por su guía, y porque su gran experiencia enriqueció este trabajo y mi desarrollo.

A Rosita por su paciencia y su gran apoyo, aún los sábados de descanso...

A la Doctora María Elena Hernández V. que me permitió trabajar en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI; el cual está a su cargo.

A Juan Luis Guerrero, con quien directamente trabajé en el laboratorio, gracias por compartir tu experiencia para el desarrollo de esta investigación.

A Lety, por su contribución, pero sobre todo por ser una gran amiga dentro del Laboratorio.

A Sara por... ¡tú sabes porqué!

A Doña Vicky, por su sonrisa desde horas muy tempranas y claro, porque sin ella, nunca hubiese estado el material y el laboratorio en condiciones para poder trabajar.

A Don Rosalío por recibirme con su gran sonrisa que lo caracteriza y amabilidad en el bioterio, por ayudarme con esas pequeñas ratitas. ¡Gracias!

Daniela

PAGINACION DISCONTINUA

2.3. Absorción de Triglicéridos	19
2.4. Absorción del Colesterol	22
3. Interacción de la Fibra dietética con los Lípidos	22
IV. Desarrollo Experimental	24
1. Manejo y preparación de las muestras	25
2. Análisis Químico Proximal	26
3. Ensayo biológico	26
V. Metodologías	31
1. Análisis Químico Proximal	31
1.1. Determinación de Humedad	31
1.2. Determinación de Cenizas	32
1.3. Determinación de Grasa	34
1.4. Determinación de Proteína	36
1.5. Determinación de Fibra Cruda	39
1.6. Hidratos de Carbono asimilables por diferencia	41
2. Determinación de Fibra Dietética	42
3. Colesterol	47
4. Triglicéridos	48
5. Análisis Estadístico	50
VI. Resultados y Análisis	51
VII. Conclusiones	66
VIII. Bibliografía	67

I. Introducción.

Inicialmente se tenía la idea de que la fibra dietética era una entidad inerte en el organismo, ahora se sabe que puede interactuar con los micro y macronutrientes contenidos en los alimentos de la dieta. De estos macronutrientes, los lípidos han sido extensamente estudiados en conjunto con la fibra dietética. La inclusión de la fibra dietética en la dieta no elimina completamente los lípidos ingeridos, pero sí modifica o altera algunas condiciones que son las responsables de que los niveles de éstos, disminuyan en sangre e hígado, así como la mayor excreción de éstos en heces. Estos cambios son importantes cuando se aplican en beneficio de reducir serios problemas, tales como la obesidad, enfermedades coronarias y algunos tipos de cáncer.

Aprovechando lo anterior, actualmente han salido al mercado un sin número de productos que prometen la reducción de peso, ya sea modificando el metabolismo, eliminando el hambre, actuando como diurético o bien como laxante. Otro grupo más que promete justamente, "encapsular" la grasa y eliminarla en heces, de tal manera que se impide la absorción por el organismo.

El presente trabajo se enfoca precisamente al estudio de este último grupo, en donde el agente responsable del efecto benéfico es la fibra dietética, la cual, explican sus promotores, se une a la grasa contenida en los alimentos, pasando a lo largo del tracto digestivo sin que pueda ser metabolizada ni absorbida en el intestino delgado.

Químicamente la fibra dietética posee estructuras que le permiten unirse a los lípidos, sin embargo *in vivo* las condiciones fisiológicas pudieran alterar tal evento, por lo que sería falso el hecho de que estos productos comerciales realmente no permitieran la absorción de lípidos y como consecuencia la pérdida de peso al hacer uso de las reservas corporales.

Los objetivos de este trabajo se enfocaron a comprobar esta propiedad que se le atribuye a la fibra, tanto por la eliminación de lípidos en heces, así como los niveles plasmáticos de algunos de importancia nutricional.

En la bibliografía consultada no se encontró información sobre fibra dietética de un producto comercial, por lo cual el estudio comparativo propuesto, entre la fibra dietética aportada por el nopal y otra de origen comercial enriquecería esta línea de investigación, además de obtener la información sobre cual es la opción más viable de consumo. Los trabajos encontrados hasta el momento son enfocados a tipos de fibra dietética específica, no a mezclas de ellas, las cuales contienen aditivos que mejoran su presentación, como lo son los productos comerciales, que consisten en un sistema más complejo de lo que puede ser una fibra en particular, y mucho menos que haya sido comparado con fibra que se suministre directamente del alimento.

II. Objetivos.

General

Comparar el efecto que tiene el consumo de fibra dietética de nopal con la de un producto comercial, sobre la excreción de lípidos totales en heces, así como en los niveles plasmáticos de triglicéridos y colesterol al ser suministradas dietas a dos niveles de concentración de lípidos, en grupos de ratas jóvenes macho.

Particulares

1. Conocer la composición química proximal de los productos comercial y natural utilizados como fuentes de fibra.
2. Medir la cantidad de grasa eliminada por heces en ratas alimentadas con dietas que contengan las fibras en estudio.
3. Conocer el efecto de las fibras estudiadas en los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos.
4. Analizar el efecto de los dos tipos de fibra sobre la excreción de lípidos y los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre, cuando se aumenta en 50% la proporción normal de grasa en la dieta (14 g lípidos / 100 g dieta).

III. Antecedentes.

La fibra dietética incluye sustancias pécticas, mucilaginosas, gomas, celulosa y hemicelulosa. Se denomina como dietética por la característica de no ser degradada por las enzimas digestivas, por lo que no aportan energía como lo hacen otros hidratos de carbono. Esta característica ha hecho que en los últimos años el consumo de fibra haya aumentado, no sólo por el hecho de que tienen capacidad de adsorción de grasa ⁽¹⁾ y esto crea la idea de no aumentar de peso por un alto consumo de grasa en la dieta, sino que también se le confiere la capacidad de formar masa fecal, ayudando a eliminar el estreñimiento ^(1, 2,3). Esto ha promovido una alta comercialización de todo tipo de fibra, extraída de diferentes alimentos. Sin embargo la acción biológica de la fibra dietética no está limitada a su estructura como tal, sino que debe extenderse al conjunto de pared celular formada por polisacáridos, lignina, polifenoles, almidón de los vegetales que son resistentes al ataque enzimático ^(1, 2). Es decir, los alimentos que contienen fibra, precisamente la contienen y ello no implica que sean completamente fibra, sino también hay otros componentes que en conjunto pueden ser responsables de sus atributos benéficos.

La fibra dietética ha sido objeto de muy diversas investigaciones. Se sabe cuales son sus propiedades funcionales dadas sus características físicas y químicas que en general posee. Dentro de ellas están las de *hidratación*, que se relaciona con un efecto negativo de absorción de nutrimentos, aunque se favorece el tránsito del bolo; *capacidad de intercambio iónico*, que es causa de la reducción de la biodisponibilidad de ciertos minerales y electrolitos ⁽¹⁾, *capacidad de adsorción de grasas*, la cual está relacionada con la composición química, y el tamaño y área superficial de las partículas de fibra. La grasa queda atrapada en la superficie de la fibra principalmente mediante procesos mecánicos ⁽⁴⁾. Otra propiedad funcional es la adsorción de moléculas orgánicas, que se basa en la capacidad que poseen algunos componentes de la fibra para unir determinadas sustancias en el intestino como ácidos y sales biliares, colesterol, drogas, compuestos tóxicos y carcinogénicos ⁽⁵⁾. También se ha estudiado ampliamente su acción sobre los lípidos en el organismo.

Los estudios se han hecho básicamente en humanos y en ratas. A ambos grupos se les ha suplementado su dieta con diversos tipos y proporciones de fibra dietética, bajo condiciones experimentales diversas. Los resultados obtenidos son igualmente diversos (Tabla 1).

En seis estudios clínicos en humanos en los que se suplementó su dieta con goma guar en cantidades de 7.5-21 g / día se produjo un decremento del 6-15% en los niveles normales de colesterol con respecto a un grupo control sin fuente de fibra ⁽⁶⁾.

En otro estudio los efectos de la goma xantana, después de seis semanas de su incorporación en la dieta de pacientes, fueron el disminuir los niveles de colesterol en un 7% con respecto al inicio del estudio, siendo el mismo sujeto su control ⁽⁷⁾.

Los niveles de colesterol disminuyen entre 5 y 19% en pacientes adultos con niveles altos de lípidos en sangre, cuando en su dieta se les incluye entre 8 y 30 g de goma de algarrobo por un periodo de ocho semanas ⁽⁸⁾.

En la misma línea, los estudios con ratas no difieren a lo encontrado en humanos. En 1961 Wells y Ershoff ⁽⁹⁾ reportan que la fibra dietética disminuye las concentraciones de colesterol en sangre e hígado. Subsecuentemente muchos estudios documentan los mismos efectos usando diferentes tipos de fibras (Tabla 2). En el punto donde convergen los resultados es que tanto para los estudios en humanos como en ratas, los niveles de colesterol disminuyen cuando se utilizan fibras solubles en agua, mientras que la insoluble no presenta el mismo efecto.

Tabla 1. Efectos de Fibra Soluble en los Niveles Séricos de Colesterol y Triglicéridos en Humanos ⁽¹²⁾.

Aro et al. (1981)	Guar	21	-14	+11	DC, EC, DA
Kililäinen y Lahtinen (1981)	Guar	16	-13	-3	AC
Simmons et al (1982)	Guar	18	-15	-4	PC, CS
Aro et al. (1984)	Guar	15	-8	-4	DC, EC, DA
Bosello et al. (1984)	Guar	16	-12	-22	AC
Uusitupa et al. (1984)	Guar	7.5-21	-11	**	DC, EC, DA
Superko et al. (1985)	Guar	15	-6	+12	CS, EC, DA
Oatkes et al. (1985)	Xantana	12	-7	0	AC, EC
Zavari et al. (1983)	Algarrobo	8-30	-5 a -19	-10	EC, DA
Kay y Truswell (1977)	Pectina	15	-15	+1	AC
Judd y Truswell (1982)	Pectina	15	-17	+13	EC, DA
Burton y Manninen (1982)	Psyllium	<25	-16	0	AC
Anderson et al. (1988)	Psyllium	10	-15	-13	DC, P, PC
Lo et al. (1986)	Fibra de soya	18	-8	-7	CS, EC
Anderson et al. (1984)	Frijol	19	-19	-4	AC, P, DA
Kirby et al. (1981)	Salvado	15	-13	-5	AC, P, DA
Anderson et al. (1984)	Salvado	15	-19	-19	AC, P, DA

* AC, es su mismo control ; PC, placebo como control, P, paralelo; DC, doble ciego; CS, ciego simple; EC, ensayo cruzado ; DA, distribución al azar.

** no estudiado

6

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Diversos Estudios en ratas sobre los Efectos de Fibras Dietéticas en los niveles de Colesterol en Sangre⁽¹²⁾.

Salvado de trigo	4	Elliot et al. (1981) Mathe et al. (1977) Chen y Anderson (1979)
Salvado de avena	3	Chen y Anderson (1979) Chen et al. (1981) Shinnik et al. (1988)
Cascarilla de salvado	1	López-Guisa et al. (1988)
Agar	2	Wells y Ershoff (1961) Tsal et al. (1976)
Alginato	2	Wells y Ershoff (1961) Kiriyama et al. (1969)
Goma guar	2	Chen y Anderson (1979) Chen y Anderson (1979)
Pectina	10	Wells y Ershoff (1961) Leveille y Sauberlich (1966) Kiriyama et al. (1969) Chang y Jonson (1976) Tsal et al. (1976) Mathe et al. (1977) Chen y Anderson (1979) Chen et al. (1981) Elliot et al. (1981) Judd y Truswell (1985)

Investigaciones más recientes revelan posibles contradicciones. Mientras hay autores que reportan que la fibra del residuo industrial de tomate tiene un efecto sobre la disminución del colesterol total en sangre¹⁰, otros encuentran que el colesterol total no es afectado significativamente ni por la fibra de achicoria ni por la inulina, en un estudio comparativo, sin embargo el nivel de lipoproteínas de alta densidad es mayor en ratas que consumen el extracto de achicoria e inulina que en el grupo control, mientras que en los niveles de lipoproteínas de baja densidad es significativamente menor¹¹. Otro grupo más de investigadores estudiaron el efecto de salvado, encontrando que el colesterol total y triglicéridos disminuyen, en tanto que las lipoproteínas de alta densidad aumenta, coincidiendo con otros reportes; sin embargo también hallaron que los lípidos totales disminuyen en una dieta libre sin fibra, el cual era su control¹².

En resumen, los resultados no han permitido que se llegue a un común acuerdo y la comparación de los resultados se dificulta debido a la gama de fibras que se utilizan para los estudios (solubles, insolubles, individuales o en mezclas), a la cantidad de la misma que se adiciona en la dieta, al periodo de duración del ensayo, tan variable que reporta cada grupo de investigadores, entre otros factores.

Conceptos de importancia para el desarrollo de la investigación.

