



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

***“Elaboración de una base de datos de consulta
referente a la calidad nutritiva proteica de diferentes
alimentos de origen animal y vegetal”***

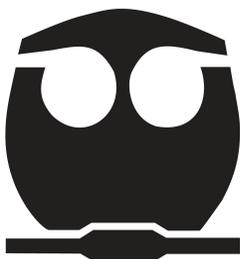
TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

OLGA MARÍA VENEGAS SÁNCHEZ



MÉXICO, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: **Profesor: Bernardo Lucas Florentino**
VOCAL: **Profesor: Lucia Cornejo Barrera**
SECRETARIO: **Profesor: Carlos Pérez Muñoz**
1er. SUPLENTE: **Profesor: María Elena Bravo Gómez**
2° SUPLENTE: **Profesor: Liliana Rocío González Osnaya**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 111, DEPARTAMENTO DE FARMACIA, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA

M. en C. Bernardo Lucas Florentino

SUPERVISOR TÉCNICO

Q. A. JESÚS ANTONIO BEAZ RIVERA

SUSTENTANTE

Olga María Venegas Sánchez

No es la carne y la sangre, sino el corazón, lo que nos hace padres e hijos.

Friedrich von Schiller

Si confieres un beneficio, nunca lo recuerdes; si lo recibes, nunca lo olvides.

Quilón

A menos que creáis en vosotros mismos, nadie lo hará; este es el consejo que conduce al éxito.

John D. Rockefeller

Deben buscarse los amigos como los buenos libros. No está la felicidad en que sean muchos ni muy curiosos; sino pocos, buenos y bien conocidos.

Mateo Alemán

AGRADECIMIENTOS

QUÍMICA LA QUE SENTI CUANDO ESTUVE POR PRIMERA VEZ EN LA **FACULTAD**, GRACIAS POR PRESTARME TUS SALONES Y A TUS MAESTROS, MI SEGUNDA CASA, MI SEGUNDA FAMILIA. GRACIAS POR AYUDARNOS A SER MEJORES, POR SER LA MEJOR. DOY GRACIAS A LA **UNAM** POR ABRIRME SUS PUERTAS Y PERMITIRME FORMAR PARTE DE ESTA GRAN FAMILIA.

UNICA LA OPORTUNIDAD QUE ME BRINDO EL **PROFESOR BERNARDO LUCAS FLORENTINO**, POR SU APOYO Y CONFIANZA; POR SU PACIENCIA, PORQUE CREYO EN MI Y ME AYUDO A ENFRENTAR ALGUNOS MIEDOS, GRACIAS.

IMPULSO, EL QUE ME DIERON **MIS PADRES** PARA SALIR ADELANTE Y ENFRENTARME A TODO, POR LOS VALORES INCULCADOS, POR SU PACIENCIA Y CONSTANCIA. POR ESTAR SIMPLEMENTE AHÍ, EN LOS MOMENTOS DIFÍCILES, EN LOS DE DUDA. LOS QUIERO, MUCHAS GRACIAS PAPÁS.

MOTIVACIÓN, LA QUE ME HIZO SEGUIR ADELANTE A PESAR DE TODOS LOS CONFLICTOS QUE SE PRESENTARON. GRACIAS A LOS QUE CREYERON Y A LOS QUE NO CREYERON EN MI TAMBIÉN, PORQUE ME DIERON EL MOTIVO PARA SEGUIR ADELANTE Y NO RENDIRME.

INTERÉS; PARA APROVECHAR Y APRENDER DE TODOS LOS QUE ESTUVIERON A MI ALREDEDOR. GRACIAS POR LA CONFIANZA Y POR EL APRENDIZAJE, POR EL INTERÉS QUE COLOCARON EN MI, LAS PERSONITAS QUE ME QUIEREN.

CORAZÓN PARA HACER LAS COSAS ASI FUERAN FÁCILES O DIFÍCILES, CORAZÓN PARA ENFRENTAR LOS MIEDOS Y LAS DERROTAS. CORAZÓN PARA IMPRIMIR LAS FUERZAS MÁS PROFUNDAS Y PODER DAR LO MEJOR DE MÍ.

AGRADECIMIENTO, A TODOS **LOS MAESTROS** DE ESTA CARRERA, QUE AUNQUE NO TODOS ME IMPARTIERON CLASES, DEMUESTRAN MEDIANTE NOSOTROS LO BUENO Y LO MALO QUE HAY DENTRO DE LA FACULTAD, GRACIAS POR SUS CONOCIMIENTOS.

AMIGAS, POR SUS CONSEJOS, POR SU APOYO, POR SU COMPAÑÍA, POR ESTAR AHÍ, GRACIAS A **ISABEL, GINA, MARIEL, MARIANNE**. TAMBIEN A TODOS AQUELLOS QUE ME BRINDARON SU AMISTAD, PORQUE ES UNA FUERZA QUE AYUDA A VENCER BARRERAS.

LABORATORIO 111, A TODOS LOS QUE ESTUVIERON PRESENTES EN ESTA ETAPA POR AYUDARME, APOYARME, POR SU CONFIANZA; PERO SOBRE TODO POR SU AMISTAD. GRACIAS **KARLITA, ANGIE, PAOLA, MIGUEL R., MIGUEL E., RICARDO, RODRIGO, MONI C., CARLOS P., CARLOS F., ARGE Y TOÑITO**.

INMENSO EL AGRADECIMIENTO A LA **MAESTRA ROSITA, ARGE Y TOÑITO** POR EL IMPULSO QUE ME DIERON Y PORQUE NUNCA DUDARON, Y SI DUDARON DEMOSTRE QUE PUEDO HACER LAS COSAS; GRACIAS POR HACERME FUERTE EN TODO MOMENTO.

MOMENTOS INOLVIDABLES, LOS QUE VIVI EN MI SEGUNDO HOGAR. GRACIAS **VICTOR** POR AYUDARME Y ESTAR PRESENTE, ACOMPAÑARME Y AYUDARME A DEMOSTRAR QUE SI PUEDO, POR EL SIMPLE HECHO DE CREER EN MI, POR ESTAR A MI LADO Y POR SOPORTAR TODO.

ENTREGA, LA QUE SE DEBE DE DAR PARA SUPERAR TODO LO QUE SE PONE EN NUESTRO CAMINO. EL CAMINO ES LARGO PERO SI UNO SE PROPONE LAS COSAS PODEMOS REALIZAR LOS QUE SEA, CON ENTREGA Y ESFUERZO. GRACIAS A LOS OBSTACULOS, PORQUE SIN ELLOS NO HABRIA PODIDO PONER EL ESFUERZO Y ENTREGARME AL 100% A LO QUE MÁS ME GUSTA.

NADA ES FÁCIL, GRACIAS A MIS HERMANOS **SANDRA Y TOÑO**, POR AGUANTAR TODO, POR SU APOYO, AYUDA Y COMPRENSIÓN; ASI COMO A MI **TÍA HERMINIA** POR AYUDARME Y APOYARME; A TODA **MI FAMILIA**, POR SU APRECIO Y COMPRENSIÓN.

TIEMPO Y TRABAJO DEDICADO, A CADA UNA DE LAS MATERIAS Y AUNQUE COSTO PUEDO DECIR QUE ESTOY SATISFECHA CON CADA UNA DE LAS CALIFICACIONES OBTENIDA; NO LAS MEJORES, PERO SI LAS QUE LOGRE CON EL ESFUERZO Y DEDICACIÓN QUE PUSE EN CADA UNA DE ELLAS. GRACIAS A TODOS LOS MINUTOS, HORAS Y DESVELOS PUES CON ELLOS PUDE OBTNER LO QUE HASTA HORA HE LOGRADO.

OBJETIVO CUMPLIDO, POR FIN TERMINE NO SE DESPUES DE CUANTO; PERO TERMINE Y FUE EN GRAN PARTE A MI, POR ESO TAMBIEN ME DOY GRACIAS; POR QUÉ SI LLEGUE A DUDAR, CON EL APOYO DE TODAS LAS PERSONAS QUE ME QUIEREN Y AL ESFUERZO QUE COLOQUE EN ESTO, LLEGUE AL FINAL.

SENTIMIENTOS ENCONTRADOS, POR HABER CONCLUIDO MIS ESTUDIOS Y PORQUE AHORA ES TIEMPO DE ENCONTRAR EL CAMINO PARA APROVECHAR TODO LO APRENDIDO Y DEMOSTRAR QUE SI SE PUEDE. DOY GRACIAS A **DIOS** Y A LA **VIDA** POR PERMITIRME FINALIZAR ESTA ETAPA, HASTA EL MOMENTO LA MÁS IMPORTANTE.

ÍNDICE TEMÁTICO

Índice Temático	i
Índice Tablas	iii
Lista Abreviaturas	iv

ÍNDICE TEMÁTICO

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
HIPÓTESIS	3
ANTECEDENTES	
1. ¿Qué es una base de datos?	4
1.1 Recolección de datos para una base de datos	4
1.2 Estructura y diseño de la base de datos	5
1.1.1 Fuentes de información	5
1.2.2 Calidad de datos	5
2. ¿Por qué evaluar la calidad de una proteína?	6
2.1 Las proteínas	6
2.2 Proteínas de origen animal y vegetal	7
2.3 Proteínas completas e incompletas. Complementación	9
3. Calidad Proteica	11
3.1 Evaluación de la calidad proteica	12
3.1.1 Métodos biológicos	12
3.1.1.1 Relación de la Eficiencia Proteica (REP)	13
3.1.1.2 Relación Neta de Proteína (RNP)	14
4. Importancia del uso de animales	15
4.1 Beneficio del uso de ratas como animales de experimentación	17
4.2 Factores que intervienen en las pruebas biológicas	18
4.2.1 Factores biológicos	19
4.2.2 Factores ambientales	19
3.5 Características de las fuentes de proteína utilizadas	20
3.5.1 Maíz	20
3.5.2 Soya	22
3.5.3 Garbanzo	23
3.5.4 Leche	24
3.5.5 Caseína	25
3.5.6 Huevo	26
3.5.7 Gelatina	27

METODOLOGÍA	
1. Diagrama de Trabajo General (1ª. PARTE)	28
1.1 Primera etapa. Manejo de datos de información experimental	29
1.1.1. Organización de información para base de datos de consulta	29
1.1.2. Selección de información para base de datos de consulta	29
1.1.2.1 Criterios de Selección	29
1.1.3. Homogenización de información para base de datos de consulta.....	30
1.1.4. Tratamiento estadístico.....	32
1.2. Segunda etapa. Experimental	32
1.2.1 Ensayo biológico.....	32
1.2.2 Determinación de Proteína.....	37
1.2.3 Determinación Densidad Calórica.....	39
2. Diagrama de Trabajo General (2ª. Parte).....	42
2.1 Organización y selección de datos para obtener modelo de correlación	43
2.2 Obtención del modelo de correlación para ensayo biológico RNP	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
1. Obtención de base de datos de consulta para índice REP ajustado	46
2. Obtención de modelo de correlación	50
CONCLUSIONES	54
BIBLIOGRAFIA	55
ANEXOS	58

INDICE DE TABLAS

Tabla	Título	Página
1	Organización de la información para base de datos de consulta	29
2	Selección de la información para base de datos de consulta	30
3	Homogenización de los datos para obtener una base de datos de consulta	31
4	Análisis proximal de las fuentes de proteína consultadas en tablas de composición de alimentos	34
5	Cantidades para la preparación de dietas para los ensayos biológicos	35
6	Orden de los datos para obtener modelo de correlación	44
7	Rango de pesos utilizados para obtener modelo de correlación	44
8	Base de datos de una fuente de proteína para el índice nutritivo REP ajustado	47
9	Base de datos de consulta para dos fuentes de proteína para el índice nutritivo REP ajustado	47
10	Determinación de % Proteína de las fuentes de proteína	48
11	Determinación de Densidad Calórica de las fuentes de proteína	48
12	Comparación de REP experimental con REP de base de datos propuesta	50
13	Prueba de t para la significatividad del coeficiente de correlación	51
14	Prueba de t para la significatividad del coeficiente de correlación	53
15	Comparación RNP experimental y RNP calculado	53
16	Valores críticos de Q	76

ABREVIATURAS

REP	Relación de Eficiencia Proteínica
RNP	Relación Neta de la Proteína
DLN	Dieta Libre de Nitrógeno
Pi	Peso inicial
ΔP	Incremento en peso
PER	Protein Efficiency Ratio
NPR	Net Protein Ratio
AOAC	Asociación Oficial de Química Analítica de los Estados Unidos de América
CICUAL	Comité Interno para el Cuidado de y Uso de Animales de Laboratorio
%CV	Porcentaje de Coeficiente de Variación
σ	Desviación estándar
ni	Número de animales utilizados en el experimento
X_{REP}	Promedio de REP
X_{RNP}	Promedio de RNP
REP _a	Relación de Eficiencia proteínica ajustado
HEP	Huevo Entero en Polvo
LCH	Leche entera en polvo
CAS	Caseína
SOY	Soya (Harina de soya desengrasada)
GBZ	Garbanzo
MZ	Maíz (Harina de maíz nixtamalizado)
GT	Gelatina
MMC	Método de Mínimos Cuadrados
H ₀	Hipótesis nula
H _a	Hipótesis alternativa
IAAE	Índice de aminoácidos esenciales
CEC	Coeficiente de eficacia en crecimiento
VB	Valor biológico
NPU	Utilización Neta de la Proteína
PPV	Valor Productivo de la Proteína
OPS	Organización Panamericana de la Salud
ICLAS	International Council of Laboratory Animal Science
ILAR	Institute of Laboratory Animal Resources
UFAW	Universities Federation of Animal Welfare
AALAS	American Association for Laboratory Animal Science
FEELASA	Federation of European Laboratory Animal Science Associations
AADEAL	Asociación Argentina de Especialistas en Animales de Laboratorio
ACCMAL	Asociación Centroamericana del Caribe y Mexicana de la Ciencia de Animales de Laboratorio.

INTRODUCCIÓN

Dentro del laboratorio de Nutrición de la Carrera de Química de Alimentos que se imparte en la Facultad de Química en la UNAM, se realiza la evaluación de la calidad proteínica de un alimento, por medio de ensayos biológicos basados en el balance de peso corporal como son la Relación de Eficiencia Proteínica (**REP**) y la Relación Neta de la Proteína (**RNP**). Se cuenta con la información de resultados experimentales de estos índices nutritivos de un periodo de tiempo significativo (1986-2008). Los ensayos se realizaron en el Bioterio A de la Facultad de Química sin embargo, se tuvieron algunas variables no controlable, por lo que será necesario revisar, analizar y homogeneizar los resultados experimentales para obtener una base de datos confiable, que permita conocer parámetros estadísticos como: promedio, desviación estándar y rango a través de un análisis estadístico.

En el ensayo biológico **RNP**, es necesario obtener el incremento en peso de un lote de animales de experimentación, alimentados con una Dieta Libre de Nitrógeno (**DLN**). De acuerdo con la bioética que implica el bienestar animal se cuestiona el uso de estos animales con una dieta de extrema deficiencia nutritiva como es la **DLN**. Debido a ello, se realizará un análisis estadístico para establecer una correlación lineal entre el promedio del peso inicial del lote alimentado (**Pi**) con **DLN** y el promedio del incremento en peso de estos mismos animales (**ΔP**).

Con el fin de corroborar los resultados obtenidos de la base que se pretende utilizar, se realizará un ensayo biológico con alimentos representativos para observar la congruencia de los resultados experimentales con la base de datos propuesta.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

- Manejar la información recopilada dentro del laboratorio de Nutrición en la Facultad de Química, UNAM; para obtener una base de datos de consulta de referencia a la calidad nutritiva proteínica de algunos alimentos convencionales.

2. OBJETIVOS PARTICULARES

- ✓ Revisar, analizar y homogeneizar la base de datos con el fin de obtener parámetros estadísticos confiables.
- ✓ Realizar el ajuste de correlación más significativo que permita observar la relación entre el promedio del incremento de peso y el peso inicial del lote alimentado con la **DLN**.
- ✓ Corroborar los resultados obtenidos mediante un ensayo biológico experimental.

HIPOTESIS

- Si se elabora una base de datos de consulta confiable de los resultados experimentales de los índices nutritivos realizados en el laboratorio de nutrición, Facultad de Química; UNAM durante el periodo 1986/1-2008/2 entonces servirá de referencia para la calidad nutritiva proteínica de alimentos de mayor consumo en el Área Metropolitana.

Nota: Dado que en la Facultad Química se cuenta con un Comité Interno del cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) que busca de acuerdo al principio básico el bienestar animal se formula la siguiente hipótesis:

- Si se obtiene una correlación significativa del incremento en peso (ΔP) del lote alimentado con Dieta Libre de Nitrógeno (**DLN**) con el peso inicial (**Pi**) de los mismos, entonces el uso de esta correlación eliminará el lote de la **DLN** en estos ensayos biológicos.

ANTECEDENTES

1. ¿Qué es una base de datos? (Sevillano, 2004)

Existen varias definiciones acerca de una base de datos pero principalmente y la que se puede comprender con mayor facilidad, es aquella que la define como *un instrumento para recopilar la información con la mayor calidad posible y en la forma adecuada a nuestro objetivo de análisis.*

Los datos que se encuentran dentro de una base suelen aparecer en forma de texto, números o gráficos. Desde la aparición de la base de datos en la década de 1950, se ha hecho imprescindible para las sociedades industriales.