1. FIBRA.

1.1 Fibra cruda.

En un principio era indistinto el uso de fibra dietética y fibra cruda, debe entenderse ésta última como los hidratos de carbono de origen vegetal resistentes a la ebullición suave en medio ácido y posteriormente en medio alcalino, proceso que los químicos agrícolas del siglo XIX consideraban semejante a la digestión ⁽¹³⁾. La fibra cruda es considerado un término que se limita a cuestiones analíticas, químicamente está formado por celulosa y lignina, mientras que la fibra dietética, como veremos más adelante tiene implicaciones fisiológicas de gran importancia.

En términos generales, el procedimiento para la cuantificación de fibra cruda provoca la pérdida de 70-80% de la hemicelulosa, de 30-50% de la celulosa y hasta un 90% de la lignina; algunos autores consideran que la cuantificación de fibra cruda es hasta seis veces la subestimación de la fibra dietética ⁽¹⁴⁾.

1.2 Fibra dietética.

La fibra dietética incluyen a varios polisacáridos: celulosa, hemicelulosa, pectina, agar, gomas y mucílago; y a la lignina de las paredes celulares de las plantas, que resisten a la digestión de las enzimas del aparato digestivo ⁽¹⁵⁾, pero proporcionan volumen a la dieta.

El término de fibra dietética tal vez no sea el más idóneo, ya que no todos los componentes de ella son fibrosos; algunos no son fibrosos y forman geles viscosos.

1.2.1 Polisacáridos.

Los monosacáridos son los hidratos de carbono más sencillos (FIG. 1), están constituidos por una sola unidad de polihidroxialdehído o polihidroxiacetona. Los polímeros de monosacáridos se denominan polisacáridos.

Desde el punto de vista nutricional a éstos se les puede clasificar en dos grandes grupos:

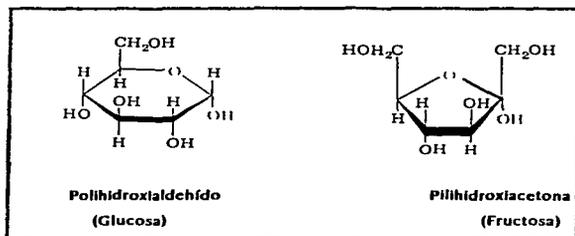
1) *Polisacáridos utilizables energéticamente o digeribles* (almacenamiento), dentro de esta clasificación están el almidón y glucógeno.

2) *Polisacáridos no utilizables energéticamente* (estructurales), destacando en este grupo la celulosa, hemicelulosa, pectina, agar, gomas y mucílago, que se integran dentro de lo que se denomina *fibra alimentaria o fibra dietética* (FIG. 2).

La *celulosa* es un polímero de la glucosa, es una cadena lineal de alto peso molecular, se encuentra en las paredes celulares de las paredes vegetales. A pesar de que el hombre no puede utilizarla por su incapacidad para digerirla debido a los enlaces β que unen a las moléculas de glucosa, juega un importante papel en la dieta por ser componente de la fibra dietética.

Hemicelulosas son estructuralmente parecidas a las celulosas, de ahí su nombre; son polímeros de pentosas, sobre todo de la xilosa, con cadenas laterales de arabinosa y otros monosacáridos. Insolubles en agua fría, pero la cocción prolongada, las ablanda en gran medida y en medio ligeramente ácido o alcalino pueden disolverse. Es también componente de la pared celular de los tejidos vegetales.

FIG. 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DE DOS MONOSACÁRIDOS
Los monosacáridos son los hidratos de carbono más sencillos, constituidos por una sola unidad de polihidroxialdehído o polihidroxiacetona.



La *pectina* es un polímero de metil-galacturonato que se obtiene principalmente en la parte carnosa de frutas como la manzana, cítricos, etc.

Agares es un polisacárido obtenido de algas marinas de la clase Rodofceas.

Mucílagos son polisacáridos que se obtienen de algas y secreciones de semillas. Los mucílagos provenientes de semillas son polímeros muy ramificados de pentosas principalmente de arabinosa y xilosa. Los de algas son polímeros del ácido D-manurónico o del L-galacturónico o una mezcla de los dos.

Cabe resaltar que varias de las sustancias señaladas como fibra dietética no son específicas sino genéricas; es decir, no hay una pectina o un mucílogo, sino muchas posibles pectinas y muchos posibles mucílagos y gomas y hemicelulosas. Además, en cada alimento hay diferentes combinaciones de los distintos géneros y la presencia, por supuesto de centenares de otros componentes que interactúan con ellos formándose un patrón único para cada alimento.

1.2.2 Lignina.

La *lignina* es otro componente de la fibra dietética pero no es de origen glucídico, es decir, no es un hidrato de carbono como los otros componentes de la fibra dietética. La lignina es una sustancia aromática formada por un grupo de cuerpos polifenólicos de peso molecular variable, no es digerible e insoluble en agua. Se encuentra en las partes leñosas de las plantas.

1.2.3. Solubilidad.

La fibra dietética puede ser soluble o insoluble en agua, clasificación basada en sus propiedades físicas y analíticas ⁽¹⁶⁾.

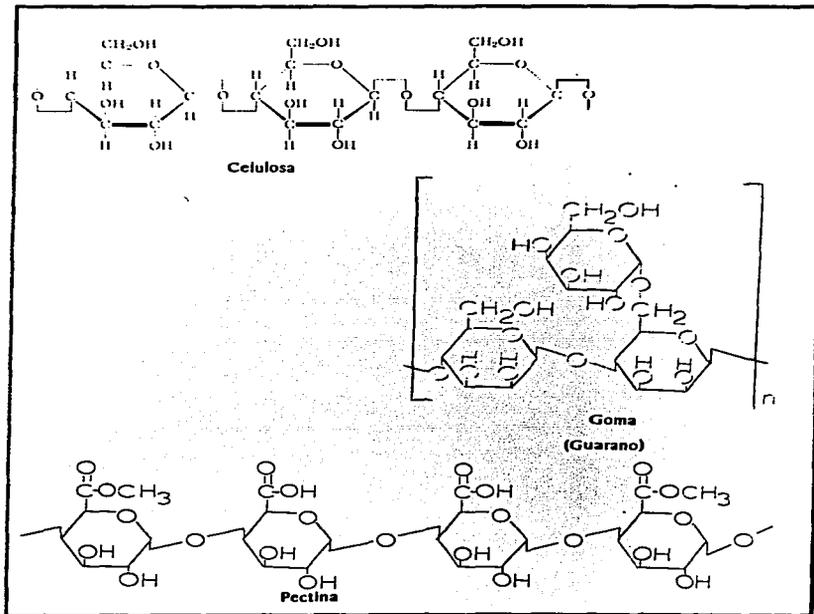


FIG. 2. UNIDADES BÁSICAS DE ALGUNOS POLISACÁRIDOS NO UTILIZABLES ENERGÉTICAMENTE.

Dentro del grupo de las solubles se incluye a las sustancias pécticas e hidrocoloides, como algunas gomas y hemicelulosas y se encuentra de forma natural en frutas y vegetales, de los cuales se extrae con agua caliente. Mientras que la insoluble: celulosa, otras hemicelulosas, y lignina se encuentra en granos enteros (16, 17, 18).

Las fibras solubles son componentes importantes de muchas plantas alimenticias, en promedio, los porcentajes del total de fibra dietética en estos grupos de alimentos son: en verduras 32%, cereales 32%, frijoles 25% y frutas 38% (19).

De los diversos estudios hechos se ha concluido que es la fibra dietética soluble la responsable de disminuir los niveles de colesterol en sangre en humanos y animales (15, 19, 20). En tanto que a la fibra insoluble se le asocia con la disminución en la retención de minerales, y la buena formación del bolo fecal (21).

1.2.4. Recomendaciones de Consumo.

Como la fibra dietética no es nutrimento sino un componente de la dieta, no existen recomendaciones de ingestión propiamente dichas, pero se ha propuesto como deseable una ingesta total de alrededor de 30 g / día de fibra dietética (22). En general debe proceder de alimentos ricos en fibra —cereales de grano entero, frutas y verduras— más que de suplementos. La razón es que, al igual que la fibra, estos alimentos son fuentes valiosas de una gran variedad de nutrimentos.

1.2.5. Digestión.

Si bien el concepto original de la fibra dietética se basó en su carácter de indigerible hoy es claro que muchas de ellas se digieren parcial o totalmente en el ciego por efecto de las enzimas de la flora intestinal y, por ello, la definición actual indica que no son digeridas por las enzimas que produce el tubo digestivo mismo.

Dentro de los componentes de la fibra dietética, los no celulósicos son los de más fácil digestión, dada su solubilidad en agua, por ejemplo, la pectina tiene una digestibilidad del 60%.

La digestibilidad de la fibra dietética no lignificada ocurre por fermentación, acción que lleva a cabo la flora anaerobia en el ciego o intestino grueso.

Los ácidos grasos de cadena corta (SCFA): acetato, propionato y butirato son el producto de la fermentación de la fibra dietética, éstos son absorbidos y usados como energía por las células, e inducen la proliferación de las células mucosas ^(5, 17).

1.2.6. Funciones Fisiológicas.

La fibra dietética a pesar de que no es digerida por el organismo, no es inerte nutricionalmente hablando; ésta tiene capacidad de unirse a ciertos iones metálicos y ácidos biliares .

Dietas pobres en fibra dietética están asociadas con la eliminación de un pequeño volumen de heces, y frecuentemente con estreñimiento y esfuerzo al defecar. Esto se ha relacionado con el desarrollo de hemorroides, venas varicosas y enfermedad diverticular del colon. Estas enfermedades son más comunes en los países occidentales donde la gente generalmente tiene ingesta relativamente baja de fibra dietética, que en zonas del mundo donde la ingesta es mayor ⁽²¹⁾.

Los polisacáridos pertenecientes a la fibra dietética, pueden unirse a varios compuestos potencialmente indeseables del lumen intestinal, y de esta forma reducir su absorción. Lo cual es especialmente importante con respecto al cáncer de colon. Varios compuestos que se cree están asociados a la promoción del cáncer de colon, están localizados en el tracto intestinal, ya sea porque conforman a los alimentos o bien porque sean productos del metabolismo bacteriano. Tales compuestos son fijados por la fibra dietética, impidiendo de esta manera la interacción de ellos con la pared intestinal, y son eliminados en las heces.

A pesar de lo anterior será prudente mencionar que la fibra dietética no es la única que participa en este beneficio, si bien estudios epidemiológicos muestran que dietas con elevado contenido de fibra dietética se relacionan con un bajo riesgo de cáncer en el colon, también es cierto que dietas ricas en fibra dietética, son aquellas que contienen una cantidad relativamente elevada de frutas y verduras, y por lo tanto tales dietas son también generalmente ricas en vitaminas C y E y carotenos, que también presentan alguna acción protectora frente al desarrollo del cáncer.

La fibra dietética, se ha encontrado que también puede ayudar a disminuir el colesterol sanguíneo. Esto ocurre porque las sales biliares, que son necesarias para la absorción de lípidos, se forman en el hígado a partir de colesterol y son segregadas en la biliar. Normalmente, una porción considerable de las sales biliares es reabsorbida; cuando la dieta es rica en fibra dietética, las sales biliares son retenidas, y por lo tanto no pueden ser reabsorbidas. Esto implica que tienen que sintetizarse más sales biliares, usando así más colesterol.

2. LÍPIDOS

2.1 Clasificación.

Los lípidos son sustancias de origen biológico, solubles en disolventes orgánicos, pero muy poco solubles en agua (FIG. 3). La clasificación de los lípidos por su importancia nutricional es:

A. Ácidos Grasos.

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos con cadenas laterales hidrocarbonadas largas.

Raramente se encuentran libres en la naturaleza, ya que más bien se hallan en forma esterificada como componentes mayoritarios de los diversos lípidos.

B. Triglicéridos.

Los triglicéridos son sustancias apolares, insolubles en agua, son triésteres de ácidos grasos de glicerol. Funcionan como almacenes de energía en los animales y son, por tanto la clase de lípidos más abundante.

Los triglicéridos difieren según la identidad y colocación de sus ácidos grasos. Los denominados triglicéridos simples contienen un tipo de ácido graso que da origen a la nomenclatura. Por ejemplo el triesteroilglicerol o tristearina contiene tres ácidos esteáricos. Los triglicéridos mixtos, que son más frecuentes, contienen dos o tres tipos diferentes de ácidos grasos.

Las grasas y los aceites son mezclas complejas de triglicéridos simples y mixtos y cuya composición varía según el organismo productor. Los aceites vegetales normalmente son más ricos en ácidos grasos insaturados que las grasas animales tal como sugieren los puntos de fusión más bajos de los aceites.

Como ya se mencionó antes, las grasas constituyen una forma eficiente de almacenamiento de la energía metabólica. Esto se debe a que las grasas están menos oxidadas que los glúcidos o las proteínas y de aquí que su rendimiento de energía en la oxidación sea significativamente mayor. Además las grasas al ser sustancias apolares, se almacenan en forma anhidra mientras que el glucógeno, por ejemplo, en condiciones fisiológicas flota alrededor del doble de su peso de agua. Las grasas proporcionan, por tanto alrededor de seis veces la energía metabólica de un peso igual de glucógeno hidratado.