El objetivo de una base de datos es el de automatizar:

- El Mantenimiento
- Cualquier reporte de información
- Cualquier consulta sobre dicha información

Para que los objetivos de una base de datos se cumplan es necesario lograr una debida recolección de datos, así como asegurar la calidad de los mismos, para ello se cuenta con la siguiente información.

1.1. Recolección de datos para una base de datos (Sevillano,2004)

Para una recolección de datos adecuada se tienen los siguientes conceptos básicos:

Individuo es definido como cada uno de los elementos que contiene información del fenómeno que se va a estudiar. Se puede concretar en distintos elementos: personas, animales, objetos y cosas.

Población y muestra la población es el conjunto de todos los individuos que cumplen ciertas propiedades, y muestra es un subconjunto de la población.

Variable es la característica observable que se pretende observar en un conjunto de sujetos o elementos de una población. Pueden ser cualitativas o cuantitativas.

Cualitativas se evalúan en categorías que no pueden cuantificarse o medirse numéricamente. Y pueden ser: nominales y ordinales.

Cuantitativas se pueden cuantificar o numerar y se acompañan de unidades de medida. De las cuales pueden ser discretas, continuas o de intervalos.

Dato valor que puede tomar la variable; es decir el resultado de la medición.

1.2 Estructura y diseño de la base de datos

Una correcta recolección de datos es fundamental, por lo que debe recopilarse la información sobre todas las variables consideradas de interés de un modo homogéneo por todos los investigadores, para todos los sujetos incluidos y a lo largo de todo el estudio. Son puntos que han de considerarse para una correcta recolección de datos. (Sevillano,2004)

1.2.1 Fuentes de información

Los datos pueden obtenerse de tres fuentes distintas: observación directa, cuestionarios y de registros o documentos.

Cuando se hace uso de una base de datos existente se tienen limitaciones en cuanto a su validez y calidad; los datos son poco homogéneos y pueden no corresponder a la variable concreta que se desea medir, o incluso puede estar enmascarada con letras ilegibles o con numerosos datos irrelevantes. (Sevillano, 2004)

1.2.2 Calidad de los datos

Se vigilara continuamente para poder rectificar y recuperar la información errónea o inexacta. Se debe de prestar atención en tres aspectos fundamentales en la fase de recolección: los datos ausentes, los datos incorrectamente registrados, y a la consistencia interna de los datos, corroborando los valores improbables obtenidos. (Sevillano, 2004)

Una vez resuelto el problema sobre una base de datos se puede enfocar a la otra parte de la investigación, en este caso todo sobre la evaluación de la calidad proteínica de los diferentes alimentos.

2. ¿Por qué evaluar la calidad de una proteína?

2.1 Las proteínas

Las proteínas, así como hidratos de carbono y grasas, están compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno, pero también contienen nitrógeno y a menudo azufre. La importancia de una proteína presente en la dieta se debe a su capacidad de aportar

aminoácidos para atender al mantenimiento de la proteína corporal y al incremento de ésta durante el crecimiento; aunque otras características estructurales como la solubilidad y la glicosilación, pueden afectar su digestibilidad y en consecuencia su valor nutricional. Así mismo son sustancias nitrogenadas de importancia:

- ✓ Para el crecimiento y desarrollo corporal
- ✓ Para el mantenimiento y la reparación del cuerpo, y para el reemplazo de tejidos desgastados o dañados
- ✓ Para producir enzimas metabólicas y digestivas
- ✓ Como constituyente esencial de ciertas hormonas
- ✓ Como precursores de varios neurotransmisores(Latham, 2002)

Los aminoácidos se han clasificado, basándose en la posibilidad o no de ser sintetizados por el organismo. Así, se incluyen los aminoácidos indispensables, cuyo esqueleto hidrocarbonado no se puede sintetizar en el organismo humano y por tanto deben ser aportados por la dieta para atender a las necesidades corporales (crecimiento y mantenimiento de estructuras). (Martínez, et al.; 2006). Del gran número de aminoácidos existentes, 20 son comunes a plantas y animales. De los cuales ocho son indispensables para el adulto humano. Cada proteína en un alimento está compuesta de una mezcla particular de aminoácidos y puede o no contener la totalidad de los ocho aminoácidos indispensables. (Latham, 2002)

Los animales tienen distinta capacidad para convertir un aminoácido en otro. En el ser humano esta capacidad es limitada. Si la capacidad para convertir un aminoácido en otro fuese ilimitada, la discusión sobre el contenido de proteína en las dietas y la prevención de la carencia de proteína, sería muy simple. (Latham, 2002)

De esto se deriva que las proteínas alimentarias son aquellas que resultan digestibles, no tóxicas, relativamente baratas y organolépticamente aceptables para los seres humanos. (Fennema, 1993)

Debido a la importancia de las proteínas, y a la disponibilidad de aminoácidos presentes en los diferentes alimentos, es correcto separar las proteínas en origen animal y vegetal.

2.2 Proteína de origen vegetal y animal

En la dieta de los seres humanos principalmente se pueden distinguir 2 tipos de proteínas, las de **origen vegetal** y las de **origen animal**; aunque también se encuentran presentes las proteínas de origen fúngico o bacteriano, como biomasas.

Las proteínas de *origen vegetal* contienen generalmente una menor proporción de algunos de los aminoácidos indispensables para nuestra nutrición, que las proteínas animales. El problema potencial se presenta por el hecho de que ningún alimento vegetal aporta aminoácidos indispensables en las mismas proporciones que los de origen animal.

La mayoría de las proteínas de *origen animal* contienen todos los aminoácidos indispensables en cantidades suficientes, especialmente: el huevo, la carne magra, el pescado, la leche, y el queso, además proporcionan suficientes cantidades de proteína en la dieta.

Prácticamente todos los alimentos contienen proteínas, aunque no en la misma concentración. Existe la idea, la cual es errónea, de que es importante el origen de la proteína, es decir, animal o vegetal. Si bien, las proteínas de origen animal son de mejor calidad, debido a que cuentan con un perfil de aminoácidos indispensables similar al patrón de referencia (Badui, 2006) y alta biodisponibilidad de estos, esto no quiere decir que las vegetales no se puedan aprovechar, o que su calidad se vea desmerecida.

Dentro de las *proteínas animales*, las que provienen de huevo, leche y derivados lácteos son consideradas como de excelente calidad; otras carnes (tejido muscular) como el pescado, res y aves contienen proteínas de buena calidad. De las *proteínas vegetales*, la proteína del frijol de soya es considerada de buena calidad, la contenida en cereales, harinas y la mayor parte de tubérculos y raíces vegetales está clasificada como de mediana calidad, y la mayoría de las frutas y verduras contienen proteína de baja calidad. (Latham 2002)

La proteína del maíz es deficiente en lisina y triptófano. Por lo tanto, las personas cuya dieta consiste principalmente en maíz pueden padecer deficiencia de estos dos aminoácidos indispensables, además de que la deficiencia en lisina no estimula la síntesis del colesterol, mientras que la deficiencia en triptófano se presenta como

trastornos depresivos. Por su parte las proteínas derivadas del arroz no contienen suficiente lisina ni treonina y las proteínas derivadas del trigo carecen de lisina. Incluso la proteína de soya, tal vez la mejor proteína de origen vegetal, carece de suficiente metionina, otro aminoácido indispensable que cuando hay deficiencia de este la síntesis de fosfatidilcolina y otros fosfolípidos es en menor proporción. (González, 2007)

En el **Cuadro 1 y 2** se muestra el contenido de aminoácidos indispensables en proteínas animales y vegetales.

Cuadro 1. Contenido de aminoácidos indispensables en proteínas animales en "mg/g de proteína".

Aminoácido	Leche	Huevos	Carne	Consumo sugerido (a)
Fenilalanina	102	93	80	19
Histidina	27	22	34	16
Leucina	47	54	48	13
Isoleucina	95	86	81	19
Lisina	78	70	89	16
Metionina	33	57	40	17
Treonina	44	47	46	11
Triptófano	14	17	12	9
Valina	64	66	50	5

(a) Valores de acuerdo al informe conjunto FAO/OMS, suponiendo un nivel seguro de ingestión de proteína en adultos de 0,7 gramo por kilogramo de peso corporal.

Cuadro 2. Contenido de aminoácidos indispensables en algunos alimentos de origen vegetal

Aminoácido	Requerimientos ^b (g/día)	Contenido de aminoácidos (g) en						
		Arroz	Trigo	Maíz	Cebada	Papa	Yuca	Soya
Histidina	0.60	0.74	1.04	0.98	0.95	0.15	0.09	4.7
Isoleucina	2.23	1.48	2.03	2.5	1.75	0.44	0.16	9.10
Leucina	2.66	2.76	3.37	5.85	3.30	0.50	0.23	13.8
Lisina	1.83	1.08	1.34	0.90	1.60	0.54	0.23	12.3
Metionina	0.80	0.61	0.99	1.21	0.77	0.13	0.04	2.90
Fenilalanina	1.70	1.55	2.48	1.96	2.46	0.44	0.16	8.9
Treonina	1.54	1.18	1.49	1.44	1.68	0.40	0.16	7.7
Triptofano	0.40	0.034	0.60	0.234	0.60	0.11	0.07	2.3
Valina	1.86	2.12	2.13	2.07	2.44	0.54	0.17	9.7

b. Los requerimientos en g/día han sido determinados por la FAO para un niño de 20 kg.

Aunque exista una diferencia entre las proteínas de *origen animal y vegetal*, se ha logrado realizar una complementación de las proteínas entre las de origen vegetal que tienen deficiencia en algunos de los aminoácidos indispensables, pero también existe complementación entre proteínas de origen animal y vegetal; por lo cual, es importante mencionar cuales son las proteínas completas e incompletas y como se puede llegar a dicha complementación. (Latham, 2002)

2.3 Proteínas completas e incompletas. Complementación

Las proteínas alimentarias a menudo se clasifican como “completas” o “incompletas” según su contenido en aminoácidos.

Las **proteínas completas** son aquellas proteínas alimentarias que contienen los ocho aminoácidos indispensables en concentraciones suficientes para cubrir los requerimientos de los seres humanos. Las encontramos fundamentalmente en los alimentos de origen animal (huevo, leche, pescado, y carne), y en la soya de origen vegetal. (Rafael, 2006)

Las **proteínas incompletas** son proteínas alimentarias deficientes en uno o más aminoácidos de los ocho aminoácidos esenciales que deben ser proporcionados por los alimentos. Las encontramos en alimentos de origen vegetal; como son cereales, leguminosas y frutos secos mayoritariamente. (Rafael, 2006)

La complementación proteínica permite, mediante la formulación de mezclas de proteínas de baja calidad, mejorar la biodisponibilidad y por lo tanto la calidad de esa mezcla proteica. (Martínez, 2006)

El concepto de **proteínas complementarias** está basado en la obtención de los ocho aminoácidos indispensables por la combinación de alimentos que tomados aisladamente serían considerados como proteínas incompletas.

Dos o más proteínas incompletas pueden ser combinadas de tal forma que la deficiencia de uno o más aminoácidos indispensables pueda ser compensada por otra proteína y a la inversa. Cuando se combinan, estas proteínas complementarias proporcionan todos los aminoácidos indispensables necesarios para el cuerpo humano consiguiendo un patrón equilibrado de aminoácidos que se usan eficientemente.

Otra forma de obtener aminoácidos indispensables es combinar una pequeña cantidad de una proteína completa con grandes cantidades de proteínas alimentarias incompletas. Un ejemplo de combinación de proteínas complementarias es la mezcla de proteínas alimentarias de la soya y maíz o de la harina de trigo y la caseína. En estos casos la calidad de las proteínas de la mejor combinación excede a la de las fuentes proteicas proporcionadas individualmente, por lo que el efecto de combinarlas

es sinérgico. En la **Cuadro 2** se muestran algunas combinaciones ideales para obtener proteína de mejor calidad.

Cuadro 2. Combinaciones Excelentes de proteínas alimentarias

COMBINACIONES EXCELENTES	EJEMPLOS
Cereales – Leguminosas	Arroz/frijoles, sopa de chícharos / tostada, lenteja/arroz
Cereales – Lácteos	Pasta/queso, budín de arroz, emparedado de queso
Leguminosas – Oleaginosas	Garbanzo/semillas de sésamo como aliño, falafel o sopa

* Otras combinaciones, lácteos/oleaginosas, lácteos/legumbres, granos/oleaginosas, son menos eficaces en virtud de que las calificaciones químicas son similares y no se complementan eficazmente

En el pasado, los nutriólogos consideraban que las proteínas incompletas tenían que consumirse al mismo tiempo para ser complementarias. Actualmente se acepta que las proteínas complementarias de los alimentos consumidas a lo largo del día, en combinación con las reservas corporales de aminoácidos, generalmente aseguran un balance de aminoácidos adecuado. (González, et. al, 2007)

Afortunadamente, gracias al fenómeno de la complementación es posible obtener mezclas de proteínas distintas que se comportan como una proteína de buena calidad, desde el punto de vista nutritivo. La adición de proteínas de buena calidad, como las de la leche y el huevo, a una dieta vegetariana, transforma ésta en una dieta satisfactoria. (Muller, 1998)

Las proteínas de los cereales son en general deficientes en lisina, mientras que las de las leguminosas lo son en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína). Las proteínas animales tienen en general composiciones más próximas a la considerada ideal. Ello hace necesaria la llamada complementación proteínica, es decir, *diseñar* suficientemente bien nuestra dieta para que a través de cereales o de leguminosas, se puedan aportar los aminoácidos indispensables: un buen ejemplo de este efecto de la complementación proteínica es el que se da entre cereales y leguminosas (**Cuadro 2**) para aportar cantidades suficientes de lisina y metionina. (Latham, 2002)

Una vez que se trató a la proteína como parte principal de esta investigación es de gran importancia mencionar como se realiza la evaluación de las proteínas así como para que sirve y cuál es su finalidad.

3. Calidad proteínica

Como bien se sabe el papel primordial de una proteína es el de suministrar los aminoácidos indispensables al organismo después de haberse digerido por acción de las enzimas del tracto digestivo. Mientras que la composición en aminoácidos es un parámetro para determinar la calidad de una proteína nutritivamente hablando es insuficiente para asegurar su función de nutrir al organismo que la ingiere.

El aprovechamiento de una proteína aislada no depende de su origen, intervienen muchos factores, como son: la combinación con otras proteínas, otras moléculas o nutrientes, además de los procesos de digestión, absorción, o el hecho de que algunos aminoácidos puedan estar en formas químicas no utilizables, etc. (Flores, 2010)

La calidad nutricional de una proteína (o una fuente proteica) se define como la capacidad de esa fuente proteica para cubrir los requerimientos de nitrógeno y aminoácidos de un determinado individuo. En otras palabras, la **calidad proteínica** se refiere a la medida en que los aminoácidos de la dieta pueden utilizarse para la síntesis proteica. (Martínez, 2006).

El concepto de biodisponibilidad para cualquier nutriente expresa la proporción de la cantidad total, en este caso de aminoácidos presentes en la dieta, que pueden ser absorbidos y utilizados metabólicamente. La biodisponibilidad tiene tres componentes: digestibilidad, integridad química y ausencia de interferencia metabólicas. (Martínez, 2006)

Existen varios factores que afectan la calidad proteínica, además de su composición en aminoácidos y sus características digestivas intrínsecas.

Los factores intrínsecos como la propia fuente proteínica, por presentar propiedades anti-nutricionales, tomando en cuenta el tipo de procesamiento y forma de almacenamiento. Así mismo, los factores extrínsecos que afectan tanto a la calidad proteínica como el aporte adecuado de proteína, entre ellos se pueden citar el estado fisiológico y de salud del individuo y factores económicos, higiénicos y sanitarios.

La presencia de factores anti-nutricionales naturales o formados en el almacenamiento o procesado de los alimentos pueden afectar la utilización digestiva y metabólica de la proteína y por tanto la biodisponibilidad de los aminoácidos, en algunos casos con reducciones de hasta un 50%. (Martínez, 2006)

La calidad proteínica se puede estimar a través de varios indicadores básicamente clasificados en métodos químicos, biológicos y microbiológicos.

Entre los químicos se incluyen el cómputo químico, aminograma, índice de aminoácidos esenciales (**IAAE**) y lisina disponible. Dentro de los biológicos se han utilizado y se siguen utilizando el **PER** (***Protein Efficiency Ratio***), coeficiente de eficacia en crecimiento (**CEC**), valor sustitutivo de la proteína, Valor Biológico (**VB**), Utilización Neta de la Proteína (**NPU**) y Valor Productivo de la Proteína (**PPV**). Los métodos microbiológicos se basan en la utilización de microorganismos con requerimientos conocidos de aminoácidos, observando el crecimiento u otro parámetro relacionado con la utilización de la proteína problema. (Martínez, 2006)

A continuación se muestra la explicación de los métodos biológicos para la evaluación de la calidad proteínica utilizados en el presente proyecto.