C. Colesterol.

Es considerado el esteroil más abundante del reino animal. No todo el colesterol proviene de la dieta, parte de él se sintetiza, tiene gran importancia en la nutrición humana, ya que la mayor parte del colesterol total que tiene el organismo humano, se encuentra en el cerebro, nervios periféricos, tejido conjuntivo y músculos, además es esencial en la síntesis de esteroides como los ácidos biliares, hormonas corticoadrenales y sexuales, y vitamina D.

Es abundante en las lipoproteínas de plasma sanguíneo en las que alrededor de 70% del mismo está esterificado con ácidos grasos de cadena larga formando ésteres de colesterol.

D. Lipoproteínas.

Éstas son proteínas ligadas a lípidos. Las lipoproteínas funcionan en el plasma sanguíneo como vehículos transportadores de triglicéridos y de colesterol.

Se han clasificado en cinco grandes categorías en función de sus propiedades funcionales y físicas:

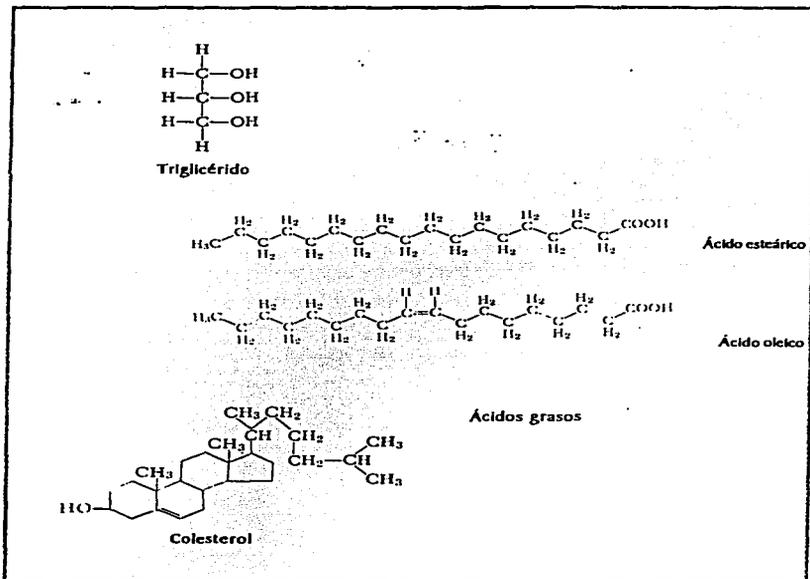
1. Quilomicrones, transportan triglicéridos y colesterol exógenos (suministrados externamente, es decir provenientes de la dieta), desde los intestinos a los tejidos.
2. Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).
3. Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL).
4. Lipoproteínas de baja densidad (LDL).

Estos tres últimos grupos de lipoproteínas transportan triglicéridos y colesterol endógenos (suministrados internamente) desde el hígado a los tejidos (el hígado sintetiza triglicéridos a partir de un exceso de glúcidos).

5. Lipoproteínas de alta densidad (HDL) transportan colesterol endógeno desde los tejidos al hígado.

Cada una de las lipoproteínas contiene la cantidad suficiente de proteína fosfolípidos y colesterol para formar una monocapa de 20 amstrongs de grosor de estas sustancias en la superficie de la partícula. La densidad de las lipoproteínas aumenta al disminuir el diámetro de la partícula ya que la densidad de la cubierta externa es mayor que la del núcleo central.

FIG. 3. ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE ALGUNOS LÍPIDOS.



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Como las lipoproteínas de VLDL, IDL, LDL y HDL se unen a colesterol, también se le suele llamar colesterol de muy baja, intermedia, baja y alta densidad, respectivamente, quedando sus siglas como VLDL-C, IDL-C, LDL-C y HDL-C.

2.2. Recomendaciones de Consumo.

Las recomendaciones señalan que no deben ingerirse lípidos en cantidad mayor al 30% de la energía total de la dieta.

Con respecto al tipo de grasa, la saturada debe ser menor del 10% de la energía total, la insaturada comprendida entre ácido linoléico y ácidos n-3 algo menos también del 10%, dejando para el ácido oleico cantidades cercanas al 15%.

2.3. Absorción de los triglicéridos.

Los triglicéridos son insolubles en agua mientras que las enzimas digestivas son solubles en ella, la digestión de los triglicéridos transcurre en las interfases lípido-agua. La velocidad de la digestión del triglicérido depende, por tanto, del área superficial de la interfase, una cantidad que aumenta mucho por los movimientos peristálticos de agitación del intestino combinados con la acción emulsionante de los ácidos biliares.

Los triglicéridos, provenientes de la dieta, o bien en el tejido adiposo como reserva, son metabolizados de la siguiente manera (FIG. 4)

- a) Hidrólisis del triglicérido hasta formar tres moléculas de ácidos grasos y una de glicerol.
- b) El glicerol es convertido en hidroxacetona fosfato y así está disponible, bien para posterior oxidación, vía piruvato hasta acetil CoA, en estado de saciedad, o bien para conversión en glucosa en estado de ayuno.
- c) Los ácidos grasos son oxidados por la ruta de β -oxidación, en la que se escinden al mismo tiempo dos átomos de carbono de la cadena del ácido graso como acetil CoA. Este acetil CoA entra luego en el ciclo del ácido cítrico, junto con el que proviene del metabolismo de piruvato.

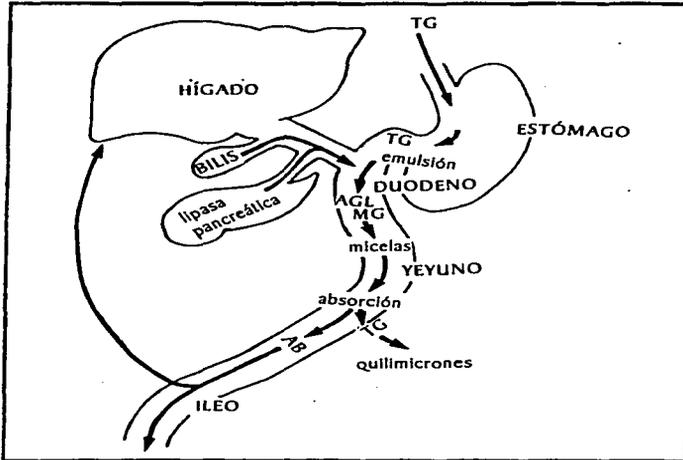
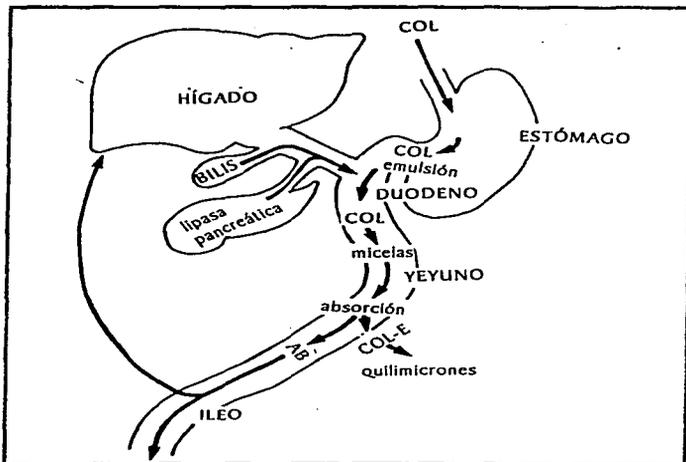


FIG. 4. Digestión y Absorción de Triglicéridos en la Dieta⁽³²⁾.
TG, triglicéridos; MG, monoglicéridos;
AGL, ácidos grasos libres; AB, ácidos biliares.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FIG. 5. Digestión y Absorción de Colesterol en la Dieta ⁽¹⁷⁾
 COL, colesterol; COL-E, colesterol Esterificado; AB, ácidos biliares.



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

2.4. Absorción del colesterol.

La absorción del colesterol se da de manera muy similar a la de los triglicéridos. La mayor parte del colesterol de la dieta está libre, solo una parte se encuentra esterificado. El colesterol esterificado es hidrolizado por la colesterol esterasa en los jugos pancreáticos antes de ser absorbidos. El colesterol no esterificado (colesterol libre) es enviado en una mezcla micelar y absorbido fácilmente en el yeyuno como en el caso de los triglicéridos (FIG. 5)

3. INTERACCIÓN DE LA FIBRA DIETÉTICA CON LOS LÍPIDOS.

Como hemos dicho, las interacciones de la fibra dietética con los lípidos, son las responsables de la menor absorción de los lípidos por el organismo. Las teorías propuestas para explicar este efecto son las siguientes:

3.1. Unión a Ácidos Biliares.

Esta teoría es la más popular y propone que los ácidos biliares pueden unirse, ser adsorbidos o secuestrados por fibra dietética específica, por lo cual no participarán en el mecanismo de absorción de lípidos. La unión ácidos biliares-fibra dietética es inespecífica.

Esta teoría se basa en la observación de que la pérdida de ácidos biliares asociados con el consumo de fibra dietética es del 30-70% ^{15, 13}.

3.2. Interferencia por la Fibra en la Estabilidad de Micelas.

Es bien conocido el hecho de que los lípidos pueden ser absorbidos cuando forman parte de emulsiones y pueden formar mezclas micelares. Si las mezclas micelares se desintegran, los componentes micelares no pueden ser absorbidos eficazmente ni utilizados. La fibra dietética ejerce fuerzas físicas y químicas que desestabilizan las mezclas micelares. Algunas fibras, principalmente las cargadas positivamente, desestabilizan la micela al formar enlaces iónicos con los componentes micelares cargados negativamente ¹².

¹⁰.

3.3. Adaptación de la Estructura Intestinal por la Fibra Dietética.

Esta teoría es propuesta por Vahouny, la teoría postula que un consumo prolongado de fibra dietética pueden modificar las características morfológicas del intestino ⁽¹⁹⁾.

3.4. Interferencia del Bolo en la Difusión y Disponibilidad en la Superficie Intestinal.

La premisa principal de esta teoría es la observación que fibras solubles actúan como agentes antimotilidad los cuales reducen la difusión de los nutrimentos, incluyendo lípidos y colesterol ^(12, 20).

3.5. Inhibición de la Actividad de la Lipasa Pancreática.

Esta teoría asume que la fibra puede inhibir la actividad de la lipasa pancreática, que conduce a la reducción del nivel de hidrólisis y absorción de los triglicéridos, en consecuencia un efecto hipolipidémico. Esta teoría es poco aceptada, porque en efecto, hay trabajos que reportan la inhibición de la enzima in vitro pero por fibras insolubles, lo cual no concuerda con los trabajos en donde se suministra este mismo tipo de fibra en donde no hay modificación en los niveles lipídicos ^(12, 20).

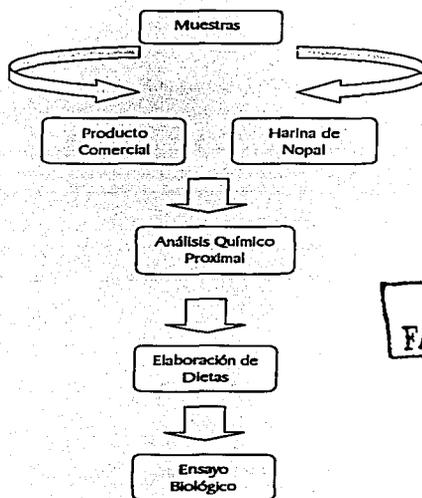
3.6. Inhibición de la Síntesis de Colesterol por Propionato.

La fibra soluble fermentable, tal como el β -glucano incrementa las concentraciones de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) en colon y subsecuentemente en la vena porta y sangre hepática. Esto sugiere que el propionato inhibe la síntesis del colesterol en hígado y contribuye a que los niveles de éste disminuyan ^(12, 20).

IV. Desarrollo Experimental.

El diagrama general de la Investigación se presenta en la FIG. 6 y a continuación se describe el desarrollo.

FIG. 6 Diagrama General del Desarrollo Experimental



1. MANEJO Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.

Se trabajaron dos muestras como fuente de fibra, un producto comercial y nopal.

1.1. Comercial.

El producto lo venden como Fibras Dietéticas "Fibrede", en presentación de botes de 200 g. Está hecho en México por Plantas M. Anáhuac.

Se adquirieron tres botes con 200 g cada uno, lote No. 009G208 y con fecha de caducidad de Agosto/2005.

Se mezcló el contenido de los tres recipientes y se guardó a temperatura ambiente hasta su uso para su análisis químico proximal.

1.2. Nopal.

El nopal fue adquirido en la Tienda de la UNAM, se compraron 4 Kg.

El producto fue lavado y secado (escurrido), se pesó para tener el valor exacto de la materia con la que se contaba, eran 3 917g, este dato permitió calcular la humedad gruesa del nopal.

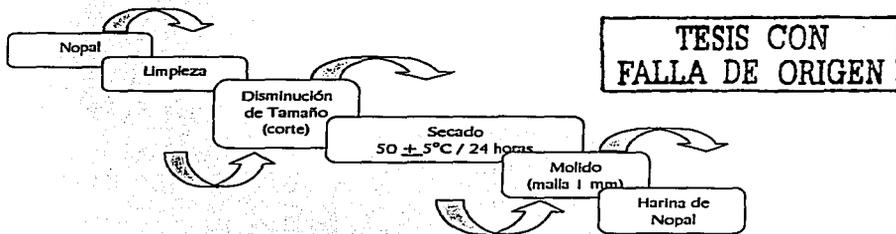
Para su secado se tomó una porción, se cortó en trozos delgados y pequeños, colocándose en las charolas de secado. El secado se hizo a $50 \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 24 horas, debía removerse el tejido por lo menos cada ocho horas para lograr un secado homogéneo (FIG. 7).

El resto del nopal se guardó en refrigeración mientras se secaba la otra porción.

Cuando se tuvo todo el nopal seco se pesó, teniendo una masa final de 400 g.

Finalmente se mollió pasando por malla de 1 mm., obteniendo un polvo fino que se guardó en un recipiente cerrado a temperatura ambiente.

FIG. 7 Tratamiento del Nopal para la obtención de Harina.



2. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.

Tanto al producto comercial como a la harina de nopal se le realizó su análisis químico proximal de acuerdo a los métodos del A.O.A.C. ²³, estableciendo las siguientes determinaciones:

- Humedad
- Cenizas
- Proteína Cruda
- Grasa Cruda
- Fibra Cruda
- Hidratos de Carbono por Diferencia

3. ENSAYO BIOLÓGICO.

Para el ensayo biológico se trabajó con ratos macho de la cepa Winstar de 21 días de nacidas, con un peso de 35 ± 10 g. Se formaron 3 grupos con 7 ratas en cada uno, mediante el uso de "culebra japonesa" para una distribución homogénea.

El primer grupo corresponde al CONTROL, el segundo al que consumiría FIBRA COMERCIAL y el tercero al que tendría NOPAL como fuente de fibra en la dieta.

El ensayo biológico se dividió en dos partes, que se caracterizaron básicamente por la diferencia de la proporción de lípidos en la dieta. En la primera parte, el contenido de lípidos fue de 14 g / 100 g dieta (valor normal), en la segunda, éste aumentó en un 50%, es decir 21 g / 100 g dieta.

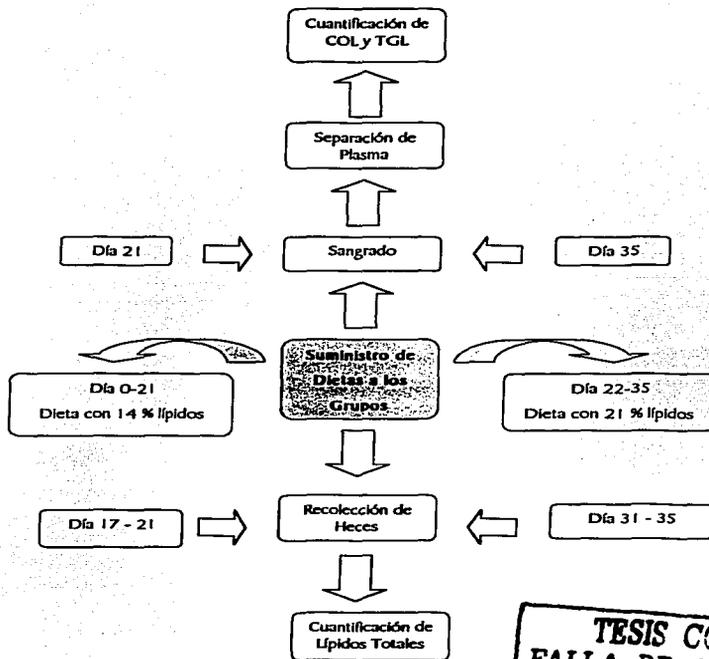
1ª Parte del Ensayo Biológico.

- Duración. El período de esta parte fue del día 0 al 21, durante los cuales se les alimentó con la dieta correspondiente a cada grupo. Los animales eran pesados cada tercer día y se registró este peso. Así mismo se les dejaba una cantidad conocida de alimento, se pesaba la cantidad que no consumían, para que por diferencia se supiera la cantidad exacta de alimento que consumían.
- Dieta. Las dietas se prepararon isotérmicas e isocalóricas al 10 % de caseína y 4.3 Kcal / g dieta respectivamente, además el contenido de fibra en la dieta fue de 2.88 g / 100 g dieta, de los cuales el 50 %, es decir, 1.44 g eran aportados por celulosa y los otros 1.44 g provenían del producto comercial o del nopal, según al grupo que correspondiera. La dieta del grupo control no contenía fibra.

La formulación de las dietas pueden consultarse en la sección de *Resultados y Análisis*.

- Recolección de heces. Durante la última semana de esta parte del ensayo se recolectaron individualmente las heces de cada una de las ratas, esto se hizo cada tercer día, cuidando de eliminar cualquier materia extraña, como restos de alimento, pelos, etc.
Se secaron al sol y se guardaron en recipientes cerrados e identificados con número de rata y grupo a la que pertenecía.
Antes de determinar en ellas la cantidad de grasa, se pulverizaron en un mortero.

FIG. 8 Diagrama del Ensayo Biológico.



IV. Desarrollo Experimental

- **Sangrado.** La toma de muestra de sangre se realizó el día 21. A la rata se le administró de 0.1 a 0.3 mL de pentobarbital como anestésico, vía intraperitoneal. El sangrado se hizo por punción cardíaca, el volumen obtenido fue variado, dependiendo del peso de cada animal.
La sangre obtenida de cada rata fue recolectada en un tubo con heparina como anticoagulante. Posteriormente fue sometida a centrifugación a 1 500 rpm durante 15 min., se separó el suero del plasma por decantación y este último fue guardado en tubos ependorf y almacenados a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis para colesterol y triglicéridos.

2ª Parte del Ensayo Biológico.

- **Duración.** El período comprendido para esta parte fue del día 22 al 35. Ahora las dietas suministradas contenían un 50 % más de lípidos, es decir 21 g lípidos / 100 g dieta, con la finalidad de observar el efecto de este aumento, tanto en la excreción de lípidos en heces, como en los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos. Los animales se seguían pesando cada tercer día, con el registro del mismo así como del alimento que consumían.
- **Dieta.** Las dietas se prepararon isotónicas e isocalóricas al 10 % de caseína y 4.65 Kcal / g dieta respectivamente. El contenido energético de la dieta aumentó, debido al cambio de la proporción de lípidos, lo que también hizo que se modificara la cantidad de hidratos de carbono, que disminuyeron de 66 g a 59 g hidratos de carbono / 100 g dieta. El contenido de fibra en la dieta se mantuvo en 2.88 g / 100 g dieta, de los cuales el 50 %, es decir, 1.44 g eran aportados por celulosa y los otros 1.44 g provenían del producto comercial o del nopal, según el grupo que correspondiera. La dieta del grupo control no contenía fibra.
La formulación de las dietas pueden consultarse en la sección de *Resultados y Análisis*.
- **Recolección de heces.** Durante la última semana de esta parte del ensayo se recolectaron individualmente las heces de cada una de las ratas, esto se hizo cada tercer día, cuidando de eliminar cualquier materia extraña, como restos de alimento, pelos, etc.

IV. Desarrollo Experimental

Se secaron al sol y se guardaron en recipientes cerrados e identificados con número de rata y grupo al que pertenecía.

Antes de determinar en ellas la cantidad de grasa, se pulverizaron en un mortero.

- **Sangrado.** La toma de muestra de sangre se realizó el día 35, y se siguió el mismo procedimiento que para la primera parte del ensayo.

V. Metodologías.

I. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.

Tanto al nopal seco y molido como al producto comercial se les realizó un análisis químico proximal de acuerdo a los métodos del A.O.A.C.⁽²³⁾, estableciendo las siguientes determinaciones:

- Humedad
- Cenizas
- Proteína cruda
- Grasa cruda
- Fibra cruda
- Hidratos de Carbono por diferencia

1.1 Determinación de humedad.

Fundamento.

La determinación se basa en la eliminación de agua en forma de vapor mediante la aplicación de calor.

Material.

Estufa de vacío LAB-LINE mod.3620

Balanza analítica

Desecador

Charolas de aluminio

Procedimiento.

Se pone a peso constante el recipiente en donde se va a efectuar la determinación (charola de aluminio), poniéndolas de 2 a 4 horas a 60-65°C en la estufa.

A continuación se pesa la muestra (de 2-5 g), se coloca tratando de que presente la mayor superficie de evaporación, se introduce en la estufa que se encuentre entre 60-65 °C. Retirar de la estufa, dejar enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir las operaciones de secado hasta peso constante, es decir que dos pesadas sucesivas no registren una diferencia mayor de 0.001 g.

Cálculos.

Teniendo el peso de la charola con muestra antes y después de secada, y con el peso de la charola sola, se puede hacer la determinación. Generalmente la pérdida del material que se volatiliza bajo estas condiciones, se acostumbra denominarla "humedad".

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

Donde:

P_i = peso charola con muestra antes del secado (g)

P_f = peso charola con muestra después del secado (g)

m = peso de muestra (g)

1.2. Determinación de cenizas.

Fundamento.

Las cenizas forman el residuo inorgánico que queda después de una incineración de la materia orgánica del alimento. Estas pueden cuantificarse por medio de una diferencia de pesos después de realizada la incineración ²⁰.

Material.

Mufla THERMOLYNE, Mod. 1500

Balanza analítica

Mechero Bunsen

Crisoles de porcelana

Desecador

Procedimiento.

Previamente se deben poner a peso constante los crisoles, los cuales se deben colocar en la mufla a una temperatura de 500 °C, marcándolos con lápiz o, cualquier sustancia que no se elimine en el proceso de incineración.

Al crisol se le coloca de 2-3 gramos de muestra aproximadamente, se pone a carbonizar a la flama de un mechero y bajo una campana, ya que se desprende gran cantidad de humo. Cuando ya no se presente desprendimiento de humo, se puede introducir el crisol a la mufla, la cual debe encontrarse entre 500-550 °C. La incineración se lleva a cabo hasta la obtención de cenizas blancas o ligeramente grisáceas, homogéneas. Enfriar en desecador y pesar.

Cálculos.

El cálculo de cenizas en términos de porcentaje es el siguiente:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{Pf - Pi}{m} \times 100$$

Donde:

Pf = Peso del crisol con la muestra después de incinerada (g)

Pi = Peso del crisol a peso constante (g)

m = Peso de muestra (g).

1.3. Determinación de grasa

Fundamento.

La determinación del extracto etéreo incluye una gran variedad de compuestos orgánicos, únicamente unos pocos de ellos tienen interés nutricional; aquellos que se encuentran en gran cantidad incluyen la grasa verdadera, ácidos grasos y sus ésteres, vitaminas liposolubles y provitaminas tales como son los carotenoides.

La determinación se basa en la solubilidad de las grasas en éter etílico, el cual al ser calentado se volatiliza, y al hacer contacto con una superficie fría se condensa y pasa a través de la muestra extrayendo sustancias solubles en el éter. Finalmente el éter se evapora y en el vaso queda el residuo conocido como grasa cruda, el cual contiene la mezcla cruda del material lipídico ^(24, 25).

Al escoger el solvente de extracción (éter etílico, éter de petróleo, hexano), se deben tomar sus ventajas y desventajas para una buena elección. El éter etílico, es el solvente más eficaz y se utiliza en el establecimiento de las normas existentes. La desventaja es que el material debe estar libre de agua o alcohol, ya que el éter húmedo disuelve el azúcar y algunos otros hidratos de carbono, por lo cual es indispensable que la muestra se encuentre seca.

Material / Reactivos.

Aparato de extracción Goldfish, LABCONCO

Cartuchos de celulosa de 22 x 80 mm

Estufa de vacío LAB-LINE mod.3620

Vasos de borde esmerilado

Éter etílico RA

Balanza analítica

Procedimiento.

Para esta determinación es aconsejable trabajar con la muestra previamente secada, por lo cual a la que se le haya determinado humedad, inmediatamente se trabaja en la determinación de grasa, para ello dentro de un cartucho de celulosa se colocan de 2 a 5 gramos de muestra (dependiendo del contenido de grasa), se tapa con un pedazo de algodón y se coloca en el compartimento de extracción del aparato Goldfish, que es un dispositivo comercial que consta de 6 unidades de extracción, las cuales se pueden usar todas a la vez. El cartucho de celulosa se coloca en el portadetal y éste a su vez en el seguro metálico del aparato. A continuación se colocan aproximadamente 50 mL de solvente sobre el vaso de borde esmerilado, y este con la ayuda del anillo metálico con rosca se asegura al aparato de extracción.

Para el calentamiento en el aparato, se sube la parrilla hasta que esté en contacto con el vaso, además se abre la llave del agua para que circule ésta sobre los refrigerantes. Cuando se trabaja con éter, es conveniente colocar el control de calentamiento en LOW (bajo). Una vez transcurrido el tiempo de extracción, se bajan las parrillas de calentamiento, y se colocan los platillos de seguridad, se quita el anillo de rosca y se saca el portadetal con el cartucho, sustituyéndose por el tubo recuperador volviéndose nuevamente a colocar el vaso para proceder a calentar otra vez, pero en este caso el solvente quedará retenido en el tubo recuperador, posteriormente quitar el vaso del equipo y secar el extracto en la estufa de vacío a 60-65 °C durante dos horas, dejar enfriar en el desecador hasta temperatura ambiente, pesar y repetir la operación hasta que el vaso esté a peso constante.