3.1 Evaluación de la calidad proteínica

3.1.1 Métodos biológicos

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. Existen dos grandes categorías de ensayos biológicos para evaluar la calidad de una proteína, aquellas que se basan en el balance de crecimiento corporal de los animales y las que se fundamentan en el balance de nitrógeno (nitrógeno absorbido o retenido). (Adrian, et al.; 2000)

Los bioensayos determinan la biodisponibilidad de las proteínas alimentarias y son hasta el momento el método más confiable, especialmente en el estudio de las funciones de la nutrición debido a que se basan ya sea en la determinación del

crecimiento o retención de Nitrógeno, en función del consumo de proteína (Aguilar, 2009). Las proteínas cuyo contenido de aminoácidos se aproxima al punto óptimo de satisfacción de las necesidades animales son consideradas de alta calidad y aquellas que se alejan a ese punto son catalogadas como proteínas de baja calidad. (Pellet, 1980)

La proteína de más alta calidad produce una tasa de crecimiento más rápida, con la cual se evalúan verdaderos factores importantes en una proteína.

- ✓ Patrón y abundancia de aminoácidos esenciales
- ✓ Cantidad relativa de aminoácidos esenciales y no esenciales en las dietas
- ✓ Digestibilidad al ser ingerida
- ✓ Presencia de factores tóxicos y anti-nutricionales.

Los ensayos más utilizados para evaluar la calidad de una proteína son los que se basan en el balance de peso corporal y son: la Relación de Eficiencia Proteínica y la Relación Neta de la Proteína. (Aguilar, 2009)

3.1.1.1 Relación de Eficiencia Proteínica (REP)

En 1919 Osborne, Mendel, McCollum y Davis introdujeron el concepto de Protein Efficiency Ratio (**PER**), que se podría traducir como Relación de Eficiencia Proteínica (**REP**), el cual ha sido varias veces modificado y constituye el procedimiento más utilizado para la evaluación de la calidad nutritiva de una proteína en el área de la ciencia de los alimentos, y en 1975 fue adoptado por la Asociación Oficial de Química Analítica de los Estados Unidos de América (**AOAC**) como método oficial.

Osborne, Mendel y Ferry observaron que las ratas jóvenes alimentadas con ciertas proteínas deficientes en aminoácidos indispensables perdían peso y consumían menos proteína, mientras que las que alimentadas con proteínas de mejor calidad aumentaban de peso y su ingesta de proteína era mayor. En un intento de compensar la diferencia en la ingesta de los alimentos, calcularon la ganancia de peso por gramo de proteína consumida a lo que llamaron **REP**. Se sabe que la **REP** de cualquier proteína depende de la cantidad de proteínas incorporadas a la dieta de prueba que tiene condiciones estandarizadas. (Felix, 1976)

El **REP** se calcula como el aumento de peso promedio total dividido por el promedio de gramos de proteína consumida. Este método tiene como periodo de experimentación de 21 a 28 días, con el uso de una dieta de referencia y la dieta de prueba.

A pesar de su simplicidad el **REP** ha sido severamente criticado como una medida de la calidad de proteína. Otra desventaja es que las proteínas de baja o mala calidad nutritiva, manifiestan una respuesta muy variable, debido a que exagera la variabilidad intraespecie y con este método es difícil asignar un valor preciso, ya que las proteínas de baja calidad, solo pueden cubrir una parte de las necesidades de mantenimiento de proteína. Aunado a lo anterior, si se reduce la ingestión de alimento por el animal, el valor de la **REP** de una proteína será mucho menor, ya que como el animal de experimentación tiene una necesidad de mantenimiento fija en lo que respecta a proteína, si se reduce la ingestión de ésta, quedara una proporción más pequeña disponible para el crecimiento y por tanto los valores de **REP** son negativos. (Boutrif, 1991)

Desde el punto de vista teórico la principales críticas de la **REP** son que no es una función directa del valor nutritivo de las proteínas, pero se relaciona con el aumento de peso, la cantidad de alimentos consumidos, el aporte de proteína en la dieta y la calidad nutritiva de la proteína en la dieta.

Una vez terminado el tiempo de experimentación la forma correcta de realizar el cálculo de **REP** es el siguiente:

$$REP = \frac{\Delta P}{\Sigma AI \times F} = \frac{\Delta P}{Proteína\ ingerida}$$

En donde:

ΔP = Incremento en peso de la dieta de prueba (g)

ΣAI = Alimento ingerido acumulado o total (g)

F = Factor de conversión unitario de alimento a proteína (%proteína en la dieta/100)

3.1.1.2 Relación Neta de Proteína (RNP)

Las fuertes críticas hechas al método de **REP** se pueden solucionar, determinando la cantidad de peso corporal que se perdería si el animal de experimentación no ingiere proteína durante el periodo de ensayo, ya que antes de que se genere el incremento de peso corporal, la proteína por ensayar debe cubrir las necesidades proteínicas de mantenimiento.

Bender y Doell propusieron en 1957 el método biológico de balance corporal de "Net Protein Ratio" (**NPR**), que se traduce en Relación de Proteína Neta (**RNP**) y que elimina casi por completo el efecto no deseable que producen proteínas de baja calidad al realizar el método de **REP**. (Boutrif, 1991)

La duración de este método es de 10 a 14 días. En donde se incluye un lote de animales al que se le administra una dieta sin nitrógeno, denominada Dieta Libre de Nitrógeno (**DLN**) y al lote se le define como grupo metabólico. Este método considera que la pérdida de peso de este lote es un indicador de la proteína requerida para el mantenimiento de los lotes de prueba. (Aguilar, 2009)

Se calcula como la diferencia global en la ganancia de peso del grupo de prueba menos el incremento de peso del grupo sin proteínas dividido por la proteína consumida o ingerida. De la siguiente forma:

$$RNP = \frac{[\Delta P(Prueba) - \Delta P(DLN)]}{\Sigma AI \times F}$$

En donde:

ΔP (PRUEBA) = Incremento de peso con la dieta de prueba (g)

ΔP (DLN) = Incremento de peso con la DLN (g)

ΣAI = alimento ingerido acumulado o total (g)

F = factor de conversión unitario de alimento a proteína (% de proteína en la dieta/100)

4. Importancia del uso de animales para experimentación

El uso de animales para investigación, enseñanza o constatación solo se justifica cuando contribuye al desarrollo de conocimientos que beneficien a los seres humanos o a los mismos animales. Aunque la comunidad científica reconoce la necesidad de contar con investigación hecha en animales, siempre debe seguirse el principio básico resumido en la regla de las "3R's":

- ✓ **Refinamiento** (científico en el diseño del experimento en sí)
- ✓ **Reducción** (del número de animales para ocupar solamente la cantidad mínima necesaria para producir resultados significativos)
- ✓ **Reemplazo** (de los animales por alternativas que produzcan los mismos resultados, tales como experimentos *in vitro*, cultivos celulares, modelos inanimados, modelos por computadora, etc.) (De Aluja, 2002)

Existen tres aspectos que, desde el punto de vista ético, deben ser considerados durante el cuidado y uso de los animales de laboratorio: el cuidado del dolor y del sufrimiento, el cuidado del bienestar general del animal y la creación de una instancia independiente de arbitraje y evaluación que se encargue de la vigilancia en el cumplimiento de los dos primeros aspectos. (Vásquez, 2007)

La Organización Panamericana de la Salud (**OPS**) expresaba en su XI Reunión Interamericana de 1980: <<los países que han logrado un gran avance en el control de las enfermedades humanas y animales son aquellos que han establecido entidades que se dedican al mejor desarrollo de la Ciencia de los Animales de Laboratorio>>. (Borassi, et al.; 2006)

Es importante recalcar que las aparentes «sofisticaciones» exigidas para la cría y uso de animales de laboratorio están en relación directa a los servicios que prestan.

Se ha fomentado la creación de organismos internacionales como **ICLAS** (International Council of Laboratory Animal Science), **ILAR** (Institute of Laboratory Animal Resources), **UFAW** (Universities Federation of Animal Welfare) y muchísimas asociaciones dedicadas a la Ciencia de los Animales de Laboratorio como son **AALAS** (American Association for Laboratory Animal Science), **FEELASA** (Federation of European Laboratory Animal Science Associations) y **AADEAL** (Asociación Argentina de Especialistas en Animales de Laboratorio), entre otras. (Borassi, et al.; 1996)

A pesar de las objeciones éticas o epistemológicas que se puedan plantear a tales prácticas, el uso de este reactivo biológico sigue siendo necesario para el progreso científico y por ello se justifica el impulso permanente de la ciencia de animales de experimentación con el fin de procurar su uso racional, eficiente y humanitario. En este sentido, el apoyo que puedan tener instancias como la Asociación Centroamericana del Caribe y Mexicana de la Ciencia de Animales de Laboratorio (**ACCMAL**), el Comité Técnico Nacional y los Comités institucionales para el cuidado y uso de los animales (**CICUA**) serán decisivos. (Granados, 2010)

A nivel nacional, en Diciembre de 1999, el gobierno federal publicó en el Diario Oficial la Norma Oficial Mexicana sobre Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (**NOM-062-ZOO-1999**), en donde se establece que cualquier institución o persona que utilice animales en investigación científica, desarrollo tecnológico, pruebas de laboratorio o enseñanza, deberá conformar un mecanismo que controle de manera interna el uso que se dé a los

animales. Este mecanismo será conocido como Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (**CICUAL**) (**NOM-062-ZOO-1999**).

Para trabajar con animales de laboratorio es necesario considerar como mínimo, que se cumpla lo siguiente:

1. Garantía de parámetros adecuados: calidad genética y ambiental para la experimentación (agentes patógenos, climáticos, físicos, habitacional, nutricional, sistema inmune)
2. Modelo experimental claro y adecuado para la especie utilizada.
3. Cálculo preciso del tamaño de la muestra a utilizar, de acuerdo con el tipo de estudio.
4. Principios éticos: Deben ser planeados desde el inicio de la investigación, teniendo como objetivo primordial, evitar el sufrimiento innecesario; y de ser necesario sustituir por alternativas validadas.

Los factores que se deben considerar, al diseñar un modelo experimental animal:

- Costo y cuidado del animal
- Disponibilidad
- Tolerancia a la cautividad
- Facilidad de Enjaular
- Pocos cuidados de mantenimiento
- Resistencia a Infecciones y a Enfermedades
- Homogeneidad
- Características biológicas análogas al hombre
- Tamaño adecuado para realizar el experimento
- Tolerancia a procedimientos quirúrgicos
- Información y conocimiento de las características del animal (Vásquez, 2007)

4.1 Beneficio del uso de ratas (Bautista, 1999)

Se reporta que el hombre y la rata tienen un metabolismo similar en cuanto a la utilización de alimentos proteínicos pues conciernen en el crecimiento indicando que los resultados de pruebas de crecimiento en ratas pueden ser aplicables para evaluación de dietas en humanos.

-
- Son animales omnívoros que pueden ser alimentados con la misma ración a lo largo de su vida siempre y cuando sea adecuada nutritivamente.
 - Son animales de fácil manejo y cuidado.
 - Son animales que cuando se tiene un número relativamente grande de individuos puede ser colocado en un área pequeña.
 - Y la principal es que después del destete hay un periodo largo en el cual continua con el crecimiento e incremento de peso corporal de suma importancia en este tipo de ensayos.

Con respecto a otros animales vertebrados tales como primates, las ratas y ratones son de menor costo, el consumo de alimento es menor, su genoma es de gran utilidad para posibles investigaciones sin el uso de los animales.

El conocimiento del genoma humano y el de otras especies, aunado a nuevas tecnologías como la manipulación de células embrionarias de ratón, ha permitido la producción de animales transgénicos y knock-out (sustituir el gen de interés (funcional) por otro similar que ha sido alterado (convirtiéndose en no funcional)) que contribuyen al entendimiento de la función de los genes y sus productos, así como a la fisiopatología de las enfermedades y al desarrollo de nuevas formas de tratamiento como la terapia génica (tratamiento de enfermedades mediante la introducción de genes al organismo; como las enfermedades genéticas mendelianas, tales como la hemofilia y la fibrosis quística). (Jiménez, et. al; 2002)

Organismos transgénicos han sido empleados para producir antibióticos, vacunas, hormonas, factores de crecimiento o proteínas antivirales. Una innumerable lista de sistemas de diagnóstico para salud humana y animal utilizan productos provenientes de organismos transgénicos. Estas metodologías también se emplean en algunas de las etapas de ensayos para la determinación de calidad de alimentos o contaminación ambiental (Jiménez, 2002)

4.2 Factores que intervienen en las Pruebas biológicas

Para poder detectar ciertas diferencias en la calidad de la proteína y debido a que existen factores que ejercen influencia sobre los resultados, es necesaria una estandarización estricta como a continuación se menciona:

4.2.1 Factores biológicos (Bautista, 1999)

Edad de la rata: lo más recomendable es utilizar ratas en edades de 21 ± 2 días de nacidas (recién destetadas).

Tiempo de experimentación: se demostró que la variación aumenta entre los animales después de las cuatro semanas de experimentación.

La ganancia en peso de los animales cambia progresivamente con la edad por lo que es importante utilizar animales de la misma edad y peso. Es recomendable el uso de animales jóvenes los cuales harán uso de la proteína ingerida para el crecimiento incorporándola a sus tejidos. Por lo que el tiempo de experimentación ideal es de 14 días.

Nivel de proteína: El nivel adecuado de proteína en la dieta experimental es de 10%. En este tipo de ensayos los resultados varían de acuerdo al contenido de proteína, relacionándolo con las diferencias en el contenido de aminoácidos en la proteína de prueba.

Sexo de la rata: se ha demostrado que en este tipo de ensayos el sexo es primordial ya que las ratas hembras dan valores máximos de crecimiento diferente a los que dan rata macho con dietas con bajo nivel de proteína; además de que las hembras no ganan peso como los machos. En este tipo de ensayos es importante manejar un sólo sexo para evitar la variabilidad debida al sexo; por lo cual se elige al macho por las características que presenta al ser alimentado, es decir mayor incremento en peso.

Cepa: La utilización de la cepa también tiene efecto en el tipo de ensayo; existen varios tipos de cepa y las más utilizadas son:

- **Wistar:** tranquila, prolífica y las más difundida.
- **Sprague-Dawley:** Crecimiento precoz, más prolífica, cabeza y cola más larga que la anterior.
- **Long – Evans:** Más pequeña que las anteriores. Caperuza negra sobre cabeza, cuello y hombro.

4.2.2 Factores ambientales (Bautista, 1999)

Temperatura: La temperatura recomendada del cuarto en donde se encuentren los animales debe de encontrarse de 21 a 25 °C.

Tamaño de la jaula: Se recomienda que por caja o jaula se encuentre por parejas en un área de 900 cm² y cuando se encuentra la hembra y su camada en un área de 1080 cm².

Luz: Debe ser de 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad

Humedad relativa: mientras que la humedad debe de permanecer entre 50 a 60 %.

Además de esto evitar el ruido, polvo y olor.

5. Características de Fuentes de Proteína.

Para que el método tenga reproducibilidad es necesario que la dieta de prueba cumpla con ciertas características:

- Que el aporte de proteínas cubra las necesidades mínimas del organismo (crecimiento) para que las utilice eficientemente y se garantice su total aprovechamiento.
- La dieta control y de prueba deben tener la misma concentración de proteína, se recomienda un 10% y confirmarla experimentalmente.
- Se debe ajustar el contenido de otros macro y micro nutrientes (vitaminas y minerales) de tal manera que la dieta de prueba sea isoproteínica e isocalórica a la dieta de referencia y que la única variable sea la calidad de la proteína del alimento en estudio. (FAO/WHO, 1990)

En el **Anexo 1** se muestra la tabla con los valores teóricos para el índice **REP** y **RNP**, para su posterior uso en el presente trabajo.

A continuación se mencionan aspectos importantes de las fuentes de proteína utilizadas en el desarrollo del trabajo.

5.1. Maíz (Harina de Maíz Nixtamalizado)

El maíz es apetecible y adecuado para toda clase de ganado. Es rico en calorías y pobre en fibra y minerales. La composición química del grano de maíz, y por ende su valor nutritivo, dependen del genotipo de la variedad, el ambiente y las condiciones de siembra. En promedio, el contenido de proteína del maíz es de 10% y una buena parte se encuentra en el germen del grano.

La calidad nutritiva del maíz está definida en buena medida por la calidad de sus proteínas, la zeína como la glutelina (proteínas presentes en el maíz) son deficientes en lisina y triptófano. De hecho, la zeína no contiene este último aminoácido. Otro aspecto sobresaliente de la calidad de la proteína del maíz es su alto contenido de

leucina pero su bajo contenido en isoleucina. Este desbalance provoca que el valor biológico de la proteína disminuya.

El papel central que el maíz ha desempeñado en la historia de Mesoamérica es indiscutible, sin embargo poco se habla del proceso de nixtamalización, que se inicia con la adición de dos partes de una solución de cal aproximadamente al 1% a una porción de maíz. Esta preparación se cuece de 50 a 90 minutos, y se deja remojando en el agua de cocción de 14 a 18 horas. Posterior al remojo, el agua de cocción, conocida como nejayote, se retira y el maíz se lava dos o tres veces con agua, sin retirar el pericarpio ni el germen del maíz. Se obtiene así el llamado maíz nixtamalizado o nixtamal, que llega a tener hasta 45% de humedad (Paredes,2009) este proceso le confiere al maíz un alto valor nutritivo y cambios funcionales extraordinarios, y que es clave en la elaboración de la tortilla, el principal alimento en la dieta del pueblo mexicano y base de su supervivencia desde hace más de 3 500 años. (Acero, 2000)

La nixtamalización provoca que la estructura que une las células del endospermo, llamada lámina media, y las paredes celulares se degraden y solubilizan parcialmente. La mayoría del germen permanece en el grano durante la nixtamalización, lo que permite que la calidad de la proteína de los productos de la masa no se vea afectada.