Cálculos.

Para los cálculos se deben de tener los pesos del recipiente colector tanto antes como después del procedimiento de extracción. A esta determinación se le conoce como extracto etéreo.

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{m} \times 100$$

Donde:

Pf = Peso del recipiente después de la extracción (g)

Pi = Peso del recipiente antes de la extracción (g)

m = Peso de la muestra seca (g)

1.4. Determinación de Proteína.

Fundamento.

El método empleado usualmente para la determinación de nitrógeno en alimentos, es el método Kjeldahl y varias modificaciones se han desarrollado en la actualidad. El procedimiento consiste en una oxidación de la materia orgánica por acción del ácido sulfúrico para formar dióxido de carbono, agua y liberar el nitrógeno como amoníaco, el amoníaco existe en la solución ácida como sulfato ácido de amonio, debido a que en la mezcla de reacción siempre hay un exceso ácido ²⁴.



La digestión de la muestra para formar el sulfato de amonio es la parte más difícil de la operación. Muchos agentes catalizadores han sido usados para aumentar la velocidad de digestión de la muestra, como son el cobre, mercurio y el selenio entre otros. Se han usado con mucha efectividad la combinación de catalizadores como es el uso de cobre-mercurio, cobre-selenio y mercurio-selenio.

Numerosos agentes oxidantes han sido adicionados al final del período de digestión para obtener una completa oxidación; en varios tipos de muestras la pérdida de nitrógeno a través de la formación de ami-

nas o de nitrógeno libre se ha presentado por el uso de estos agentes a excepción del uso del peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno debe ser usado cuidadosamente, ya que es común preservarlo con acetanilida para reducir la formación de oxígeno y agua.

Sales como sulfato de potasio o de sodio son comúnmente adicionadas para aumentar el punto de ebullición de la mezcla de digestión, sin embargo la relación sal / ácido no debe ser muy alta, ya que se podría presentar la pérdida de amoníaco de la sal de amonio. El amoníaco obtenido después de la digestión, es liberado por una gran variedad de métodos, siendo el más usado por acción de un álcali y atrapando el amoníaco liberado en una cantidad conocida de ácido valorado.

Material / Reactivos.

Digestor TECATOR mod. Ab-20/40

Autoanalizador de Proteína TECATOR mod. 1030

Tubos de digestión TECATOR de 75 mL

Balanza analítica

Mezcla digestiva (a)

Peróxido de hidrógeno al 30%

Sulfato de potasio RA

Solución de NaOH al 40%

Solución de ácido bórico al 1% con Indicadores (b)

Solución de HCl 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 (H_3PO_4) y una vez disuelta la sal, adicionar cuidadosamente 430 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Agitar la mezcla durante 30 minutos aproximadamente.

(b) Solución de ácido bórico con indicadores : se pesan 100 g de ácido bórico en 1 l. de agua destilada. A continuación se agregan 100 mL de verde de bromocresol (100 mg en 100 mL de metanol). Posteriormente, agregar 70 mL de rojo de metilo (100 mg en 100 mL de metanol). Mezclar vigorosamente. Para ajustar la solución, tomar 25 mL de ácido bórico con indicadores y mezclarlos con 100 mL de agua destilada. La solución debe dar un tono gris, si persiste el color rojo inicial, ajustar con solución de NaOH 0.1N hasta obtener el color gris-vire (mL NaOH 0.1N = mL título x 40). Una vez calculada la cantidad de NaOH 0.1N necesaria, agregar el volumen calculado de ácido bórico y agitar.

Procedimiento.

Pesar de 10 a 100 mg de muestra, dependiendo de la cantidad de proteína presente en la misma, en un papel delgado. Introducir en el tubo de digestión, agregar aproximadamente 0.5 g de K_2SO_4 y 3 mL de la mezcla digestiva. Se coloca el tubo en el digestor a una temperatura menor de 370 °C por 15 minutos. Sacar el tubo del digestor, dejar enfriar y adicionar 1.5 mL de peróxido de hidrógeno al 30% y colocar nuevamente en el digestor a 370 °C hasta total destrucción de la materia orgánica, es decir hasta que el líquido quede transparente, con una coloración azul-verdosa.

Se deja enfriar el tubo hasta temperatura ambiente, se agregan 25 mL de agua destilada y se procede a destilar en el autoanализador de proteína.

Destilación: se deben revisar los niveles de todos los reactivos y que la llave del agua esté abierta. Una vez encendido el equipo, se debe llenar la tubería con ácido bórico para desplazar al ácido que se haya acumulado. El reactivo debe salir de color rojo. A continuación introducir un tubo sin muestra en el sitio correspondiente y cerrar la puerta de seguridad; esperar a que el vapor sea generado, dejar destilar dos veces y sacar el tubo.

Posteriormente pueden introducirse los tubos con muestra a los cuales se les ha agregado 25 mL de agua destilada. Al colocar los tubos, deben introducirse primero los blancos y después las muestras. El equipo proporciona de manera automática el volumen de HCl 0.01 N gastado en la titulación; anotar este volumen. Finalmente, después del último tubo con muestra, introducir un tubo con agua y destilar.

Cálculos.

Para realizar los cálculos es conveniente correr un blanco, en donde se sustituye la muestra por el equivalente en peso de glucosa o sacarosa, trabajándose en la misma forma.

$$\% N_2 = \frac{(P-B) \times N \times meq \times 100}{m}$$

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

Donde:

P = mL de la titulación de la muestra

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 (en gramos)

F = factor de conversión (6.25).

1.5. Determinación de fibra cruda.

Fundamento.

Para la determinación de fibra de una muestra es necesario trabajar con una muestra desengrasada y someterla a hidrólisis ácida seguida de una hidrólisis alcalina con una posterior incineración del material insoluble para que por diferencia sacar el contenido de hidratos de carbono no-degradables. Por definición de acuerdo al método Weende, la fibra cruda es la pérdida por ignición, del residuo seco remanente después de la digestión de la muestra con ácido sulfúrico al 1.25 % y NaOH al 1.25% bajo las condiciones bien especificadas, de una muestra previamente desengrasada.

Material / Reactivos.

Vasos de Berzellius de 600 mL KIMAX

Aparato de digestión LABCONCO

Estufa de vacío -U- -TLIVURAI M VNIL

Mufla THERMOLYNE

Aparato de digestión Fibertec marca TECATOR

Heat Extractor

Crisoles de porcelana y de vidrio-TECATOR

Filtro Buchner con malla de acero

Solución de H_2SO_4 al 1.25% (m/v)

Solución de NaOH al 1.25 % (m/v)

Antiespumante

Alcohol etílico

Procedimiento.

Se pesan de 3-5 g de muestra desengrasada sobre un vaso de Berzellius que contenga 0.5 g de silicato de aluminio y unas perlas de vidrio. A continuación se le adiciona 200 mL de H_2SO_4 al 1.25% (m/v) que esté hirviendo, y unas gotas de antiespumante e inmediatamente se coloca en el aparato de digestión, el cual debe estar previamente caliente, se deja digerir por espacio de 30 minutos exactos. Después de dicho periodo se vacía el contenido sobre un buchner que contenga filtro de acero y se realiza la filtración con ayuda de vacío: se lava el residuo con agua destilada caliente, hasta eliminar el ácido (aprox. 500 mL) . Una vez lavado el residuo se transfiere nuevamente al vaso Berzellius, se le adiciona unas gotas de antiespumante y 200 mL de NaOH al 1.25% que esté hirviendo y se mantiene en el aparato de digestión por exactamente 30 minutos. Transcurrido el tiempo se vacía nuevamente al buchner con malla de acero y se filtra lavando el residuo con agua caliente (aprox. 500 mL) hasta eliminar el álcali, también quitar las perlas de vidrio lavándolas con agua para recuperar el material adherido. Por último se le adiciona al residuo 25 mL de alcohol etílico.

El residuo se pasa a un crisol de porcelana (a peso constante) cuidando de hacerlo en forma cuantitativa. Se coloca en la estufa de vacío para su secado (aprox. 4-8 horas) y después se pesa. A continuación se carboniza y se introduce en la mufla para su incineración, para después de realizada dicha operación volver a pesar el crisol.

Cálculos.

Ya que se requiere trabajar con muestras previamente desengrasadas, es recomendable usar la muestra a la que se le determinó humedad y grasa, por lo cual el peso de la muestra, será el referido al peso inicial previo a las anteriores determinaciones.

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{Ps - Pc}{m} \times 100$$

Donde:

Ps = peso crisol con residuo después de secado (en gramos)

Pc = peso crisol con residuo después de calcinado (en gramos)

m = peso de muestra (en gramos)

1.6. *Hidratos de Carbono asimilables por diferencia.*

Son los hidratos de carbono que pueden ser asimilados y digeridos por el hombre.

El contenido de hidratos de carbono asimilables se obtiene teóricamente restando al 100% el resultado de la suma de los porcentajes de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra dietética total contenidos en la muestra. El resultado de esta muestra corresponde al porcentaje de hidratos de carbono asimilables en la muestra.

2. FIBRA DIETÉTICA

Fundamento.

Este método fue propuesto por Prosky²⁵; es una combinación de métodos enzimáticos y gravimétricos que permite la cuantificación del contenido total de fibra en un alimento.

La muestra seca y libre de grasa es gelatinizada en primer lugar en una solución amortiguadora antes de ser tratada con una alfa amilasa termoestable que hidroliza parcialmente al almidón. Posteriormente, se utiliza una proteasa para la hidrólisis de la proteína y finalmente se emplea una amiloglucosidasa para finalizar la hidrólisis del almidón presente en la muestra. A continuación se adiciona etanol para precipitar a la fibra dietética soluble. El residuo es filtrado y pesado y se realizan determinaciones de proteína y cenizas; la fibra dietética total es el peso del residuo menos el peso de la proteína y de las cenizas^{25, 26}.

Material / Reactivos.

(KIT SIGMA TDF-100 A para determinación de fibra dietética)

Baño de agua a 90 y 60 °C con agitación

Potenciómetro CORNING mod 430 ajustado a pH 4 y pH 7

Balanza analítica

Estufa de vacío LAB-LINE mod. 3620

Digestor TECATOR mod. Ab-2D/40

Dispositivo de destilación TECATOR mod. 1030

Mufla THERMOLYNE mod. 1500

Desecador

Matraces Erlenmeyer de 300 mL

Crisoles Pyrex para fibra de porosidad #2-C (ASTM 40-60)

Tubos de digestión TECATOR de 75 mL

Pipeta automática 100-1000 µL

Pipeta de 10 mL

Buffer de fosfatos pH 6 (a)

Alfa-amilasa termorresistente Sigma Co. A-3306

Proteasa Sigma Co. P-3910

Amiloglucosidasa Sigma Co. A-9913

NaOH 0.275 N (b)

HCl 0.325 M (c)

Etanol al 95%

Cellite libre de cenizas Sigma Co. C-8656

Etanol al 78% (d)

Acetona

Procedimiento.

- Preparación de soluciones.

- (a) Buffer de fosfatos 0.08 M, pH 6. Disolver 1.4 g de Na_2HPO_4 anhidro y 8.4 g de NaH_2PO_4 anhidro en aproximadamente 700 mL de agua destilada. Diluir a 1 L con agua destilada. Revisar pH y ajustar de ser necesario con NaOH o H_3PO_4 . Almacenar a temperatura ambiente.
- (b) Solución de NaOH 0.275 N. Agregar cuidadosamente 275 mL de NaOH 1.0N (solución estándar) a 700 mL de agua en un matraz volumétrico de 1 L. Diluir a 1 L con agua destilada. Si no se cuenta con la solución estándar, pesar 11.00 ± 0.01 g de hidróxido de sodio y disolver en un matraz volumétrico de 1 L con agua destilada. Almacenar a temperatura ambiente.
- (c) Solución de HCl 0.325 M. Agregar 325 mL de una solución estándar de HCl 1.0 M a 600 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1 L. Llevar al aforo con agua destilada. De no contar con solución estándar 1.0 M, colocar 9.8 mL de HCl concentrado en un matraz volumétrico de 1 L y llevar al aforo con agua destilada. Almacenar a temperatura ambiente.
- (d) Solución de etanol al 78%. Colocar 207 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1 L. Llevar al aforo con etanol al 95%. Mezclar y llevar al volumen, de ser necesario.

- Crisoles.

Lavar y calentar una hora a 525°C, enfriar. Enjuagar con agua y secar con aire caliente.

Pesar 0.5 g de celite en cada crisol y secar a 130 °C hasta peso constante. Enfriar en desecador y pesar. Este es el peso del celite + crisol.

- Muestra.

Si el contenido de grasa es mayor al 10% desengrasar con éter de petróleo, para las muestras en particular no fue necesario dado el bajo contenido de grasa. Homogeneizar las muestras y secar a 70°C en horno de vacío. Enfriar en desecador y moler hasta tamaño de partícula de 0.3-0.5 mm. Almacenar en desecador.

- Determinación.

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

1. Pesar cuatro veces 1 g de las muestras a analizar en matraces. El peso de las muestras no debe diferir por más de 20 mg.
2. Añadir 50 mL de buffer de fosfatos a pH de 6 a cada matraz.
3. Añadir 0.10 mL α -amilasa termorresistente a cada matraz y mezclar bien.
4. Cubrir cada matraz con papel aluminio y colocar en baño de agua hirviendo. Agitar los matraces a intervalos de 5 minutos. Incubar por 15 min después de que la temperatura interna de los matraces alcance los 95°C.
5. Dejar que las soluciones se enfríen a temperatura ambiente.
6. Ajustar el pH de las soluciones a 7.5 ± 0.2 añadiendo 10 mL de NaOH 0.275 N a cada matraz. Revisar pH, ajustar en caso necesario con NaOH o HCl.
7. Preparar 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.

8. Cubrir cada matraz con papel aluminio y colocar en baño de agua a 60 °C con agitación continua. Incubar por 30 minutos después de que la temperatura interna de los matraces alcance los 60°C.
9. Enfriar las soluciones a temperatura ambiente.
10. Ajustar el pH de las soluciones a 4.0-4.6 por adición de 10 mL de HCl 0.325 M a cada matraz. Revisar pH y ajustar de ser necesario con HCl o NaOH.
11. Añadir 0.3 mL de amiloglucosidasa a cada matraz.
12. Colocar en cada matraz papel aluminio y poner en baño a 60 °C con agitación continua, incubar 30 minutos después de que la temperatura interna alcance los 60°C.
13. Añadir cuatro volúmenes de etanol al 95% a cada matraz.
14. Dejar la solución durante la noche a temperatura ambiente para lograr precipitación completa.
15. Filtración. Mojar y redistribuir la cama de celite en cada crisol usando etanol al 78%. Aplicar succión, mantener la succión y transferir cuantitativamente el precipitado y la suspensión de cada matraz a su respectivo crisol. Lavar el residuo con tres porciones de 20 mL de etanol al 95% y dos porciones de 10 mL de acetona. Es posible que se forme una especie goma en algunas muestras. Rompiendo la película superficial con una espátula se acelerará la filtración. Asegúrese de remover cualquier material adherido a la espátula. El tiempo de filtración varía de 0.1 a 6 horas por crisol.
16. Secar los crisoles que contienen a los residuos durante la noche a 105 o 70°C en horno de vacío. Enfriar los crisoles en desecador, pesar a 0.1 mg y registrar el peso como residuo + celite + crisol. $\text{Peso del residuo} = (\text{residuo} + \text{celite} + \text{crisol}) - (\text{celite} + \text{crisol})$
17. Analizar dos residuos de muestras y blancos para proteína por Kjeldahl.
18. Obtener las cenizas de los residuos restantes de la muestra y blancos por cinco horas a 525 °C. Enfriar en desecador. Pesar a 0.1 mg y registrar el peso como cenizas + celita + crisol. $\text{Peso de cenizas} = (\text{cenizas} + \text{celita} + \text{crisol}) - (\text{celita} + \text{crisol})$

Cálculos.

$$\text{BLANCO} = \frac{\text{Promedio del peso del residuo del blanco (mg)} - \text{Promedio del peso del blanco de proteína (mg)}}{\text{Promedio del peso de las cenizas del blanco (mg)}}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ FIBRA} &= \frac{\text{promedio del peso del residuo de la muestra (mg)} - \text{promedio del peso de la proteína de la muestra (mg)}}{\text{promedio del peso de las cenizas de la muestra (mg)}} - \text{blanco} \\ \text{DIETÉTICA} &= \frac{\text{de la muestra (mg)}}{\text{de la muestra (mg)}} \frac{\text{de la muestra (mg)}}{\text{de la muestra (mg)}} \\ \text{TOTAL} &= \frac{\text{de la muestra (mg)}}{\text{de la muestra (mg)}} \end{aligned}$$

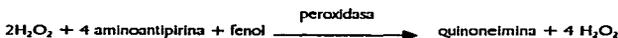
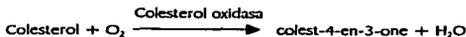
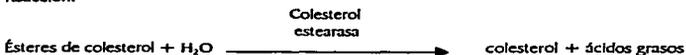
3. COLESTEROL.

Fundamento.

Análisis bicromático.

El reactivo es el resultado de una modificación del método establecido por Allain et al. ²⁷.

Reacción:



La producción de quinoneimina es proporcional a la concentración de colesterol de la muestra. Las lecturas se hacen a una longitud de onda primaria de 500 nm y secundaria de 690 nm.

Material / Reactivos.

(Kit IL Test TM Cholesterol de Instrumentation Laboratory)

Autoanalizador Monarch, Instrumentation Laboratory.

4 amino antipirina (4-AA P)	0.9 mmol/L
Fenol	21.0 mmol/L
Peroxidasa (POD)	>24 000 U/L
Colesterol oxidasa (CHOD) (bacteriana)	1 000 U/L
Colesterol esterasa	1 200 U/L

Cálculos

El sistema Monarch calcula la concentración de colesterol de la siguiente manera:

$$\text{CONC}_{\text{MUESTRA}} = \Delta A \text{ muestra} \times K$$

$$K = \frac{\text{CONC}_{\text{CALIBRADOR}}^*}{A_{\text{CALIBRADOR}}}$$

Donde:

CONC = concentración

A = absorbancia

Para convertir mg/dL en mmol/L multiplicar por 0.0256

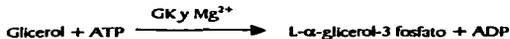
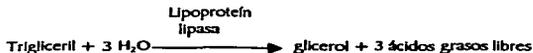
* Referril B es un calibrador multicomponente para ser usado en la calibración de pruebas de substratos utilizando el analizador de química clínica Monarch®.

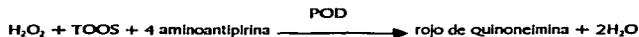
4. TRIGLICÉRIDOS.

Fundamento

Análisis punto final.

Método de Esders y Goodhue ⁽²⁸⁾ modificado.





Las absorbancias se miden a una longitud de onda de 550 nm.

Material / Reactivos.

(Kit IL Test TM Triglyceride de Instrumentation Laboratory)

Autoanalizador Monarch, Instrumentation Laboratory.

TOSS, N-etil-N-sulfohidroxipropil-m-toluidina, sal sódica	1.5 mmol/L
4-aminoantipirina	0.70 mmol/L
ATP	3.30 mmol/L
Lipoprotein lipasa (bacteriana)	>500 KU/L
GK (bacteriana)	> 1 250 U/L
MG+ +	9.53 mmol/L
GPO (bacteriana)	> 3 200 U/L
POD (de rábano picante)	>4 000 U/L

Calibración.

No existen estándares primarios de calibración. La concentración de los triglicéridos se mide en base a la formación de un cromógeno con propiedades ópticas bien definidas. La constante de absorbancia molar del rojo de quinoneimina es 15.07×10^4 .

Cálculos.

La variación de absorbancia obtenida substrayendo el valor de la absorbancia (leído a 690 nm) a aquél de la muestra (leído a 550 nm) se multiplica por un factor específico:

$$SF = (V_r / V_s) \times (1/E) \times (1/PL) \times 885.4 \times 10^2$$

Donde

SF = valor sustrato

V_r = volumen total de reacción (mL)

V_s = volumen total de la muestra (mL)

E = constante de absorbanza molar

PL = paso óptico (cm)

885.4 = peso molecular de la trioleína

$$SF = (0.250 / 0.003) \times (1 / 15.07 \times 10^3) \times (1 / 0.774) \times 885.4 \times 10^2 = 658$$

La actividad se expresa en mg/dL.

Para convertir mg/L en unidades SI (mmol/L) multiplicar por 0.0113

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se utilizó como herramienta estadística un Análisis de Varianza con Prueba de Rango Múltiple de Duncan y con $\alpha=0.05\%$.

VI. Resultados y Análisis.

I. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.

El análisis bromatológico de las fuentes de fibra muestran que el producto comercial posee 7.55 g de fibra cruda/100 g muestra, mientras que la harina de nopal contiene 5.48 g de fibra cruda/100 g muestra (Tabla 3), una diferencia de casi un 30%, valor que más adelante se analiza junto con los resultados de fibra dietética total.

En tanto el porcentaje de humedad es estadísticamente el mismo para los dos tipos de fibra, en los de proteína, grasa y cenizas, hay diferencia significativa entre ambas muestras.

De proteína la harina de nopal contiene más del doble que el producto comercial. Los valores de grasa y de cenizas en el nopal son cinco veces mayor que en la otra fuente de fibra. En conjunto todo esto resalta la calidad nutrimental de este vegetal (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis Químico Proximal de las Fuentes de Fibra* (g / 100 muestra).

Fuente de Fibra	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra cruda	Fibra dietética total
Comercial	4.58 ± 0.18 ^a	0.06 ± 0.002 ^b	5.45 ± 0.21 ^c	7.55 ± 0.10 ^d	4.16 ± 0.03 ^e	78.19 ± 0.19 ^f
Nopal	4.50 ± 0.08 ^a	0.32 ± .02 ^b	12.50 ± 0.03 ^c	5.48 ± 0.21 ^d	20.15 ± 0.28 ^e	57.05 ± 0.24 ^f

* Los resultados representan el promedio ± desviación estándar (D.E.) de tres valores para cada determinación en cada una de las muestras.

^a Son estadísticamente iguales las muestras de fibra comercial y nopal en esta determinación.

^{b,c,d,e,f} Existe diferencia significativa entre ambas muestras.

Los resultados expresados en base húmeda (B.H.),Tabla 4, permiten observar claramente la diferencia entre ambas fuentes de fibra, el producto comercial contiene una cantidad muy pequeña de humedad, mientras que el nopal tiene más del 94% de humedad total, lo que hace que los demás componentes estén presentes en una proporción muy baja. Esto resulta de importancia al pensar en como se consumen estas dos fuentes de fibra por el ser humano, que, de manera general, no es igual a como se llevó a cabo el ensayo biológico, en donde se suministró el nopal en forma de harina, es decir, donde los componentes están concentrados, dada la eliminación de un importante porcentaje de agua (Base Seca -Tabla 5). Sin embargo en el mercado, dirigido particularmente a pacientes con problemas de obesidad y diabetes, se puede encontrar cápsulas de nopal que contienen a éste como harina, de tal manera que también los resultados obtenidos pueden aplicarse a este sector.

Tabla 4. Componentes de las Fuentes de Fibra, expresados en Base Húmeda*
(g / 100 muestra).

Fuente de fibra	Carbón	Proteína	Grasa	Carbohidrato	Humedad gruesa	Humedad analítica
Comercial	4.58 ± 0.18	0.06 ± 0.002	5.45 ± 0.21	7.55 ± 0.10	4.16 ± 0.03	78.19 ± 0.19
Nopal	94.28 ± 0.08	0.02 ± .001	0.75 ± 0.002	0.33 ± 0.01	1.21 ± 0.02	3.42 ± 0.01

- * Los resultados representan el promedio ± D.E. de tres valores para cada determinación en cada una de las muestras.
- ** Calculada sumando el % Humedad Gruesa + % Humedad Analítica

Tabla 5. Componentes de las Fuentes de Fibra, expresados en Base Seca *
(g / 100 muestra).

Fibra Cruda	0.063 ± 0.002 ^a	5.71 ± 0.21 ^b	7.91 ± 0.10 ^c	4.36 ± 0.03 ^d	81.94 ± 0.19 ^e
Nopal	0.34 ± .02 ^a	13.09 ± 0.03 ^b	5.74 ± 0.21 ^c	21.09 ± 0.28 ^d	59.74 ± 0.24 ^e

* Los resultados representan el promedio ± D.E. de tres valores para cada determinación en cada una de las muestras.

^{a,b,c,d,e} Existe diferencia significativa entre ambas muestras.

2. FIBRA DIETÉTICA.

El producto comercial contiene alrededor del 13% más de Fibra Dietética Total (FDT) que la harina de nopal, 43.82 y 37.76 g de FDT / 100 g muestra respectivamente (Tabla 6). Mientras que el valor de Fibra Cruda (FC) del producto comercial es 27% mayor que la otra fuente de fibra, 7.55 y 5.48 g de FC / 100 g muestra (Tabla 3). Si comparamos ambos valores, podemos darnos cuenta que no se guarda la misma relación entre la disminución de FDT y FC entre ambos productos. Para el producto comercial disminuye de 43.82 g FDT a 7.55 g FC, hay una pérdida del 82% de carbohidratos no asimilables en la determinación de FC, mientras que para el nopal de 37.76 g FDT a 5.48 g FC, habiendo una pérdida del 85%. Lo cual hace pensar que existe una diferencia estructural química entre ambas fibras.

Es decir, si se pierde una menor cantidad de hidratos de carbono no asimilables en la determinación de FC, como ocurrió en el caso del producto comercial, quiere decir que existe una menor cantidad de fibra soluble, porque es, la que en su mayoría, se pierde por el tratamiento que se da a la muestra. A la inversa, cuando hay una mayor diferencia entre los valores de FC y FDT, caso del nopal, la cantidad de fibra soluble es mayor en ese total de hidratos de carbono no asimilables. Importante diferencia, que determinará el efecto-beneficio al ser consumida, recordemos que la fibra soluble es la responsable de la disminución de los niveles sanguíneos de colesterol y triglicéridos^(13, 14, 31).