La relación de eficiencia proteínica, se incrementa por el proceso de nixtamalización; es una de las bondades de consumir tortilla, en lugar de maíz sin nixtamalizar. La nixtamalización mejora considerablemente en forma global el aporte nutritivo de las proteínas del grano de maíz, debido a que por este proceso se logra la biodisponibilidad de vitaminas, proteínas y aminoácidos tales como lisina y triptófano. (Paredes, 2009)

5.2. Soya (Harina de Soya Desengrasada)

La soya (***Glycine max***) pertenece a las leguminosas y por su elevado contenido de aceite se considera dentro de las oleaginosas. En algunos países occidentales, se utiliza para la extracción de aceite y el residuo o pasta rica en proteínas, se emplea en la alimentación animal. En Oriente, la soya es fundamental en la dieta de un gran sector de la población, debido a sus propiedades nutritivas, principalmente por su alto contenido de proteínas. La proteína de soya presenta una alternativa muy importante para suplir o complementar las fuentes de proteínas convencionales. La composición

química de la soya depende de muchos factores tales como el tipo de suelo, irrigación, fertilización, clima, etc. (Acero, 2000)

Actualmente, los productos alimenticios derivados de la soya son muy aceptados por grupos vegetarianos y naturistas, y se están convirtiendo en sustitutos privilegiados de la carne en muchos países del mundo.

La soya es un alimento muy completo y nutritivo, siendo la leguminosa seca de mayor valor energético. Su elevado contenido en proteínas, hace de la soya una fuente proteínica vegetal de gran interés dietético y nutricional. En comparación con el resto de leguminosas, la soya aporta mayor cantidad de calcio, hierro, yodo, magnesio, potasio y fósforo, además de ácido fólico y otras vitaminas como B₁, B₂, B₃ y B₆.

La soya, está constituida por tres fracciones principales: la cascarilla, representa el 8% del peso total, el hipocotilo (2%) y el cotiledón (90%). En el cotiledón se localiza la proteína en pequeños compartimentos llamados esferosomas que a su vez están dispersos entre los cuerpos proteínicos llamados aleuronas, donde se concentra la mayor parte de la proteína. (De Luna, 2006)

La fracción proteínica de la soya es una mezcla heterogénea de globulinas (60 a 75%) y de albúminas con pesos moleculares muy variados. Su aminograma difiere de los cereales, ya que las cantidades de metionina, ácido glutámico, arginina, leucina, isoleucina y valina son menores, pero es rico en lisina. En general presenta una deficiencia en aminoácidos azufrados.

La harina de soya es el producto de menor procesamiento ya que se elabora de la molienda de la pasta desengrasada o del frijol descascarillado. Su contenido de proteína es más elevado comparado con el de la materia prima inicial. La harina tiende a incrementar porcentualmente el contenido de proteína durante este proceso de un 4 a 6% y en general de los nutrientes excepto el aceite (depende del contenido de grasa). (Acero, 2000)

El papel de la proteína de soya en diferentes sistemas alimentarios y su uso como un ingrediente, depende, principalmente de sus propiedades fisicoquímicas, que están gobernadas por sus atributos estructurales y de conformación. Una de las propiedades más importantes es la alta solubilidad de las proteínas, la cual es deseable para una funcionalidad óptima. La solubilidad de la proteína de soya se afecta con el pH, el calor

y otros factores. Se reduce al mínimo en la región de su punto isoeléctrico de pH 4.2 a 4.6 e incrementa ligeramente por arriba y debajo de dicho rango. El tratamiento térmico desnaturaliza las proteínas lo que reduce su solubilidad. El calentamiento es la causa principal de la reducción de la solubilidad de la proteína, pero es un paso importante para disminuir el contenido de sustancias antinutricionales de los productos de soya y mejorar su valor nutritivo. Es importante optimizar el proceso en términos de la cantidad y momento de calor aplicado. (De Luna, 2006)

5.3 Garbanzo

El garbanzo es la semilla de la planta (*Cicer arietinum*), herbácea de la familia de las Leguminosas.

El principal componente de los garbanzos son los hidratos de carbono, siendo el almidón el más abundante. El aporte proteico es importante, aunque no destaca en este nutriente respecto al resto de las leguminosas secas. Además, se trata de proteínas incompletas por déficit del aminoácido indispensable metionina. Su contenido en lípidos es mayor que en el resto de leguminosas, destacando la presencia de ácido oleico y linoleico, ambos insaturados. Por otro lado, aporta una cantidad importante de fibra. Con todo ello, el valor calórico del garbanzo es mayor al resto de la media de las leguminosas secas. En cuanto a vitaminas y minerales, destaca el elevado contenido de folatos, tiamina o vitamina B₁, calcio, fósforo, hierro, potasio y magnesio. (Díaz, 1997)

Es un cultivo potencialmente productivo con base en las siguientes características: como alimento para consumo humano, tiene porcentajes aceptables de proteína de fácil digestión y carbohidratos, puede usarse como cultivo de invierno, sin interferir con los cultivos más importantes de verano o primavera como son maíz, papa, frijol, etc. y el costo de producción es bajo, comparado con el de otros cultivos. (Díaz, 1997)

Rao (1959), menciona que las proteínas del garbanzo de acuerdo a diferentes análisis, son una buena fuente de todos los aminoácidos, con excepción de triptófano y metionina. El contenido de proteína del garbanzo tiene una amplia variación que va de 18.4- 29.8%. (Díaz, 1997)

5.4 Leche (Leche entera en polvo)

Leches utilizadas en la alimentación desde tiempos ancestrales son las leches de oveja, cabra y vaca; siendo las de burra, yegua, reno y camello las menos relevantes. La composición de la leche varía con la especie, raza, tipo de alimentación, estado sanitario y fisiológico del animal, época del año y el número de ordeños. (Zavala, 2005)

El conocimiento de la Ciencia de los Alimentos es esencial para la comprensión de la naturaleza de la leche y sus productos derivados, así como de los cambios que ocurren durante su procesamiento: tratamiento térmico, fermentación, homogeneización, conservación; así como el punto de partida para entender las razones de la importancia que tiene la leche en la nutrición humana, en especial la de los niños, la mujer gestante y lactantes y en general los grupos en riesgo de supervivencia como los ancianos y los enfermos. (Zavala, 2005)

Desde el punto de vista del valor nutritivo, las proteínas de la leche son de excelentes calidad, pues provee todos los aminoácidos indispensables para la vida humana; compiten con la calidad de las proteínas de la carne y solo son superadas ligeramente por las proteínas del huevo. La calidad biológica de proteína de la albúmina del huevo y la caseína de la leche tienen los valores más elevados entre todas las proteínas tanto de origen vegetal como animal, y se emplean como patrón de comparación. (Zavala, 2005)

La principal deficiencia de las proteínas de la leche, pero de relativa importancia secundaria, es su contenido de aminoácidos azufrados, o sea, cistina, cisteína y metionina. Las proteínas de la leche representan una fuente muy rica en lisina. En los productos concentrados como la leche evaporada y algunos tipos de leche en polvo, no es aprovechable una fracción de lisina por interacción de la lactosa y otros componentes de la leche. Paralelamente al desarrollo de la industria láctea, en la alimentación del niño se ha reemplazado de manera gradual la leche de mujer por la leche de vaca. El principal problema que esto origina es la sensibilidad alérgica de las proteínas de leche de vaca. Incluso la desnaturalización de las proteínas séricas por el calor no siempre es eficaz en la modificación de la antigenicidad de los individuos sensibles. (Zavala, 2009)

La leche entera en polvo es un producto que como indica su nombre, es leche entera que se ha sometido a un proceso de secado. A diferencia de la leche en polvo descremada (LPD), contiene grasa. Es apta para los bebés cuando no hay disponibilidad de la leche materna. (Fennema, 1993)

5.5. Caseína

Las caseínas existen como fosfato en una estructura esférica única conocida como micela permitiendo la separación de la caseína y el suero en la leche; este proceso de separación se hace a través de calentamiento, precipitación ácida o enzimas, el lavado y la solubilización con sodio, potasio o calcio y después su secado da lugar al caseinato. (Casanova, 2004)

La leche comprende varios tipos de moléculas de las cuales el 50% aproximadamente es de alfa-caseína, 30% de beta-caseína, 15% de k-caseína y 5% de gama-caseína. La caseína alimenticia es el producto que se separa por acción enzimática o por precipitación mediante acidificación de leche descremada a pH 4,6-4,7 lavado y deshidratado por procesos tecnológicamente adecuados. Posee un aspecto de polvo granulado, es de color blanco amarillento con un sabor suave y aroma característico.

La caseína tiene un alto contenido de glutamina del 20.5% aproximadamente, además de contener una alta proporción de aminoácidos glucogénicos que incluyen treonina, glutamina y arginina. Los aminoácidos glucogénicos se prestan a la producción de glucosa para la energía durante el ejercicio y ha sido demostrado que posiblemente ayuden a prevenir el catabolismo muscular; largas dosis de aminoácidos glucogénicos han demostrado una mayor eficiencia alimenticia en estudios hechos en animales. (Alarcón, 2010)

El caseinato de sodio es empleado en productos como helados, cremas de licor, sopas instantáneas y cremas batidas; debido a sus excelentes propiedades de emulsificación, estabilización y generación de textura. (Casanova, 2004)

5.6. Huevo (Huevo entero en polvo)

Por el término huevo se conoce generalmente a los productos provenientes de la gallina. Los huevos de gallina son los que se utilizan comúnmente y han servido de alimento para el hombre desde tiempos antiguos debido a que su producción es abundante.

Aunque ningún alimento puede ser catalogado como bueno o malo en sí mismo y sólo las dietas globales se pueden juzgar, el estudio del huevo merece una atención especial dado que en los últimos años este alimento ha sido mirado con recelo y temido por su contenido en colesterol, lo que ha llevado a disminuir su presencia en la dieta media. (Alarcón, 2010)

Es un alimento muy nutritivo, fácil de conservar y de amplia disponibilidad. Es ideal para variar y enriquecer la preparación de distintos platos. Aporta proteínas de excelente calidad (albúmina, globulina, vitelina), vitaminas (B₁₂, folato, biotina, ácido pantoténico y riboflavina) y minerales (selenio, fósforo, calcio, hierro). A pesar de esto contienen gran cantidad de colesterol, de 240 a 300mg en la yema, por lo que se recomienda no consumir más de 3 huevos enteros por semana. (Alarcón, 2010)

Es por tanto, un alimento con alta densidad de nutrientes, de utilidad en los programas de pérdida de peso y en las dietas equilibradas. Un huevo grande aporta 6 gramos de proteína, lo que constituye el 10% del valor diario basado en una dieta de 2000 calorías. Sin embargo, los huevos tienen un costo más bajo y menos calorías que muchos de los alimentos provenientes de la carne animal del mismo grupo y contiene cerca de 75 calorías, sin embargo son una fuente excelente de proteína de alta calidad y contienen al menos 13 vitaminas y minerales. (Alarcón, 2010)

Las proteínas del huevo, al contrario de las proteínas de la carne y del pescado, no están formadas por las fibras ni rodeadas de tejido conectivo, sino que se encuentran en una solución coloidal que se digiere fácilmente y que es muy apropiada para niños pequeños o personas convalecientes. (Alarcón, 2010)

5.7. Gelatina

La gelatina, proteína soluble en agua, se obtiene mediante la disolución en caliente a pH alcalino o ácido y de la hidrólisis parcial del colágeno contenido en las pieles, tendones y huesos de los animales domésticos, bovinos en particular. El colágeno es una proteína fibrilar bajo forma en estado nativo de una triple hélice de tropocolágeno. Presenta un elevado contenido de prolina e hidroxiprolina y no contiene triptófano ni cisteína. (Bonmatí, 2010). El rendimiento de la producción de la gelatina y su calidad dependen de la edad del animal, de la fuente de materia prima y del proceso empleado en su fabricación.

La estructura de la gelatina resulta ser, por lo tanto altamente simplificada con relación a la del colágeno estando constituida por las cadenas originarias de la molécula de aquel pero en claro ordenamiento al azar. (Bonmatí, 2010)

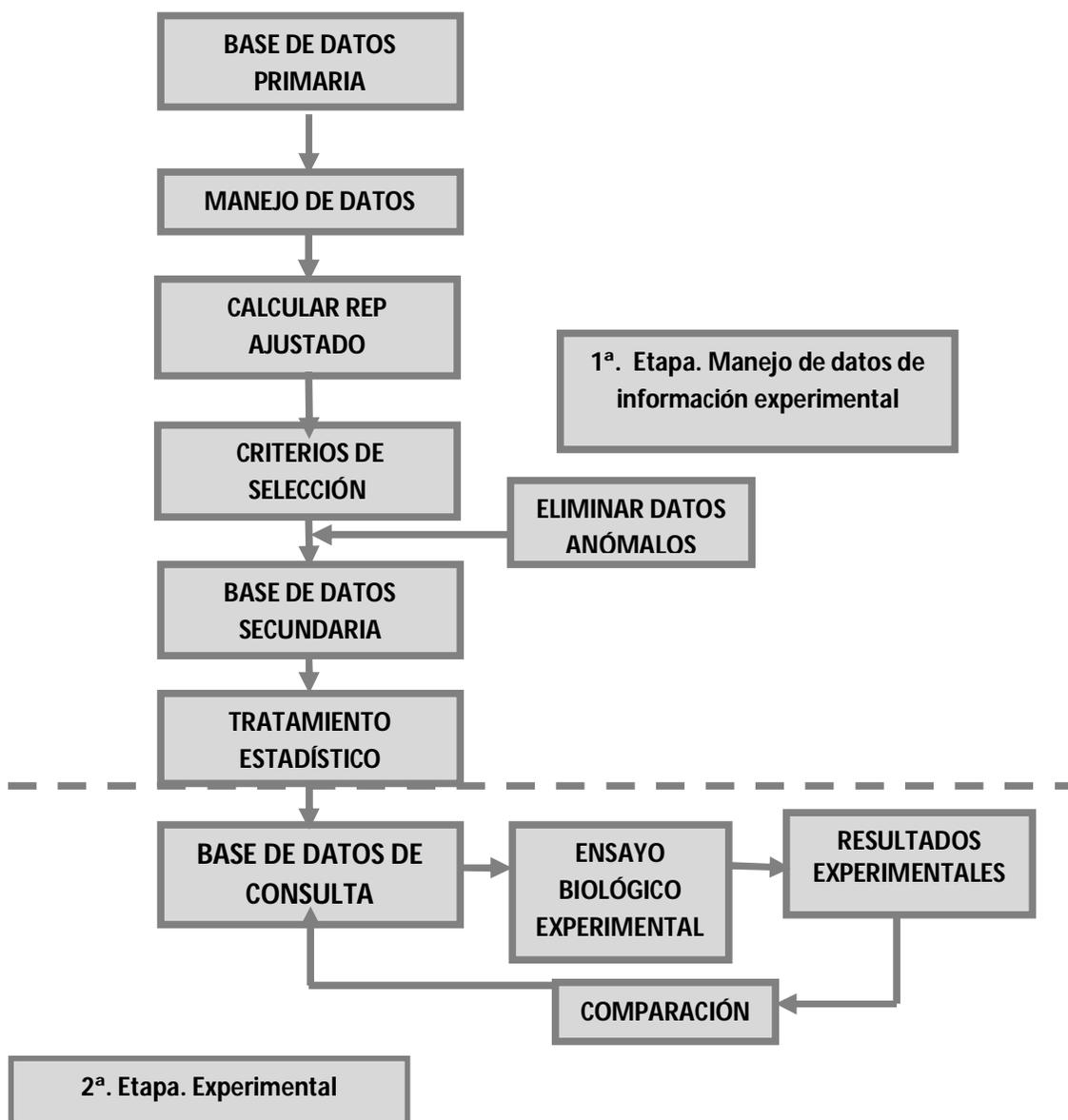
Una de las propiedades de la gelatina es dar alta viscosidad a las soluciones acuosas, la cual depende de la concentración de la gelatina y de la concentración de sólidos totales.

METODOLOGÍA

1. DIAGRAMA DE TRABAJO GENERAL (1ª. parte)

OBTENCIÓN DE BASE DE DATOS DE CONSULTA PARA EL ÍNDICE NUTRITIVO REP AJUSTADO

A continuación se presenta el diagrama de trabajo para la primera parte que compone este trabajo que a su vez se divide en 2 etapas, las cuales se explicaran después del diagrama.



1.1. Primera Etapa. Manejo de datos de información experimental

La 1ª. Etapa de esta parte consiste en el manejo de datos de los resultados experimentales de los índices nutritivos REP y RNP que se llevaron a cabo en la Facultad de Química en el laboratorio de Nutrición en un tiempo significativo (1986/1-2008/2), cerca de 380 valores individuales, realizando la organización, selección y homogenización de los datos para la obtención de la base de datos de consulta. Los criterios a establecer son necesarios para que los resultados obtenidos sean de relevancia y adecuados a las metodologías establecidas para estos índices nutritivo.

1.1.1 Organización de la información para base de datos de consulta

Un ejemplo de la organización de los resultados experimentales elaborados en el laboratorio de Nutrición se muestran en la **Tabla 1**, promedio de **REP** Y **RNP** (X_{REP} y X_{RNP}) con su desviación estándar (σ) y porcentaje de coeficiente de variación (**%CV**), además de **REP** y **RNP** ajustado, para manejar la misma cantidad de cifras decimales y no proporcionar más errores a los valores obtenidos.

Tabla 1. Organización de la información para base de datos de consulta

Semestre	Fuente de proteína	n	X_{REP}	σ	CV	REP _a	n	X_{RNP}	σ	CV	RNP _a
1	Arroz	4	1.59	0.204	12.80	1.32	6	3.40	0.484	14.24	2.39
	arroz-huevo	6	2.27	0.196	8.70	1.88	6	3.60	0.320	8.89	2.53
	Leche	5	1.22	0.088	7.20	1.01	6	3.00	0.217	7.23	2.11
	Caseína	6	3.02	0.285	9.43	2.50	6	5.83	0.789	13.53	4.10
	Soya	4	2.65	0.410	15.50	2.19	4	4.48	0.373	8.33	3.15
	Gelatina	6	-2.35	0.374	15.90	-1.95	4	1.23	0.616	50.08	0.87
	soya-arroz	5	2.38	0.378	15.80	1.97	5	4.09	0.450	11.00	2.88
2	DLN	6						-12.60	2.750	-21.83	
	soya	4	1.97	0.167	8.47	2.22	4	3.70	0.441	11.92	4.05
	soya-arroz	6	2.33	0.289	12.40	2.62	4	3.08	0.476	15.45	3.37
	Leche	4	1.90	0.225	11.90	2.14	4	4.15	0.515	12.41	4.54
	arroz-leche	6	2.82	0.318	11.30	3.18	6	4.51	0.408	9.05	4.93
	Caseína	6	2.22	0.258	11.60	2.50	4	3.75	0.543	14.48	4.10
	leche-gelatina	4	1.10	0.539	48.90	1.24	4	2.73	0.515	18.86	2.98
Arroz	6	1.68	0.214	12.70	1.89	6	2.79	0.531	19.03	3.05	

1.1.2 Selección de la información para base de datos de consulta

1.1.2.1 Criterios de selección para Base de Datos

Al partir de datos experimentales se plantearon los siguientes **criterios**:

Para la **REP** el coeficiente de variación expresado en porcentaje (**%CV**) del método oficial no debe de pasar de 15% pero debido a que en este caso los valores obtenidos son con personal no experimentados en ensayos con animales de laboratorio; se permitió un **%CV** < 20% y que los datos fueran congruentes con los valores teóricos (reportados en la bibliografía consultada).

Se debe de tomar en cuenta para la selección el valor de **REP** sin ajustar y el valor de caseína (dieta de referencia para este ensayo), dato utilizado para el cálculo de **REPa**. Un valor bajo en el promedio de **REP** para la caseína altera los valores cuando se realiza el cálculo de **REPa**, así mismo sucedió con un valor alto, ya que el valor establecido en la bibliografía es de 2.5. (**AOAC 982.30**). Al aplicar los criterios de selección de la información disponible se eliminó una cantidad significativa para así poder obtener la **Tabla 3**.

En la **Tabla 2** se muestra solo una parte de los valores seleccionados por los criterios.

Tabla 2. Selección de la información para base de datos de consulta

Fuente	REPa	%CV	Fuente	REPa	%CV
maíz	1.14	10.61	leche	3.21	14.81
caseína	2.50	11.02	avena	1.36	26.40
huevo	3.38	6.99	soya-trigo	2.77	10.40
gelatina	-1.02	-20.25	leche-avena	3.05	8.78
soya-maíz	2.16	8.92	avena-maíz	1.61	15.56
maíz-huevo	2.66	6.34	soya-avena	2.28	13.36
soya	1.44	14.97	gelatina	-1.77	17.78
avena-leche	2.21	9.57	caseína	2.50	6.50
caseína	2.50	9.21	soya-maíz	2.06	6.93
leche	2.92	6.08	maíz	0.83	18.02
avena	1.71	5.29	leche-gelatina	1.63	14.92
avena-maíz	2.29	15.98	soya-leche	2.57	17.80
avena-soya	2.03	6.09	leche	2.30	14.40

1.1.3 Homogeneización de la información para base de datos de consulta

En la **Tabla 3** se muestra la homogeneización de los valores para obtener una base de datos de consulta confiable, en donde se realizó la prueba de **Q de Dixon** para la eliminación de datos anómalos, encontrando solo un caso en toda esta información, leche-gelatina que de todos sus valores solo el señalado en la tabla no será considerado para la base de datos de consulta

Tabla 3. Homogeneización de los datos para obtener una base de datos de consulta para índice REP

Prueba de dixon								0.45	0.68					0.71		0.11					-0.43				0.61
DIETA	CASEINA	MAÍZ	GELATINA	HUEVO	SOYA	LECHE	AVENA	CARNE DE RES	LECHE-GELTINA	MAÍZ-SOYA	AVENA-SOYA	LECHE-MAÍZ	SOYA-TRIGO	ARROZ	ARROZ-LECHE	GARBANZO	ARROZ-SOYA	GELATINA HUEVO	MAÍZ FRIJOL	GARBANZO-MAÍZ	POLLO	AVENA-MAÍZ	TRIGO	LECHE-SOYA	AVENA-LECHE
1	2.50	0.83	-3.01	3.09	1.12	2.53	1.63	2.30	1.37	1.65	1.90	2.18	2.27	1.89	2.36	1.33	1.97	1.91	0.95	1.24	1.96	1.47	1.03	2.57	2.21
2	2.50	1.01	-2.67	3.38	1.25	2.55	1.70	2.56	1.38	1.78	2.02	2.34	2.72	1.90	2.55	1.97	2.62	2.03	1.08	1.70	2.55	1.62	1.18	3.10	3.06
3	2.50	1.03	-2.62	3.47	1.44	2.57	1.98	3.31	1.49	1.89	2.28	2.78	2.78	2.09	2.67	2.07	3.49	2.08	1.34	1.90	2.77	2.29	1.87		4.40
4	2.50	1.05	-2.27	3.9	1.50	2.88	2.15	3.71	1.54	2.05	2.28	3.33		2.14	3.13	2.08		2.11	1.69		3.03		1.44		
5	2.50	1.07	-2.24	3.96	1.8	2.90	2.16		1.63	2.16	2.43	3.47		2.77	3.18	2.48			1.81		3.36		1.56		
6	2.50	1.08	-2.19	4.10	1.88	2.90	2.60		1.67	2.76	2.84								2.07						
7	2.50	1.09	-2.18		1.89	2.92			1.68										2.09						
8	2.50	1.14	-2.08		1.89	2.98			1.79										3.02						
9	2.50	1.22	-2.06		2.20	2.98			2.68																
10	2.50	1.26	-1.95		2.22	3.07																			
11	2.50		-1.94		2.40	3.11																			
12	2.50		-1.93		2.40	3.17																			
13	2.50		-1.86			3.21																			
14	2.50		-1.82			3.24																			
15	2.50		-1.78			3.34																			
16	2.50		-1.78			3.35																			
17	2.50		-1.60			3.42																			
18	2.50		-1.40																						
19	2.50		-1.34																						
20	2.50		-1.30																						
21	2.50		-1.26																						
22	2.50		-1.22																						
23	2.50		-1.19																						
24	2.50		-1.12																						
25	2.50		-1.02																						
26	2.50		-1.02																						
27	2.50		-0.86																						
28	2.50		-0.84																						
29	2.50		-0.76																						
30	2.50																								
31	2.50																								
32	2.50																								
33	2.50																								
34	2.50																								
35	2.50																								
36	2.50																								
37	2.50																								
38	2.50																								
39	2.50																								
40	2.50																								
41	2.50																								
42	2.50																								

ES EL UNICO QUE SERA RECHAZADO POR PRUEBA DE DIXON

1.1.4 Tratamiento estadístico

Después de realizar el manejo de datos correspondiente se obtendrá una base de datos secundaria la cual permitirá realizar el tratamiento estadístico pertinente que consta de aplicar la estadística descriptiva adecuada y obtener los parámetros correspondientes y necesarios para la base de datos de consulta. La base de datos constará de **promedio, desviación, porcentaje del coeficiente de variación (%CV) y rango (máximo y mínimo)**, logrando que entre analistas experimentados y no experimentados se pueda manejar una información adecuada para este tipo de ensayos

1.2 Segunda Etapa. Experimental

Esta segunda etapa consta del ensayo biológico experimental: preparación de dietas, selección y preparación de animales, así como de los métodos para determinar que las dietas utilizadas para llevar a cabo este bioensayo sean isoproteicas e isocalóricas; es decir la determinación de proteína y densidad calórica respectivamente de las dietas.

1.2.1 Ensayo biológico experimental

Para corroborar la confiabilidad de la base de datos de consulta obtenida se realizó un ensayo biológico de las fuentes de proteína de mayor consumo dentro del Área metropolitana y más significativos dentro del estudio realizado. Por lo que fue necesaria la preparación de dietas de estas fuentes para llevar a cabo el ensayo **REP**.

1.2.1.1 Preparación de dieta para determinación REP

Para elaborar la dieta es indispensable contar con el análisis proximal del alimento en estudio para ajustar los nutrimentos a la composición de la dieta de referencia y hacer las comparaciones pertinentes. Es importante hacer notar que la dieta debe llevar un 10% de proteína, de tal manera que se garantice que toda la proteína va a ser incorporada si la calidad es buena.

En el caso del método de **RNP** la metodología propone utilizar una Dieta Liebre de Nitrógeno (**DLN**) en la cual la fuente de proteína es sustituida por dextrosa.

Material

Fuentes de Proteína

- Huevo entero deshidratado en polvo (**HEP**)
- Leche entera en polvo (**LCH**) NIDO®
- Harina de soya desengrasada (**SOY**)
- Garbanzo (**GBZ**)
- Harina de maíz nixtamalizado (**MZ**) MASECA
- Caseína (**CAS**)(Referencia)
- Gelatina (grenetina) (**GT**)

Nota:

La abreviatura que se presenta frente a cada fuente de proteína es aquella utilizada para la identificación de cada lote de animales, en el ensayo biológico.

Accesorios e implementos

- Balanza granataria
- Recipientes para pesar
- Caseína MP Biomedicals inc. LLC,960128
- Sacarosa comercial
- Glucosa USP comercial química BARSAS s. de R.L
- Dextrina (Maisena®)
- Aceite de maíz Patrona®
- Manteca vegetal INCA®
- Mezcla de vitaminas MP Biomedicals inc. LLC, 904654
- Mezcla de minerales MP Biomedicals inc. LLC, 902842
- Celulosa SIGMA C-8002
- Colina (solución al 50%)

La elaboración de las diferentes dietas para el ensayo biológico se llevo a cabo mediante la consulta de tablas de composición de alimentos, en donde se elaboró un cuadro con el análisis proximal de las diferentes fuentes de proteína, logrando obtener el promedio de cada uno de los componentes para el cálculo y preparación de las dietas. En la **Tabla 4** se proporciona la información correspondiente al análisis proximal de las diferentes fuentes de proteína.

Con la información se realizó el cálculo para la preparación de la dieta con respecto a la dieta de referencia (**CAS**), en el **Anexo 2** se muestra un ejemplo.

Se realizó lo mismo para las demás dietas, en la **Tabla 5** se muestran las cantidades necesarias para cada fuente de proteína.

Tabla 4. Análisis proximal de las fuentes de proteína consultadas en tablas de composición de alimentos

Fuente de proteína	Análisis proximal	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	Promedio	Mínimo	Máximo	Rango
Huevo entero deshidratado	Humedad	4.10	4.10	5.00	4.10	5.00							4.46	4.10	5.00	0.90
	Proteína	45.80	48.86	45.80	45.80	46.80	46.80	47.69					46.79	45.80	48.86	3.06
	Carbohidratos	4.70	7.00	4.80	4.80	2.50	2.50						4.38	2.50	7.00	4.50
	Lípidos	41.80	35.48	41.80	41.80	42.00	42.00						40.81	35.48	42.00	6.52
	Cenizas		3.66	3.40	3.50	3.60							3.54	3.40	3.66	0.26
Leche en polvo	Humedad	1.90	2.50	1.90	2.50	2.50	2.20	3.50					2.43	1.90	3.50	1.60
	Proteína	27.10	26.30	27.10	26.30	26.30	27.00	25.20	26.00	27.60	26.20	27.40	26.59	25.20	27.60	2.40
	Carbohidratos	38.30	38.40	38.30	38.40	37.10	38.10	38.00	37.10	38.10	38.00	38.60	38.04	37.10	38.60	1.50
	Lípidos	26.90	26.70	26.90	26.70	26.70	28.00	26.20	26.30	26.00	28.10	26.00	26.77	26.00	28.10	2.10
	Cenizas	5.80		5.80	6.10	6.10	5.70						5.90	5.70	6.10	0.40
Harina de Soya Desengrasada	Humedad	8.00	2.70	3.90	8.10	8.00	3.10	7.50					5.90	2.70	8.10	5.40
	Proteína	52.80	46.50	48.40	42.30	52.80	62.60	48.50	40.80				49.34	40.80	62.60	21.80
	Carbohidratos	27.10	38.00	33.20	39.40	27.10	23.40	35.00	40.21				32.93	23.40	40.21	16.81
	Lípidos	2.00	6.70	3.80	1.70	2.00	1.10	3.00	3.90				3.03	1.10	6.70	5.60
	Cenizas	6.80	6.10	6.40	5.00	6.80	6.30	6.00					6.20	5.00	6.80	1.80
Garbanzo	Humedad	9.10	11.50	9.10	11.00	8.40	11.00						10.02	8.40	11.50	3.10
	Proteína	20.10	18.20	20.10	20.80	20.40	19.80	20.50	20.10	20.95			20.11	18.20	20.95	2.75
	Carbohidratos	57.10	61.10	57.06	44.30	61.60	48.60	55.80	57.10	57.06			55.52	44.30	61.60	17.30
	Lípidos	6.60	6.20	6.60	5.50	6.20	3.40	5.50	6.60	6.60			5.91	3.40	6.60	3.20
	Cenizas		3.00	4.60		3.40							3.67	3.00	4.60	1.60
Harina de Maiz Nixtamalizado	Humedad	11.90	7.10	9.00	9.30	7.10	11.20						9.27	7.10	11.90	4.80
	Proteína	8.70	7.10	9.30	8.90	7.10	9.00	7.10	8.50				8.21	7.10	9.30	2.20
	Carbohidratos	70.90	77.40	76.30	74.20	79.30	73.80	77.40	77.89				75.90	70.90	79.30	8.40
	Lípidos	4.60	4.50	3.80	3.50	4.50	4.50	4.50	4.88				4.35	3.50	4.88	1.38
	Cenizas	1.70		1.60	1.30	2.00	1.50						1.62	1.30	2.00	0.70
Gelatina (Grenetina)	Humedad		1.60	1.60									1.60	1.60	1.60	0.00
	Proteína	93.00	94.00	94.00	94.00								93.75	93.00	94.00	1.00
	Carbohidratos	0.30											0.30	0.30	0.30	0.00
	Lípidos	0.50	0.10	0.10	0.10								0.20	0.10	0.50	0.40
	Cenizas												0.00	0.00	0.00	0.00

- a. Tabla de composición de alimentos de Centroamérica, INCAP, 1996.
- b. Tabla de composición de alimentos .Instituto de Nutrición Salvador ,1996.
- c. Tabla de composición de alimentos industrializados, 1993.
- d. Tabla de composición de alimentos de América Latina, FAO, 2010.
- e. Tabla de composición de alimentos industrializados, Lima, 2002.
- f. Tabla de composición de alimentos españoles, 1998.
- g. Tabla de composición de alimentos, INS. 2002
- h. Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos, 1974
- i. Nutrición y Composición de alimentos, 2010
- j. Tabla de composición nutricional de los alimentos, 2010.
- k. Tabla de Valores Nutritivos para cálculos dietéticos, 1987

Tabla 5. Cantidades para la preparación de dietas para los ensayos biológicos (en 100g y la cantidad preparada (g))

Ingrediente	Huevo entero en polvo		Leche en polvo		Soya		Garbanzo		Maíz		Gelatina		Caseína		DLN	
Fuente de proteína	21.37	641.1	37.61	1034.2	20.27	456.1	49.73	994.6	91.35	1598.6	10.67	106.7	12.35	308.8		
Sacarosa	21.98	659.4	17.53	482.1	20.08	451.8	13.11	262.2			22.29	222.9	22.30	557.5	22.3	89.2
Glucosa	19.03	570.9	15.18	417.5	17.38	391.1	11.35	227.0			19.29	192.9	19.30	482.5	29.3	117.2
Dextrina	25.04	751.2	19.97	549.2	22.87	514.6	14.93	298.6			25.39	253.9	25.40	635.0	25.4	101.6
Manteca	3.02	90.6	2.25	61.9	7.65	172.1	6.32	126.4	5.73	100.3	7.99	79.9	8.00	200.0	8.0	32.0
Aceite	2.26	67.8	1.68	46.2	5.74	129.1	4.74	94.8	4.30	75.3	5.99	59.9	6.00	150.0	6.0	24.0
Minerales	3.26	97.8	1.78	48.9	2.74	61.6	2.17	43.4	2.53	44.3	4.00	40.0	4.00	100.0	4.0	16.0
Vitaminas	2.00	60.0	2.00	55.0	2.00	45.0	2.00	40.0	2.00	35.0	2.00	20.0	2.00	50.0	2.0	8.0
Colina(50%)	0.40	12.0	0.40	11.0	0.40	9.0	0.40	8.0	0.40	7.0	0.40	4.0	0.40	10.0	0.4	1.6
Celulosa	1.64	49.2	1.60	44.0	0.87	19.6					1.98	19.8	0.25	6.2	2.6	10.4
Total (g)	100.0	3000.0	100.0	2750.0	100.0	2250.0	104.8	2095.0	106.3	1860.5	100.0	1000.0	100.0	2500.0	100.0	400.0

Una vez preparadas las dietas se realizó el ensayo REP, en donde se realiza la selección y preparación de los animales. Así mismo se llevan a cabo las determinaciones de proteína y densidad calórica que la metodología oficial (**AOAC 982.30**) establece que se deben de elaborar dietas isoproteicas e isoenergéticas con respecto a la dieta de referencia, que en este caso es caseína.