Como ya se mencionó la FC del producto comercial es el 17 % de la FDT, en tanto que la FC de la harina de nopal es el 14 % de la FDT, es decir, en ambos casos hay una pérdida de alrededor del 80 % de hidratos de carbono no asimilables en la determinación de FC. Esto se relacionó con la diferencia estructural entre las dos muestras, pero estos resultados también permiten ver la relación que existe entre la cuantificación de FDT y FC, que concuerda con lo reportado en la literatura de que la cuantificación de FC es hasta seis veces la subestimación de FDT⁽⁶⁾, de ahí la importancia de su determinación en muestras que son utilizadas para ensayos biológicos.

Tabla 6. Fibra Dietética en las Fuentes de Fibra* (g / 100 muestra).

Fuente de Fibra	Fibra Dietética (g / 100 muestra)	Fibra Dietética (g / 100 muestra)	Fibra Dietética (g / 100 muestra)
Comercial	43.82	43.82	45.87
Nopal	37.76	2.26	39.54

*Estos resultados no se presentan con D.E., dado que la metodología para su determinación aunque es por cuadruplicado, dos determinaciones permiten la corrección de proteína y las otras dos para corrección de cenizas, es decir, se puede considerar que se hizo solo por duplicado.

3. ENSAYO BIOLÓGICO.

3.1. Elaboración de Dietas.

Los resultados del análisis químico proximal permitieron elaborar, para la primera parte del bioensayo, dietas isoprotéicas e isocalóricas a la dieta control de caseína al 10% y 4.3 Kcal / g dieta, para garantizar que el crecimiento de las ratas no se viera afectado por el contenido de proteína y energía consumida (Tabla 7). Así mismo, estas dietas contenían las fuentes de fibras en una proporción equivalente a 1.44 g de FC / 100 g dieta.

El ensayo biológico se dividió, como ya se mencionó, en dos partes, en un primer periodo la dieta suministrada fue con los niveles normales de lípidos requeridos en ratas (14 g/100 g de dieta), en el segundo, la proporción de grasa en la dieta se aumentó en un 50% con respecto a los niveles normales, es decir, 21 g / 100 g dieta (Tabla 8). Las dietas en este caso también fueron isoprotéicas e isocalóricas a una dieta control de caseína al 10 %, sin embargo, dado el aumento en la proporción de grasa, se disminuyó la proporción de carbohidratos (de 66 a 59 g carbohidratos / 100 g dieta) y el contenido energético aumentó de 4.3 a 4.65 Kcal / g de dieta.

El aumento del contenido energético de la dieta para la segunda parte del bioensayo no era relevante, en este caso lo importante era ver el efecto de la cantidad de lípidos en la dieta, además de mantener la cantidad de proteína óptimas, es decir, 10 %, así como la proporción de fibra en la dieta.

Tabla 7. Formulación de Dietas Isocalóricas e Isoprotéicas con respecto al control
(14 g lípidos / 100 g dieta).

Caseína (89.9%)	11.12	9.97	7.47
Sacarosa	22.00	17.03	17.00
Dextrina	25.00	19.35	19.32
Dextrosa	19.00	14.70	14.68
Manteca vegetal	8.00	8.00	7.95
Aceite de maíz	6.00	6.00	5.96
Mezcla de sales	4.00	3.21	----
Mezcla de vitaminas	2.00	2.00	2.00
Agua	2.88	----	----
Celulosa	----	1.44	1.44
Fibra comercial	----	19.00	----
Nopal	----	----	26.28

* Si se hace la suma de los componentes en la dieta, sobrepasa el 100%, esto se debe a que la fibra comercial contiene una humedad que no puede ser eliminada, pero que sí fue considerada para la elaboración de la dieta.

** La suma de los constituyentes de la dieta es de 102.1 g, un porcentaje de este exceso se explica como en el caso anterior, y la otra parte se debe a que los 26.28 g de harina de nopal aportan 5.29 g de cenizas y aunque ya no se agregó más mezcla de sales, hubo un exceso debido al alto contenido de cenizas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 8. Formulación de Dietas con 21 g lípidos / 100 g dieta.

Centzas (29.95%)	11.12	9.97	7.47
Sacarosa	19.66	14.70	17.67
Dextrina	22.34	16.70	16.67
Dextrosa	17.00	12.70	12.56
Manteca vegetal	12.00	12.00	11.95
Aceite de maiz	9.00	9.00	8.96
Mezcla de sales	4.00	3.21	----
Mezcla de vitaminas	2.00	2.00	2.00
Agua	2.88	----	----
Celulosa	----	1.44	1.44
Fibra comercial	----	19.00	----
Nopal	----	----	26.28

* Si se hace la suma de los componentes en la dieta, sobrepasa el 100%, esto se debe a que la fibra comercial contiene una humedad que no puede ser eliminada, pero que si fue considerada para la elaboración de la dieta.

** La suma de los constituyentes de la dieta es de 102.1 g, un porcentaje de este exceso se explica como en el caso anterior, y la otra parte se debe a que los 26.28 g de harina de nopal aportan 5.29 g de cenizas y aunque ya no se agregó más mezcla de sales, hubo un exceso debido al alto contenido de cenizas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.2. Crecimiento y Consumo de Alimento.

El grupo control tuvo una ganancia de peso promedio de 83.71 g, con un consumo promedio de 225.5 g de alimento en un periodo de 21 días. Estos valores son estadísticamente iguales a los encontrados para el caso del grupo que consumió fibra comercial. Sin embargo, para el grupo del nopal, la ganancia en peso fue menos de la mitad que en los casos anteriores, con un consumo también inferior que en los grupo control y fibra comercial (Tabla 9).

A pesar de que existe diferencia entre el consumo de alimento entre el grupo de fibra de nopal y los otros dos, este grupo consumió 86% de lo que consumió el control y sin embargo solo aumentaron 34% de lo que lo hizo este mismo grupo. Esto cabe resaltarlo por el hecho de que el consumo de alimento no fue mucho menor, pero si lo fue el aumento de peso. Es decir la harina de nopal está teniendo un efecto en el aumento de peso, que atribuimos al tipo y a la calidad de fibra dietética que posee este alimento, además recordando que los demás componentes presentes en este sistema alimenticio están participando en este efecto.

Las curvas de crecimiento de estos tres grupos, así como el consumo de alimento se pueden observar en la Gráfica 1 y 2 respectivamente.

Tabla 9. Crecimiento y Alimento Total Consumido*.

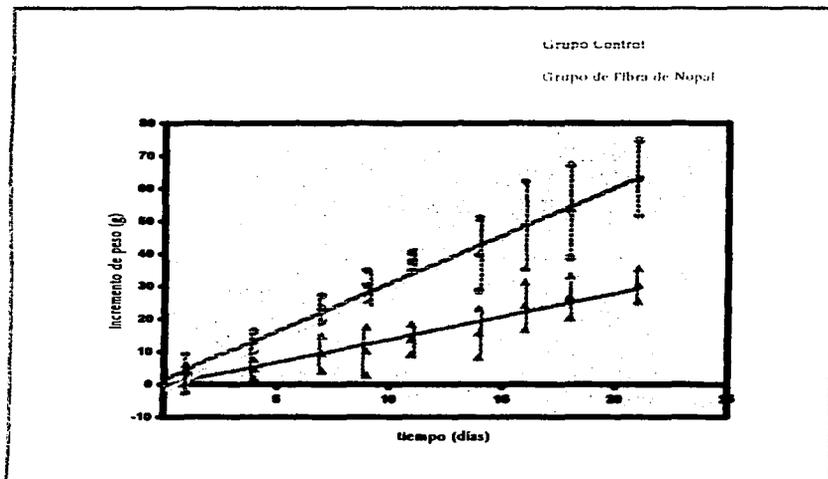
Grupo	Ganancia de peso (g)	Consumo de alimento (g)
Control	83.71 ± 11.16 ^a	225.5 ± 16.27 ^a
Fibra Comercial	68.26 ± 14.38 ^a	237.53 ± 15.19 ^a
Nopal	29.07 ± 8.93 ^b	195.06 ± 14.38 ^b

* Los resultados representan el promedio ± D.E. de siete valores.

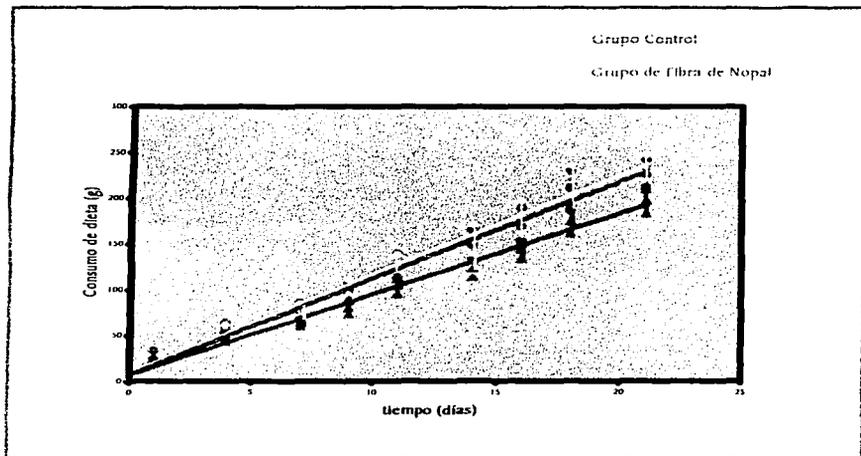
^a No existe diferencia significativa entre ambos grupos.

^b Hay diferencia con el grupo control y con el grupo de fibra comercial.

GRÁFICA 1. Incremento en peso de cada grupo en estudio.



GRÁFICA 2. Consumo en gramos de las dietas por cada grupo.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.3. Excreción de Lípidos en Heces.

- *Dietas con 14 g de lípidos / 100g dieta.*

A cada una de las siete ratas que integraron cada lote se les recolectaron sus heces, haciendo la determinación de lípidos por duplicado para cada una de ellas, por lo que los resultados presentados en la Tabla 10 son el promedio de catorce valores (dos por cada rata, siete ratas en cada lote).

Al aplicar el análisis estadístico se encontró que el porcentaje de lípidos excretados en heces, en las ratas que consumieron nopal como fuente de fibra y la dieta control son iguales entre sí. Mientras que el lote que consumió la dieta con fuente de fibra comercial, su excreción de lípidos es significativamente menor que en las dietas con nopal y control (Tabla 10).

Por lo cual se puede decir que la fibra de la dieta no es responsable de una mayor excreción de lípidos en heces, ya que tanto la control (sin fibra), como la del nopal presentan los mismos porcentajes de excreción.

- *Dietas con 21 g de lípidos/100g dieta.*

Para la segunda parte del ensayo biológico se contó solo con cuatro ratas por lote debido a que las restantes fueron sangradas para los estudios de triglicéridos y colesterol en plasma, y posteriormente sacrificadas. Es por ello que los resultados que se presentan son el promedio solo de ocho valores y no de catorce como se hizo para la primera parte.

En este caso todos las muestras son estadísticamente iguales, no se encontró diferencia significativa entre ellas (Tabla 10).

Comprobando de esta manera lo analizado en el punto anterior, la fibra dietética no influye en la excreción de lípidos. Al menos en las proporciones que se trabajaron, así como en las condiciones del ensayo.

Tabla 10. Lípidos excretados en heces de los animales alimentados con las diferentes dietas.

Dietas	Lípidos totales (mg / 100g heces)	Lípidos no saturados (mg / 100g heces)
Control	4.66 ± 0.83 ^a	8.17 ± 1.44 ^c
Fibra comercial	3.25 ± 0.56 ^b	5.78 ± 1.35 ^c
Fibra de Nopal	5.34 ± 0.94 ^a	7.50 ± 1.16 ^c

^a son estadísticamente iguales entre sí, pero diferentes a b.

^c son todas iguales entre sí.

* Los valores representan promedio ± D.E. de catorce valores.

** Los valores representan promedio ± D.E. de ocho valores.

3.4. Colesterol Total.

- *Dietas con 14 g de lípidos / 100g dieta.*

No existe diferencia en los niveles plasmáticos de colesterol entre los grupos de fibra comercial y nopal con 14 g lípidos / 100 g dieta, sin embargo ambos son significativamente menores que los niveles en el grupo control (sin fibra), lo que hizo pensar en un efecto de la fibra dietética en la disminución de los niveles plasmáticos de colesterol total (Tabla 11).

Incluso los valores encontrados de colesterol de 69.67 y 61.33 mg / dL para los grupos comercial y nopal, respectivamente, Tabla 11, son menores que otros reportados en la literatura (63.1-79.3 mg / dL), donde se les dio como fuente de fibra a ratas residuo de tomate, aún cuando en este último se trabajó con una mayor proporción de FDT en la dieta.

- *Dietas con 21 g de lípidos / 100g dieta.*

Los niveles de colesterol de los animales que no consumieron fibra (dieta control) son significativamente menores que los que consumieron nopal.