1.2.1.2 Selección y Preparación de los Animales

Para el método de **REP** se establece que la ganancia en peso de los animales de ensayo provee una medida confiable del valor nutricional de la fuente de proteína en una dieta; sin embargo, ya que factores como la edad, sexo, periodo de ensayo, nivel de proteína entre otros, definitivamente afectan la determinación de la **REP**, se mencionan los mínimos requerimientos para llevar a cabo el bioensayo.

Se deben emplear ratas macho Wistar de 21 a 23 días de edad (recién destetadas) y el intervalo de peso del lote de las ratas no debe rebasar los 10 gramos.

El periodo de ensayo va de 21 a 28 días y deben mantenerse con alimento y agua **ad libitum**, en condiciones de 12h de iluminación por 12 h de oscuridad (sistema automatizado de la marca **TORK**) con una temperatura de 23 a 24° C y una humedad relativa entre 30 a 35%, libre de olores y ruidos adversos.

Procedimiento

El número de ratas para cada lote de la dieta de estudio, control y **DLN** fue de 6 ratas por lote, siendo 8 lotes y utilizando en total 48 ratas. Todos los animales se pesaron y se ordenaron los pesos de forma ascendente. Se colocaron los animales en las jaulas individuales del estante metálico, etiquetando cada jaula con el peso del animal; para después seguir la distribución de “culebra japonesa” como se muestra a continuación:

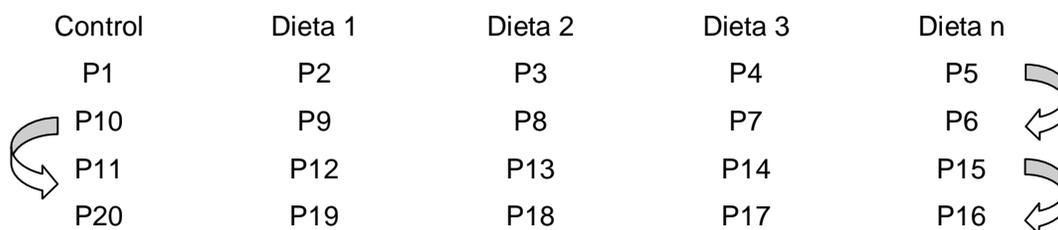


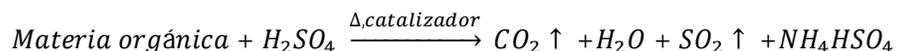
Figura 1. Culebra japonesa

Una vez distribuidos los animales se le colocó el comedero con la dieta correspondiente, en cantidad que siempre esté en exceso de alimento para que su consumo sea *ad libitum*, lo mismo con el bebedero. Se colocó debajo de cada jaula una charola hecha de papel manila, para recuperar el alimento desperdiciado por los animales separándolo de las heces con la ayuda de un cernidor y se consideró el alimento real ingerido. Los animales se pesaron cada tercer día y se registro el peso de cada rata y el alimento ingerido considerando el recolectado de la charola de papel. Se realizó durante 28 días.

Se llevó un control del peso de los animales por lo cual fue recomendable utilizar el formato que se encuentra en el **Anexo 3** que proporcionó el orden y almacenamiento de la información hasta el término del experimento.

1.2.2. Determinación de Proteína (Método de Kjeldahl)

Fundamento: 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 amoniaco; éste se encuentra en la solución ácida como sulfato ácido de amonio, debido a que en la mezcla de reacción siempre hay un exceso de ácido.



Llevándose después una destilación para que el amoniaco obtenido sea liberado mediante la adición de NaOH al 40% y atrapado por ácido bórico en forma de borato de amonio, para ser titulado con HCL 0.01N. Con este título se obtiene el porcentaje de nitrógeno en la muestra que al ser multiplicado por el factor de conversión de acuerdo a la fuente de proteína se obtendrá el porcentaje de proteína cruda.

Material/ Reactivos

Digestor TECATOR, mod. Ab-20/40
Dispositivo de destilación TECATOR,
Kjeltec Auto 1030 Analyzer
Tubos de digestión TECATOR de 100
mL
Mezcla digestiva (a)

Peróxido de hidrógeno al 30%
Sulfato de potasio (R. A.)
Solución de NaOH al 40%
Solución de ácido bórico con
indicadores (b)
Solución de HCl 0.01N valorada

(a) Disolver 3g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en 20 mL de agua destilada y una vez que esté bien disuelta la sal, se agregan 50 mL de ácido ortofosfórico (H_3PO_4) a continuación se adicionan con mucho cuidado y resbalando por la pared del recipiente 430 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Esta mezcla se deja agitando por aproximadamente 30 minutos.

(b) Se pesan 10g de ácido bórico y se coloca en un matraz aforado de 1L; se adiciona agua hasta disolverlo y a continuación se adicionan 10 mL del indicador B (100 mg de verde de bromocresol en 100 mL de metanol) y 7 mL del indicador de rojo de metilo (100mg de rojo de metilo en 100 mL de alcohol metílico). El color de la solución es un tono gris rata, y se afora con agua destilada a 1 L

Procedimiento:

Digestión de la muestra

Se pesó de 20-80 mg de muestra y un blanco de glucosa, de acuerdo al contenido de proteína esperado; en papel cebolla y se colocó en el tubo de digestión, se agregó aproximadamente 0.5g de sulfato de potasio y 3 mL de mezcla digestiva; se colocó el tubo en el digestor por espacio de 15 minutos ($370\text{ }^\circ\text{C}$) y después de ello se sacó del digestor a que se enfrió para adicionarle 1.5 mL de H_2O_2 al 30% y nuevamente se coloca en el digestor. Se considera que la digestión está realizada, cuando el tubo no muestra manchas ni puntos negros y además la mezcla de digestión sea transparente con un ligero tono verde-azuloso.

Destilación:

La destilación se realizó una vez que los tubos estén fríos, se agregan 25 mL de agua destilada, y se realizó la destilación en el equipo AutoKjeltec que nos dió la lectura de mL de ácido gastados para la titulación de la muestra, los cuales son necesarios para conocer el % de Nitrógeno contenido en la misma.

Cálculos:

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

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

$$\% Proteína = \%N_2 \times F$$

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 de acuerdo a la fuente de proteína.

1.2.3. Determinación de Densidad Calórica

Fundamento:

La densidad calórica, también denominada densidad energética de un alimento o dieta, es la cantidad de energía en términos de kilocalorías que proporciona un gramo de alimento o dieta.

Para obtener el contenido calórico, se somete una fracción de la muestra a una combustión total, dentro de un recipiente cerrado y en presencia de un exceso de oxígeno que asegure una completa combustión. En el caso específico de la bomba calorimétrica, la elevación de la temperatura por efecto de la combustión, es detectado por un termopar, el cual a su vez está acoplado a un galvanómetro de alta sensibilidad, produciéndose una diflexión que se traduce en una lectura, la cual al interpolar en una curva de calibración previamente establecida de un material de densidad energética conocida, proporcionara su valor calórico. El anterior dispositivo pertenece al grupo de calorímetros, denominado calorímetro de medición de un incremento de temperatura temporal.

Material / Reactivos

Acido benzoico (Patrón de referencia cuyo valor calórico está certificado)

Desecador de vidrio

Balanza analítica (SARTORIUS ANALITYC)

Estufa de secado a presión reducida (BLUE M)

Mecha de algodón de 75 mm de largo

Crisol de acero inoxidable de 25.4 mm de diámetro

Mango metálico compactador

Bomba calorimétrica balística

GALLENKAMP

Procedimiento

Tratamiento de la muestra

Las muestras deben ser homogéneas, por lo que antes de realizar el pesado se colocó una pequeña cantidad en un mortero y se homogeneizó.

El peso de las muestras para cada dieta fue de 500 mg, se colocaron en un crisol metálico a peso constante junto con la mecha de algodón quedando una parte de esta fuera, para después realizar la ignición de las mismas, el peso registrado correspondería a un peso preliminar.

La compactación de las muestras se realizó con el mango para que las muestras quedaran uniformes, con un extremo de mecha dentro de éstas, por lo cual se realizó un segundo pesado para así obtener el peso final.

Ignición de muestras

Después de esto se efectuó la ignición de cada muestra esto con ayuda de la bomba calorimétrica, colocando de uno en uno cada crisol en la base superior del pilar central de la bomba, se introdujo la punta libre de la mecha en el alambre de ignición, se cerró el cartucho con el capuchón de tal forma que el cierre fuese hermético, colocando el sensor del termopar en el orificio del capuchón. La presión en la bomba debe ser de 25 bars de 20 a 30 segundos, por lo cual se utilizó un cilindro de oxígeno; alcanzada esta presión se cerró la válvula de paso y se ajustó el indicador del galvanómetro a cero, se deben de mantener las condiciones por 10 segundos para poder oprimir el botón de ignición y comenzar la combustión que da la lectura máxima alrededor de 3 minutos, registrada en el galvanómetro. Se desconectó el sensor, se liberaron los gases y se quitó el capuchón para atemperar con hielo para seguir con la determinación. Esto se realizó para cada dieta y por triplicado.

Cálculos:

Se utilizó una curva de calibración de ácido benzoico (**Anexo 4**) experimental, las lecturas obtenidas para la combustión del ácido benzoico, en donde se convirtieron los gramos de ácido a kJ y kcal, para que con los datos se trazará la curva de calibración del contenido calórico en kJ (abscisas) vs lectura (ordenadas) e interpolar la densidad calórica de cada muestra.

En donde:

$$1g \text{ de ácido benzoico} = 26454.3 J = 26.45 kJ$$

$$4.1868 kJ = 1 kcal$$

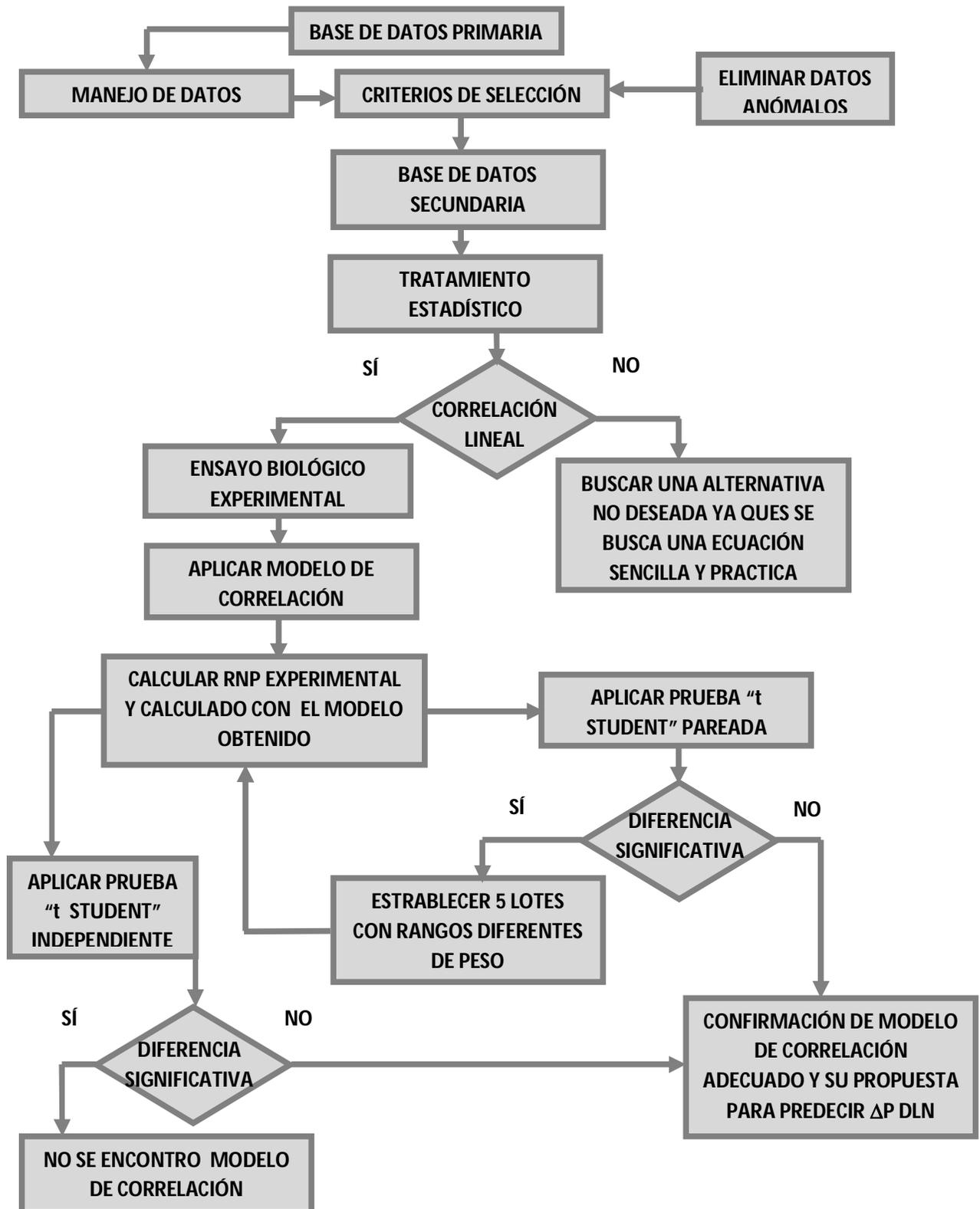
Para después calcular la densidad calórica de la muestra con la siguiente forma:

$$kJ/100g \text{ peso de muestra} = \frac{\text{Lectura (kJ)} \times 100}{\text{peso de muestra (g)}}$$

Una vez realizado el ensayo **REP** y **RNP** así como sus respectivas determinaciones, el trabajo muestra la segunda parte (**2ª. Parte**) para la obtención de un modelo de correlación para predecir el **ΔP** de **DLN**. A continuación se muestra el diagrama general de trabajo para esta parte del presente trabajo.

2. DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO (2ª. Parte)

OBTENCIÓN DE UN MODELO DE CORRELACIÓN PARA EL ENSAYO BIOLÓGICO RNP



De acuerdo con las finalidades del bienestar animal, se cuestiona el uso de animales en condiciones extremas de desnutrición, por lo cual es necesario establecer un modelo de correlación por ello se realizó el manejo de datos de la información experimental del promedio de peso inicial (**Pi**) e incremento en peso (**ΔP**) de un lote de animales alimentados con **DLN**, el cual consta de la organización, selección por medio de criterios de los ensayos realizados en el laboratorio de Nutrición de la Facultad de Química en un tiempo significativo (1986/1-2008/2). Con el fin de obtener un modelo de correlación lineal se trato de ajustar al Método de Mínimos Cuadrados (**MMC**) ya que es el indicado para establecer una ecuación lineal.

2.1 Organización y selección de datos para obtener modelo de correlación

La organización de los datos se muestra en la **Tabla 6** los promedios de pesos iniciales (**Pi**) así como el promedio del incremento en peso (**ΔP**) de los lotes alimentados con **DLN**. Estos datos se encuentran de tal manera que se muestra la desviación estándar y **%CV** respectivamente, así como el número de animales (**n_i**) empleados para realizar el cálculo del promedio de la información. La información que se encuentra en la **Tabla 6** es de importancia ya que dará pauta a la eliminación de datos anómalos de acuerdo a **%CV** y **n_i**, de acuerdo a los criterios de selección basados en **%CV** y **n_i** del promedio del **Pi** y **ΔP** de cada lote alimentado con **DLN** por semestre.