Comparando únicamente el grupo control, los niveles de colesterol son menores en las ratas que consumieron 21 g lípidos / 100 g dieta que las que consumieron solo 14 g/100 g dieta (Tabla 11).

No se puede explicar la disminución del colesterol total por la acción de la fibra dietética. Este fenómeno se explica por la relación que existe entre la edad de los animales durante el desarrollo del ensayo y la dieta consumida. Al inicio del ensayo los animales eran recién destetados, durante el amamantado la dieta es alta en grasa y baja en carbohidratos, dado que la leche materna es aproximadamente 31% de grasa en base seca. Al estar más alejados de este periodo, los niveles empiezan a descender al adaptarse a la nueva dieta que es más rica en hidratos de carbono y menor en lípidos⁽²⁾.

Al comparar los valores de las fibras comercial y del nopal en dietas con 14 y 21 g lípidos / 100 g dieta, los niveles permanecen prácticamente constantes, por lo que la fibra no influye en la disminución de colesterol cuando la proporción de lípidos excede los niveles normales en la dieta.

Tabla 11. Niveles de Colesterol en Plasma de Animales Alimentados con las diferentes Dietas*.

Grupo	Dieta con 14 g lípidos	Dieta con 21 g lípidos
Control	88.67 ± 5.51 ^a	58.33 ± 7.18 ^d
Comercial	69.67 ± 2.36 ^b	62.77 ± 4.25 ^c
Nopal	61.33 ± 9.36 ^c	72.33 ± 6.90 ^d

*Los valores representan promedio ± D.E. de ocho valores.

^a presenta diferencia significativa con ^b y ^c.

^b y ^c estadísticamente iguales.

^d diferente de ^f

^d igual que ^e

^a diferente de ^d

^b igual que ^e

^c igual que ^f

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.5 Triglicéridos.

Solo el nopal tiene un efecto en la disminución de triglicéridos, aunque solo cuando la dieta contiene los porcentajes normales de lípidos (14 g / 100 g dieta), ya que al aumentar la cantidad de ellos en la dieta, no existe diferencia significativa con respecto al grupo control (Tabla 12).

Los niveles de triglicéridos son ligeramente menores para el caso de fibra comercial con respecto al control. Estos resultados son congruentes a la hipótesis que se planteó cuando se vio los valores de FDT y FC para cada una de las fibras, en donde, se pensó en la diferencia estructural que posee cada una de ellas, que la harina de nopal contiene mayor cantidad de fibra soluble que el producto comercial, y que se pensó que se reflejaría en los estudios sanguíneos, tal como sucedió.

Los niveles normales de triglicéridos en ratas, reportados en la literatura son entre 26 y 145 mg / dL¹²⁹. para el caso de los animales que consumieron harina de nopal, los valores de triglicéridos se encuentran en los límites inferiores normales.

Tabla 12. Niveles de Triglicéridos en Plasma de los animales alimentados con las diferentes dietas.

Grupo	Dieta con 14% Lípidos		Dieta con 28% Lípidos	
	Dieta	FC (g)	Dieta	FC (g)
Control		60.67 ± 9.17 ^a		37.33 ± 10.37 ^d
Comercial		54.33 ± 10.26 ^b		36.67 ± 4.16 ^e
Nopal		30.83 ± 6.79 ^c		43.00 ± 10.82 ^f

a y b estadísticamente iguales.

c presenta diferencia significativa de a y b

d, e, f estadísticamente iguales entre sí.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados obtenidos se atribuyen a la presencia y calidad de las fibras dietéticas de ambas muestras, ya que se cuidaron factores externos que pudieran influir en ellos. Sin embargo, como se mencionó anteriormente el nopal es un sistema alimenticio complejo de alta calidad, y que de acuerdo a la propuesta inicial, todos estos componentes pueden interactuar para un efecto dado, como el que se observó en esta investigación.

VII. Conclusiones.

1. El nopal posee mayor calidad nutrimental que el producto comercial.
2. La fibra dietética no tiene efecto sobre la excreción de lípidos en heces, cuando es consumida en dietas que contienen 14 g lípidos y 21 g lípidos / 100 g dieta, por ratas macho.
3. Cuando los animales en estudio consumen dietas que contienen 14 g lípidos / 100 g dieta (valores normales), la fibra dietética del nopal y la comercial, promueven la disminución de los niveles plasmáticos de colesterol total.
4. Las fibras dietética del nopal y comercial, no tienen el efecto de reducir los niveles plasmáticos de colesterol cuando la cantidad de lípidos en la dieta aumenta en un 50% (dietas con 21 g lípidos / 100 g dieta)
5. Solo la fibra del nopal afecta los niveles plasmáticos de triglicéridos disminuyéndolos, cuando las ratas consumen dietas con 14 g lípidos / 100 g dieta.
6. Existe diferencia entre la disminución de colesterol y triglicéridos generada por las dos fuentes de fibra, que se atribuye a la proporción de fibra soluble presente en cada una de ellas.
7. En conjunto, el nopal como fuente de fibra presentó mejores efectos sobre la disminución de los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos cuando el consumo de lípidos no excede la proporción normal de ellos en la dieta.

VIII. Bibliografía.

1. López, G.; Ros, G.; Rincón F.; Perlaço, M. J.; Martínez, C. y Ortuño, J. Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal. *Arch. Latinoam. Nutr.* 47 (3): 203-207, 1997.
2. Alvarado, M.; Pacheco-Delahaye, E.; Schnell, M.; Hevia, P. Fibra dietética en el residuo industrial de tomate y su efecto sobre la respuesta glicémica y el colesterol sérico en ratas. *Arch. Latinoam. Nutr.* 55 (2) : 138-142, 1999.
3. Kay Mc.Pherson Ruth. Dietary Fiber. *J. Lipids Res.* 23 : 221-243, 1982.
4. Amado R. Physico-chemical properties related to type dietary fiber and effect of processing on micronutrients availability. Amado R. Barry J.L. & Frolih W. (Ed.). Luxemburg p. 49-54, 1994.
5. Zhang J.X., et al. Effect of rye bran excretion of bile acids, cholesterol, nitrogen and fat in human subjects with ileostomies. *Am. J. Clin. Nutr.* 59 : 389-394, 1994.
6. Uusupa, M.; Toumilehto, J.; Karttunen, P., and Wolf, E. Long term effects of guar gum on metabolic control, serum cholesterol and blood pressure levels in type 2 (non-inulin-dependent) diabetic patients with high blood pressure. *Ann. Clin. Res [Suppl.]* 43:126-131, 1984.
7. Osilesi, O.; Trout, D.L.; Glover, E. E.; Harper, S. M.; Korh, E. T.; Behall, K. M.; O'Doriso, T. M., and Tartt, J. Use of xanthan gum in dietary management of diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.* 42:597-603, 1985.
8. Zavoral, J. H.; Hannan, P.; Fields, D. J.; Hanson, M. N.; Frantz, I. D.; Kuba, K.; Elmer, P., and Jacobs, D.R. The hypolipidemic effect of locust bean gum food products in familial hypercholesterolemic adults and children. *Am. J. Clin. Nutr.* 38:285-294, 1983.
9. Wells, A. F. and Ershoff, B. H. Beneficial effects of pectin in prevention of hypercholesterolemia and increase in liver cholesterol in cholesterol-fed rats. *J. Nutr.* 74:87-92, 1961.

10. Kim, M., and Shin, H. K. The water soluble Extract of Chicory influences serum and liver lipid concentrations, cecal short - chain fatty acid concentrations and fecal lipid excretions in rats. *J. Nutr.* 128:1731-1736, 1998.
11. Sharma M. and Kawata, A. Effect of dietary fibre from cereal brans and legume seedcoats on serum lipids in rats. *Plant Foods, Hum. Nutr.* 47: 287-292, 1995.
12. Anderson J. , Deakins D. Bridges S. Soluble Fiber. Hypocholesterolemic Effects and Proposed Mechanism. Dietary Fiber: Chemistry, Physiology and Health Effects. Edited by D. Kritchevsky, Ch. Bonfield and J. Anderson. *Plenum Press.* 339-363, 1988.
13. Hiroshi, H.; Susuki, K.; Kobayashi, S. and Kasai T. Fermentable property of dietary fiber may not determine cecal and colonic mucosal growth in fiber-fed rats. *Nutr. Bioch.* 7 : 549-554, 1996.
14. Badul S. Química de los Alimentos. Ed. Alambra Mexicana, México pp 45,46,102, 117-119, 197-200, 213 .1996.
15. Ramos Galván, R. Alimentación Normal en niños y Adolescentes. Teoría y Práctica. Editorial El Manual Moderno. Cap. 18 Fibra Dietética, 1987.
16. Behall K.M. Effect of Soluble Fibers on Plasma Lipids, Glucosa Tolerance and Mineral Balance. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* Vol 270. New developments in Dietary Fiber : Physiological, Physicochemical and Analytical Aspects. Edited by I. Furda and Ch. Brine. *Plenum Press.* 7-16, 1989.
17. Vahouny G., Dietary Fibers and Intestinal absorption of lipids, in : "Dietary Fiber in Health and Disease. G.V. Vahouny and D. Kritchevsky, eds. *Plenum Press.* New York and London, 1982.
18. Anderson J and Bridges S. Dietary Fiber content of selected foods. *Am. J. Clin. Nutr.* 47 : 440-447, 1988.
19. Gibney, M.J. Nutrición, Dieta y Salud. Editorial Acirbia, España. pp. 43-47,1986.
20. Furda I. Interaction of Dietary Fiber with Lipids-Mechanistic Theories and Their Limitations. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* Vol 270. New developments in Dietary Fiber : Physiological, Physicochemical and Analytical Aspects. Edited by I. Furda and Ch. Brine. *Plenum Press.* 67-82, 1989.

21. Englyst H.; Kingman S. Dietary Fiber and Resistant Starch. A nutritional classification of plant polysaccharides. Dietary Fiber: Chemistry, Physiology and Health Effects. Edited by D. Kritchevsky, Ch. Bonfield and J. Anderson. *Plenum Press*. 49-65, 1988.
22. Bender, D. Introducción a la Nutrición y el Metabolismo. Editorial Acribia, España. pp 85-97, 1993.
23. Helrich, K. (Editor) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 15th. Edition. Published by AOAC, Inc. Vol. I, pp 17-18, 40-62 y 69-83, Vol II. pp 1012, Arlington, 1990.
24. Hart L., Johnstone H. Análisis Moderno de los Alimentos. Ed. Acribia S.A., España, pp 1-29, 1991.
25. Prosky L. Determination of insoluble and total dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *J. Assoc. An. Chem.* 68: 677-679, 1985.
26. Prosky L. Determination of insoluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *J. Assoc. An. Chem.* 71: 1017-1023, 1988.
27. Allain C.C., Poon L.S., Chan C.S.G., Richmond W. and Fu P.C. *Clin. Chem.* 20:470, 1994
28. Eshers T.W and Goodhue C.C. US Patent #4241178.
29. Delgado, N. L.; Revuelta, M.E. Guía Práctica para el manejo de animales de laboratorio. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. pp 20-30, 1993.
30. Englyst H.; Cummings J. Non Starch Polysaccharides (Dietary Fiber) and Resistant Starch. Advances in Experimental Medicine and Biology. Vol 270. New developments in Dietary Fiber : Physiological, Physicochemical and Analytical Aspects. Edited by I. Furda and Ch. Brine. *Plenum Press*. 205-225, 1989.
31. Fox, B.A.; Cameron, A.G. Ciencia de los alimentos. Nutrición y Salud. Editorial Limusa, México. pp 174-177, 1985.
32. Mataix Verdú, J.; Carazo Marín, E. Nutrición para Educadores. Ediciones Díaz de Santos. pp 40-45.

33. McKee, L.H. and Latner T. A. Underutilized sources of dietary fiber : A review. *Plant Foods, Hum. Nutr.* 55: 285-304, 2000.
34. Montgomery D., Runger G. Probabilidad y Estadística aplicadas a la Ingeniería. Editorial Mc. Graw Hill, México. pp 415-455, 1996
35. Pasquier, B.; Armand, M.; Gullon, F.; Castelain, C.; Borel, P.; Barry, J-L and Lairon, D. Viscous soluble dietary fibers alter emulsification and lipolysis of triacylglycerols in duodenal medium in vitro. *Nutr. Biochem.* 7: 293-302, 1996.
36. Roy L. Whistler. Carbohidratos. En Química de Alimentos, Fennema, Owen. Ed. Acribia. 2ª. Edición. Zaragoza, España. Pág. 81-156, 1993.
37. Sugano M., Ikeda I., Imazumi K. Dietary Fiber and Lipid Absorption. Dietary Fiber: Chemistry, Physiology and Health Effects. Edited by D. Kritchevsky, Ch. Bonfield and J. Anderson. *Plenum Press.* 137-155, 1988.
38. Voet D., Voet J. Bioquímica Ediciones Omega. Barcelona. Cap. 10 " Azúcares y Polisacáridos". Cap. 11 "Lípidos y Membranas" 1990.
39. Brooks and Lampi. Effect of dietary fat on whole body fatty acids synthesis in weanling rats. *J. Nutr. Biochem.* 10:291-298, 1999.