Con los datos anómalos eliminados se logró obtener el modelo de correlación lineal con el **MMC**, para calcular el **ΔP** con este modelo. Posteriormente se comparó el **RNP** calculado con el **ΔP** determinado con el modelo contra el **ΔP** experimental. Al realizar la prueba de t pareada hay diferencia significativa entre estos valores de **RNP**, se llevara a cabo un ensayo biológico en donde solo se maneje la **DLN** en cinco lotes de rangos de peso diferentes. En la **Tabla 7** se muestran los rangos de peso utilizados en los diferentes lotes, para establecer un nuevo modelo de correlación

Tabla 6. Orden de los datos para obtener modelo de correlación

Valores de Pi ordenados de menor a mayor con su respectivo ΔP							
n Pi	PROMEDIO Pi	Desviación	%CV	n ΔP	PROMEDIO ΔP	Desviación	%CV
6	32.5	3.7	11.4	4	-5.1	0.4	8.1
6	37.3	1.8	4.8	6	-9.2	1.8	19.3
6	39.5	4.8	12.1	6	-11.3	2.2	19.6
6	43.8	7.2	16.4	6	-7.5	2.6	34.3
6	44.4	11.6	26.0	4	-7.9	2.8	35.8
6	44.9	3.4	7.6	6	-7.5	2.5	32.9
4	45.3	8.1	17.9	4	-9.0	2.9	32.2
5	45.5	2.6	5.7	3	-8.2	0.6	7.1
6	46.9	11.7	25.0	6	-8.4	4.2	50.5
6	48.3	3.6	7.5	6	-9.4	1.8	18.9
6	48.3	3.5	7.2	4	-10.7	2.3	21.9
6	50.2	5.3	10.5	6	-12.0	2.1	17.5
6	50.5	5.6	11.1	4	-7.1	1.4	19.7
6	50.6	6.6	13.0	6	-9.2	2.0	22.2
6	51.1	3.8	7.4	6	-9.5	1.3	14.1
6	51.1	3.7	7.3	4	-12.1	2.3	19.0
6	51.3	11.9	23.2	6	-13.0	5.6	42.5
6	52.5	6.8	12.9	6	-11.5	1.6	13.6
6	54.5	6.3	11.6	4	-8.9	1.1	12.0
6	55.0	9.5	17.3	4	-10.8	2.5	22.9
6	56.9	5.6	9.9	6	-15.4	3.3	21.2
6	57.5	5.2	9.0	4	-13.0	1.5	11.4
6	57.8	7.3	12.6	6	-12.6	1.2	9.5
6	59.0	9.7	16.4	6	-10.9	5.3	48.7
6	59.1	4.2	7.1	6	-11.7	0.5	4.5
6	59.1	12.0	20.4	6	-12.7	4.6	36.3
6	59.8	4.1	6.8	4	-12.5	3.2	25.8
6	59.9	6.8	11.4	6	-9.8	1.6	16.3
6	62.8	5.4	8.6	4	-12.3	2.2	17.6
6	65.8	4.4	6.7	4	-14.4	1.6	11.0
4	78.8	12.5	15.9	4	-18.2	4.6	25.5

Tabla 7. Rango de pesos utilizados para obtener modelo de correlación

Lote	Rango (gramos)
1	30-35
2	35-40
3	40-45
4	45-50
5	50-55

2.2 Obtención del modelo de correlación para ensayo biológico RNP

Se obtendrá el ΔP a los 10 y 11 días de experimentación, ya que en el método oficial (**AOAC 982.30**) el experimento se lleva al cabo de 10 días, mientras que en el laboratorio de Nutrición se lleva al cabo de 11 días; esto para determinar si un día de experimentación es un factor que afecte la respuesta de los animales y por ende el cálculo de **RNP**. Con esto se realizó el modelo de correlación lineal por medio del **MMC**, y así se obtuvo el **RNP** con las ecuaciones propuestas y experimentalmente para cada una de las fuentes de proteína, una vez hecho esto se determinó si hay diferencia significativa por medio de una **prueba t** independiente, por lo que se consideró que el modelo es aceptado siempre y cuando la prueba muestre que no hay diferencia significativa entre estos valores.

Para realizar el ensayo biológico **RNP** se siguen los pasos para el ensayo **REP**, se pueden llevar a la par, sólo que éste se lleva al cabo de 10 días. La metodología propone utilizar una **DLN** en la cual la fuente de proteína es sustituida por dextrosa.

Nota: En el **Anexo 9** se encuentra la prueba Q de Dixon para eliminación de datos anómalos y la información necesaria de los parámetros estadísticos utilizados en este trabajo; promedio, desviación estándar, rango. Así como el Método de Mínimos Cuadrados (**MMC**) y las pruebas de comparación de medias, t Student pareada e independiente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Obtención de base de datos de consulta para índice REP ajustado (REPa)

La base de datos de consulta obtenida a partir de la información correspondiente a un tiempo significativo después de un manejo de datos contiene 25 valores de los cuales 12 son para una fuente de proteína y 13 son para la mezcla de dos fuentes de proteína en una proporción 50-50%.

En la **Tabla 8** se muestra la base de datos de consulta de una fuente de proteína en donde estos se encuentran ordenados de manera descendente y se observa la calidad de las fuentes de proteína, desde alta hasta mala calidad nutritiva.

Las proteínas de origen animal como: huevo, leche, carne, pollo, así como caseína, como se observa en la **Tabla 8** son las de mejor calidad, en el caso de las proteínas de origen vegetal van de acuerdo a sus limitaciones en cuanto a la biodisponibilidad de aminoácidos; pues se pueden presentar cereales o leguminosas como fuentes de proteína de intermedia calidad, así como cereales de baja calidad como lo es el maíz y alimentos como la gelatina que son de mala calidad.

En el caso del lote alimentado con la dieta de gelatina se amplifica la variabilidad intraespecie, ya que la respuesta biológica (crecimiento corporal) es afectada por el polimorfismo genético y se manifiesta en un mayor %CV.

En la **Tabla 9** se muestra la base de datos de consulta para la mezcla de dos fuentes de proteína en donde se observa la suplementación así como la dilución de estas, en el caso de cereales y leguminosas se observa que en la mayoría de los casos hay una suplementación, como en las mezclas de soya-cereal; en los casos de una fuente de proteína de buena calidad como es leche y huevo se presenta una dilución en sus mezclas ya sea cereal, leguminosa o una fuente de proteína de mala calidad. Para estas mezclas no existe información acerca de **REPa** por lo cual se puede apreciar que la variabilidad (%CV \uparrow) en algunos casos es mayor y por lo tanto el rango propuesto es amplio.

Así también se observa una variabilidad debida a la diferente procedencia de los diferentes productos alimenticios para ambos casos.

Tabla 8. Base de datos de una fuente de proteína para el índice nutritivo REP ajustado

FUENTE DE PROTEÍNA	HUEVO	LECHE	CARNE DE RES	POLLO	CASEINA	ARROZ	AVENA	GARBANZO	SOYA	TRIGO	MAÍZ	GELATINA
PROMEDIO	3.65	3.01	2.97	2.74	2.50	2.16	2.04	1.98	1.83	1.42	1.08	-1.70
DESVIACIÓN ESTANDAR(σ)	0.40	0.28	0.65	0.53	-	0.36	0.36	0.44	0.43	0.33	0.12	0.59
%CV	10.86	9.17	21.95	19.30	-	16.61	17.43	22.21	23.59	23.21	10.97	-34.76
MÍNIMO	3.09	2.53	2.30	1.96	2.50	1.89	1.63	1.33	1.12	1.03	0.83	-3.01
MÁXIMO	4.10	3.42	3.71	3.36	2.50	2.77	2.60	2.62	2.40	1.87	1.26	-0.76
RANGO	1.01	0.89	1.41	1.40	0.00	0.87	0.97	1.29	1.28	0.84	0.43	2.26

σ Desviación estándar

%CV Coeficiente de Variación en porcentaje

- No procede ya que se realiza el ajuste a este valor para esta fuente de proteína

Tabla 9. Base de datos de consulta para dos fuentes de proteína para el índice nutritivo REP ajustado

FUENTE DE PROTEÍNA	LECHE AVENA	LECHE-SOYA	LECHE-MAÍZ	LECHE-ARROZ	SOYA-ARROZ	SOYA-TRIGO	SOYA-AVENA	SOYA-MAÍZ	HUEVO GELATINA	MAÍZ AVENA	MAÍZ FRUJOL	MAÍZ GARBANZO	LECHE-GELATINA
PROMEDIO	3.22*	2.83	2.82	2.78	2.69*	2.59*	2.29*	2.05*	2.03	1.79	1.76	1.62	1.57
σ	1.11	0.37	0.58	0.36	0.76	0.28	0.33	0.39	0.09	0.44	0.66	0.34	0.15
%CV	34.31	13.20	20.43	12.98	28.25	10.76	14.46	19.21	4.36	24.35	37.81	20.99	9.65
MÍNIMO	2.21	2.57	2.18	2.36	1.97	2.27	1.90	1.65	1.91	1.47	0.95	1.24	1.37
MÁXIMO	4.40	3.10	3.47	3.18	3.49	2.78	2.84	2.76	2.11	2.29	3.02	1.90	1.79
RANGO	2.19	0.53	1.29	0.82	1.52	0.51	0.94	1.11	0.20	0.82	2.06	0.66	0.42

σ Desviación estándar

%CV Coeficiente de Variación en porcentaje

* Se observa complementación de las fuentes de proteína

Las determinaciones para corroborar que las dietas son isoproteicas e isocalóricas con respecto a la dieta de referencia caseína (**CAS**) se muestran en la **Tabla 10 y 11** respectivamente donde se hace uso de las siglas mencionadas en **Metodología** (pág. 33). En la **Tabla 10** se puede observar que existe una diferencia significativa, debida a que el análisis proximal elaborado es el que se encuentra en la bibliografía y las dietas fueron ajustadas con estos valores promedio, por lo cual la diferencia que existe entre los valores es lógica, la dieta de maíz que es difícil de ajustar al 10% de proteína ya que este alimento como fuente de proteína tiene un contenido menor al 10 % como se puede observar en la **Tabla 4** (pág. 34).

Tabla 10. Determinación de % Proteína de las fuentes de proteína

Fuente de Proteína*	Promedio	Desviación	CV
HEP	10.8	0.82	7.67
LCH	8.8	0.19	2.15
CAS	11.0	0.76	6.95
SOY	8.7	0.07	0.80
GBZ	9.3	0.31	3.30
MZ	6.9	0.10	1.46
GT	9.7	0.64	6.63

*Abreviatura: Huevo entero en polvo (HEP), Leche entera en polvo (LCH), Harina de Maíz Nixtamalizado (MZ), Caseína (CAS), Gelatina (GT), Garbanzo(GBZ), Harina de Soya desengrasada (SOY)

En la **Tabla 11** se observa la determinación de la densidad calórica para las diferentes fuentes de proteína en donde se observa que no hay diferencias marcadas entre las diferentes dietas.

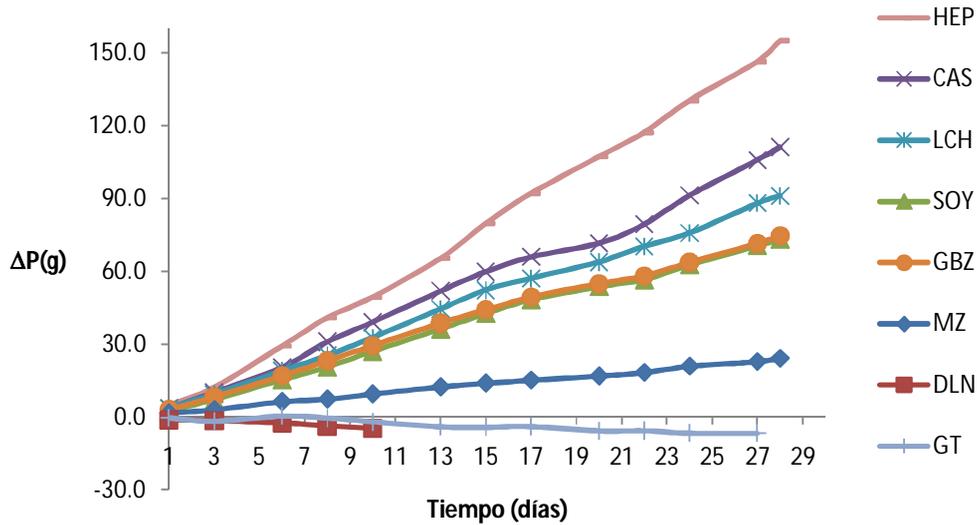
Tabla 11. Determinación de Densidad Calórica de las fuentes de proteína

Fuente de proteína	Promedio kJ/g muestra	Desviación Estándar	%CV
HEP*	22.67	0.575	2.534
LCH*	20.09	0.112	0.557
CAS*	20.01	0.775	3.872
SOY*	20.99	0.426	2.029
GBZ*	21.33	0.479	2.244
MZ*	19.31	0.075	0.387
GT*	20.77	0.367	1.767
DLN(1)*	19.95	0.293	1.471
DLN(2)*	18.33	0.224	1.221

*Abreviatura: Huevo entero en polvo (HEP), Leche entera en polvo (LCH), Harina de Maíz Nixtamalizado (MZ), Caseína (CAS), Gelatina (GT), Garbanzo(GBZ), Harina de Soya desengrasada (SOY), Dieta Libre de Nitrógeno (DLN)(1)Elaborada para el ensayo experimental REP y RNP, (2) elaborada para ensayo biológico para determinar un nuevo modelo de correlación.

Al realizar una curva en la cual se observa el crecimiento de los animales con respecto al tiempo de las diferentes dietas, se observa en el **Grafico 1** la tendencia de este crecimiento con respecto a una dieta de referencia (**CAS**).

Gráfico 1. Curva de Crecimiento en el desarrollo experimental para obtener el REP ajustado



Abreviatura: Huevo entero en polvo (HEP), Leche entera en polvo (LCH), Harina de Maíz Nixtamalizado (MZ), Caseína (CAS), Gelatina (GT), Garbanzo(GBZ), Harina de Soya desengrasada (SOY), Dieta Libre de Nitrógeno (DLN)

El factor primordial para evaluar la calidad proteínica se manifiesta como una medida de la proporción y disponibilidad de los aminoácidos esenciales, se observa que la dieta de **HEP** presenta la mejor tendencia con respecto a la dieta **CAS**; así mismo debió suceder con la dieta **LCH**, pero precisamente la respuesta biológica de los animales, depende en este caso del procesamiento para obtener este producto alimenticio. Ahora analizando las dietas de las leguminosas **SOY** y **GBZ** se ve una tendencia similar y reducida en crecimiento debido a su baja disponibilidad en aminoácidos esenciales, en particular de los aminoácidos azufrados. La dieta **MZ** deficiente en lisina y triptófano principalmente presenta una tendencia menor a la dieta **CAS** debido a su baja disponibilidad en estos aminoácidos y a que tiene un menor porcentaje de proteína. Con respecto a la dieta de **GT** y **DLN** se espera esta tendencia debido a que, en el caso de la primera es una fuente de proteína considerada de mala calidad de acuerdo al ensayo realizado; para la **DLN** es una dieta que no contiene fuente proteínica y es por esto que se muestra esta predisposición.

Se realizó un ensayo biológico con el fin de corroborar los valores obtenidos en la base de datos de consulta propuesta; las fuentes de proteína seleccionadas fueron aquellos alimentos que reunieron las características de buena, intermedia, baja y mala calidad nutritiva, así como considerados los de mayor consumo.

En la **Tabla 12** se muestra la comparación de la base de datos de consulta propuesta y el valor obtenido experimentalmente, en donde se observa que la mayoría de los valores se encuentran en el rango propuesto, con excepción de maíz esto debido a la variabilidad intraespecie; y a que este ensayo no toma en cuenta la proteína necesaria para el mantenimiento de los animales, como es en el caso de las proteínas de baja y mala calidad; sin embargo el valor experimental se encuentra cercano al rango propuesto en la base de datos.

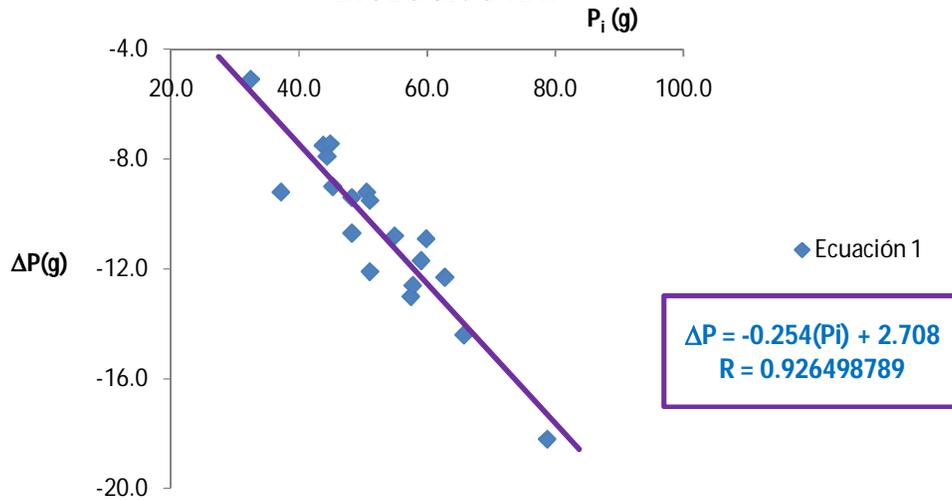
Tabla 12. Comparación de REP experimental con REP de base de datos propuesta

FUENTE DE PROTEÍNA	REP EXP	REP base de datos	RANGO	
			MIN	MAX
HUEVO ENTERO EN POLVO	3.30	3.65	3.09	4.10
LECHE EN POLVO	2.81	3.01	2.53	3.42
CASEÍNA	2.50	2.5	0.00	0.00
SOYA	2.25	1.83	1.12	2.40
GARBANZO	2.31	1.98	1.33	2.62
MAÍZ	1.36	1.08	0.83	1.26
GELATINA	-0.76	-1.70	-3.01	-0.76

2. Obtención de modelo de correlación para ensayo biológico RNP

El modelo de ajuste para el ensayo **RNP** obtenido a partir de la información recabada en un tiempo significativo del promedio de peso inicial (**Pi**) y el promedio del incremento en peso (**ΔP**) se muestra en la **Gráfica 2** con su respectiva ecuación (**Ecuación 1**). El modelo obtenido a través del **MMC** y su respectivo análisis de varianza demuestra que este puede ser utilizado para predecir el **ΔP** del lote alimentado con **DLN**, en el **Anexo 5** se encuentra la información correspondiente a este modelo.

Gráfico 2. MODELO DE AJUSTE PARA ENSAYO BIOLÓGICO RNP



Se realizó la prueba de t para observar la significatividad de los coeficientes de correlación, en la **Tabla 13** se muestra esta prueba observando que la hipótesis nula (**H₀**) es aceptada, dado que la **t exp** es mayor que la **t teo**; con esto se llega a la discusión que existe una correlación y está puede ser utilizada para predecir la variable dependiente.

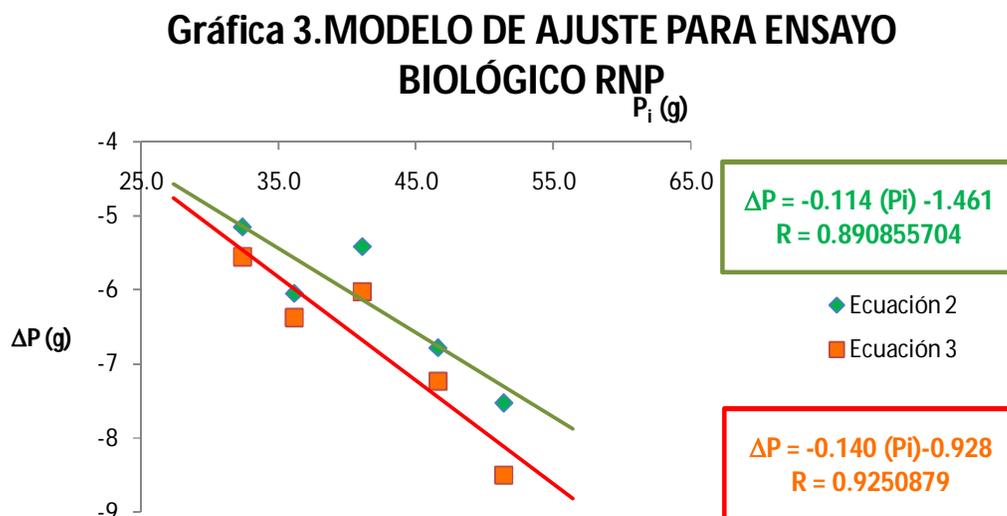
Tabla 13. Prueba de t para la significatividad del coeficiente de correlación

Ecuación 1	
	$\Delta P = -0.254(P_i) + 2.708$
R	0.926498789
R²	0.8584000
N	19
N-2	17
RAIZ	4.123
1-R²	0.142
RAIZ	0.376
t EXP	10.152
t TEO	2.353

Aunque la **Ecuación 1** muestra un coeficiente de correlación adecuada al calcular el ΔP con la ecuación propuesta se observa un sesgo con el ΔP experimental. Por lo que al realizar el cálculo del **RNP** con cada uno de estos ΔP y obtener una comparación con la prueba de t Student pareada, la cual muestra que hay diferencia significativa entre las muestras (**Anexo 7**), es decir la **H₀** es rechazada y por lo cual esta ecuación no será utilizada para predecir el ΔP .

Así mismo debido a que existió diferencia significativa con el modelo de correlación de la **Ecuación 1**, fue necesario realizar un experimento en el cual se establecieron cinco lotes de ratas con rangos de peso diferentes, para obtener un nuevo modelo de correlación. Al realizar este experimento se decidió obtener dos modelos para predecir el ΔP a 10 y 11 días, ya que el método oficial propone 10 días de experimentación y en el laboratorio de nutrición se trabajaba a los 11 días para observar si un día de experimentación afectaba en el cálculo del **RNP**.

En la **Gráfica 3** se observan los modelos con sus respectivos coeficientes de correlación, obteniendo así la **Ecuación 2 y 3** respectivamente a los 10 y 11 días de experimentación, estos obtenidos con el **MMC** y en donde su análisis de varianza demuestra que son aptos para poder predecir el ΔP del lote de **DLN**, mostrados en el **Anexo 5**.



Realizando la prueba de t para observar la significatividad de la correlación de estos dos modelos de correlación, se muestra en la **Tabla 14** que en ambos casos la prueba es aceptada, por lo que existe una correlación; en conjunto el análisis de varianza y la prueba de t de significatividad de ambas ecuaciones demuestran que éstas pueden ser utilizadas con el fin de predecir el ΔP de **DLN**.

Tabla 14. Prueba de t para la significatividad del coeficiente de correlación

MODELO DE CORRELACIÓN		
	Ecuación 2	Ecuación 3
	$\Delta P = -0.114 (Pi) - 1.461$	$\Delta P = -0.140 (Pi) - 0.928$
R	0.890855704	0.9250879
R ²	0.793623885	0.8557877
N	5	5
N-2	3	3
RAIZ	1.732	1.732
1-R ²	0.206	0.144
RAIZ	0.454	0.380
t EXP	3.397	4.219
t TEO	2.353	2.353

Una vez que se observó que ambas ecuaciones son útiles para predecir el ΔP de la **DLN**, se realizó el cálculo de **RNP** con ambas ecuaciones. Al realizar una comparación con el **RNP** experimental obtenido con un ensayo experimental, mediante la prueba de t de Student para variables independientes, en el **Anexo 8** se muestran los resultados de esta prueba para ambas ecuaciones.

Las pruebas demuestran que la **Ecuación 2** es la indicada para predecir el ΔP del lote de la **DLN**, ya que en todas las muestras la hipótesis nula (**H₀**) fue aceptada; mientras que para la **Ecuación 3**, en el caso (Soya) la hipótesis nula (**H₀**) es rechazada y por lo tanto esta muestra que hay diferencia significativa.

En la **Tabla 15** se muestra la comparación de **RNP** experimental y la **RNP** predicho con la **Ecuación 2**, mostrando así que no existe diferencia significativa entre estos valores.

Tabla 15
. Comparación RNP experimental y RNP calculado

Fuente de Proteína	RNP experimental	RNP calculado
Maíz	2.8	3.1
Soya	4.0	4.3
Caseína	4.3	4.5
Leche entera en polvo	5.0	5.2
Garbanzo	4.1	4.3
Gelatina	0.5	0.9
Huevo entero en polvo	5.0	5.2

CONCLUSIONES

- Se elaboró una base de datos de consulta de referencia a la calidad nutritiva proteínica con el manejo de datos de los resultados experimentales de ensayos biológicos realizados en la Facultad de Química, UNAM.
- Se concluye que los parámetros estadísticos obtenidos promedio, desviación estándar y rango son de consulta en la base de datos propuesta.
- Se llega a la conclusión que la base de datos de consulta solo es confiable dentro del Área Metropolitana debido a la procedencia de los productos alimenticios. Se recomienda realizar un trabajo similar para que se tenga una base de datos de consulta con alcance a otras zonas del país.
- Se corroboró la confiabilidad de la base de datos de consulta propuesta al observar una concordancia con los resultados obtenidos mediante un ensayo experimental con alimentos de mayor consumo.
- Se estableció un modelo de correlación significativo con el cual se podrá predecir el ΔP del lote alimentado con DLN; mediante la relación de su P_i y el ΔP , en ratas Wistar.
- Se concluye que con el uso del modelo de correlación para predecir el ΔP de la DLN, se eliminará el uso de este lote para los ensayos biológicos; promoviendo el bienestar animal.
- De acuerdo con los resultados obtenidos, se corroboró que el modelo de correlación para el ensayo biológico RNP, puede ser utilizado pues no hay diferencia significativa entre el modelo y los resultados obtenidos a nivel experimental.

BIBLIOGRAFÍA

Aceró, G. G. **Uso del cerdo como modelo biológico para evaluar la calidad de la tortilla por dos procesos de nixtamalización y la fortificación con vitaminas y pasta de soya.** Tesis Maestría. Universidad de Colima. Colima. págs. 18-20, 34-38. (2000)

Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., Dauvillier, P., **Análisis nutricional de los alimentos**, Ed. Acribia, Zaragoza, págs. 247-262 (2000).

Aguilar, N. J. A.. **Composición nutricia de 10 variedades de maíz y la evaluación de la suplementación de 4 de estas variedades con una especie selecta de leguminosas.** Tesis Maestría. UNAM. México, D. F. págs. 27-31(2009).

Alarcón, A. A. **Proteínas: la base del crecimiento muscular (2ª. Parte).** Músculos y Nutrición. Año 5. Núm. 26.págs 1-3 [internet: www.ntmexico.com; consultada en: agosto 2010]

Alarcón, A. A. **Proteínas: la base del crecimiento muscular (3ª. Parte).** Músculos y Nutrición. Año 5. Núm. 26. págs 1-3 [internet: www.ntmexico.com; consultada en: agosto 2010]

Badui, D. S. **Química de los Alimentos.** Editorial Pearson Educación. Cuarta Edición. México. Pág. (2006)

Bautista, B. I.; Guzmán, F. R.. **Evaluación del bioensayo de Utilización Neta Proteínica (NPU) modificado y su correlación con el método original.** Tesis Licenciatura. UNAM. México, D. F. págs. 24-29. (1999)

Bonmati, L.; León, A. **Estudio del proceso de transformación del colágeno en gelatina.** Anales de la Universidad de Murcia; Ciencias. Volumen. XXXIX-XL. Núm. 1-4. Págs. 136 -146(2010).

Bonmati, L.; León, A. **Rotación específica de las disoluciones acuosas de gelatina.** Anales de la Universidad de Murcia; Ciencias. Volumen. XXXIX-XL. Núm. 1-4. Págs. 123 -133(2010).

Borassi, N., Benavides, F., Ceccarelli, A. **Ética en el uso de Animales de Experimentación.** Asociación Argentina de Especialistas en Animales de Laboratorio (AADEAL), Sociedad de Medicina Veterinaria, Buenos Aires, Argentina. Vol. 56. Núm. 5/1. (1996).

Boutrif, E., **Recent developments in protein quality evaluation.** FAO. Rome. (1991). [internet: www.fao.org; consultada en: agosto 2010]

Casanova, H.; Cardona, S., **Emulsiones o/w estabilizadas con caseinato de sodio: efecto de los iones calcio, concentración de proteína y temperatura.** Universidad de Antioquía, Medellín-Colombia. Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Vol. 11. Núm. 1 (2004).

Certad, M, **Características de la gelatina de patas de pollo obtenida por un proceso ácido.** Revista científica. Vol. XI, Núm. 4, 322-328 (2001)

De Aluja, A. **Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999)**. Gaceta Médica de México. Vol. 138. Núm. 3. págs. 296-299 (2002).

De Luna, J. A. **Valor Nutritivo de la proteína de soya**. Investigación y Ciencia Universidad Autónoma de Aguascalientes. Vol. 14. Núm. 36 págs.29-34 (2006)

Díaz, S. N. **Obtención de un concentrado proteico de Garbanzo (*Cicer arietinum*. L)**. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco. págs. 20-25. (1997)

FAO. **Contenido en aminoácidos de los alimentos y datos biológicos de las proteínas**. Colección FAO: Nutrición y alimentación. Núm. 21. Roma. (1970).

FAO/WHO, **Protein quality evaluation. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation**, Rome, (1990).

Felix, C. J., Pellet, P. **Protein Quality of some representative Latin American Diets by Rat Bioassay**. (1976). [internet: jn.nutrition.org; consultada en: octubre 2009]

Fennema, R. O. **Química de los Alimentos**. Editorial Acribia S. A. Zaragoza págs. 277, 359-361. (1993)

Flores, L. C. **Proceso óptimo de cocción de una variedad de Frijol (*Phaseolus vulgaris*) de amplio consumo con un alto contenido de lectina**. Tesis Licenciatura. UNAM. México, D. F. págs.7, 16. (2010)

González, T. L.; Tellez, V. A.; **Las Proteínas en la Nutrición**, Revista Salud Pública y Nutrición, Vol. 8, No. 2. Abril- Junio 2007.

Granados, Z. J. **El Ángulo del Investigador: Uso de Animales de experimentación en la investigación biomédica en Costa Rica**. Acta Médica Costarricense. Colegio de Médicos Cirujanos. Vol. 52. Núm. 3. (2010)

Hoewitz, W. Ed AOAC. **Official Method of Analysis of AOAC International**. Protein Efficiency Ratio. Method 982.30. Gathersburg, (2006)

Hoewitz, W. Ed AOAC, **Official methods of analysis of AOAC International**, 17a. ed.; Vol. II (45. 3. 04), (2000)

Jímenez, S. G; Valdes, O. J., **En el umbral de la medicina genómica**. Revista Este País. Tendencias y Opiniones. Núm. 138, 21-30. Septiembre (2002)

Latham, M. **Nutrición humana en el mundo en desarrollo**. Colección FAO: Alimentación y Nutrición Núm. 29. Roma. pág. 102-104. (2002)

Martínez, O., Martínez, E. **Proteínas y Péptidos en nutrición enteral**. Universidad de Granada. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Nutrición Hospitalaria. 21 (supl 2) (pág. 1-14). (2006).

Mendenhall, W., Beaver, R. J., Beaver, B. M., **Introducción a la probabilidad y estadística**. Editorial McGraw Hill. México,. págs. 395-405, 485- 493. (2002)

Miller, J.C. **Estadística para Química Analítica**. Segunda Edición. Addison-Wesley Iberoamericana. México, D.F. págs. 42-47, 49-50, 52-57. (1993)

Miller, I., Freund, J. **Probabilidad y Estadística para Ingenieros**. Primera Edición. Editorial Reverté Mexicana, S. A. México, D. F. págs. 210-223. (1973)

Muller, H. G. **Nutrición y Ciencia de los Alimentos**. Editorial. Acribia S. A. Zaragoza. págs. 82,83. (1998)

NOM-062-ZOO-1999. Norma Oficial Mexicana. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Paredes, L.O., Guevara, L. F., Bello, P. L. **La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz**. Ciencias. Núm. 92-93. (2009)

Pellet, P. L., Young, V. R., **Nutritional evaluation of proteins foods. (The United Nations University)**. Tokyo. pp. 1-5, 103-117. (1980)

Rafael, C. R. **Algo más sobre los Alimentos: Una visión desde la Química**. Ed. Escuela Venezolana de la enseñanza de la Química. Universidad de los Andes. Mérida págs. 56-58 (2006).

Tevni, G. T. **Correlación y regresión lineal simple**. págs. 2-7. (2000) [internet: file:///A:/Coregrelinealsimp.htm; consultada en: agosto de 2010]

Sevillano, G. **Base de datos: Su importancia en la investigación. Estructura y diseño**. Neurología: Publicación oficial de la Sociedad Española de Neurología, ISSN 0213-4853, Vol. 19, N°. Extra 1. págs. 1-7. (2004)

Vásquez, L. J. **Pautas Básicas para el manejo de Animales de Experimentación en Investigación biomédica**. Universidad de Cauca. Volumen 9. Numero 4, págs. 26-32. Diciembre de 2007.

Zavala, P. J. **Cambios organolépticos y nutricionales producidos por los tratamientos térmicos durante el procesamiento de la leche**. Peruláctea. págs. 1-15 (2009). [internet: www.perulactea.com; consultada en: julio 2010]

Zavala, P. J. **Aspectos Nutricionales y Tecnológicos de la leche**. Peruláctea. Págs. 67. (2005). [internet: www.perulactea.com; consultada en: julio 2010]

ANEXOS

ANEXOS

Anexo 1

Valores de REP y RNP reportados en la bibliografía

Dieta	REP*	RPN*	No d exp ¹
ARROZ	2.18		7
AVENA	2.25		9
CARNE DE RES	2.3		5
COCO	2.14		1
GARBANZO	1.84	3.82	8
HUEVO	3.92		6
LECHE	3.11	3.65	29
LENTEJA	0.93		2
CASEINA	2.5	4.1	50
MAIZ	1.16	1.7	22
integral	2.2		1
PESCADO	3.49		3
POLLO	1.69		7
SOYA	2.32	3.4	16
extruido	2.33		
SORGO	1.78		2
TRIGO	0.95	1.99	5
LECHE DE SOYA	2.1		1
GELATINA	0		31

*Valores obtenidos de FAO, (1970)

¹Esta columna muestra el número de veces que se realizó el experimento.

Anexo 2

Ejemplo de preparación de dieta.

Preparación de la dieta de HEP.

Análisis proximal de HEP y Dieta de Referencia

Dieta de Referencia (CAS)		Análisis proximal HEP	
Componente	Porcentaje	Componente	Porcentaje
Fuente de Proteína	10	Humedad	4.46
Sacarosa	22.3 (33.28)	Proteína	46.79
Glucosa	19.3 (28.81)	Carbohidratos	4.38
Dextrina	25.4 (37.91)	Lípidos	40.81
Manteca vegetal	8.0 (57.14)	Cenizas	3.54
Aceite de maíz	6.0 (42.86)		
Minerales	4.0		
Vitaminas	2.0		
Colina (50%)	0.4		
Celulosa	2.6		

Con esta información se puede realizar el cálculo, por lo que si se requiere una dieta al 10 % se tiene que:

$$10g \text{ de } P \times \frac{100g \text{ Huevo}}{46.79g \text{ de } P} = 21.37g \text{ de HEP}$$

En donde los macronutrientes proporcionados por este son:

$$\text{Carbohidratos } 21.37 \times 0.0438 = 0.94g$$

$$\text{Lípidos } 21.37 \times 0.4081 = 8.72g$$

$$\text{Cenizas } 21.37 \times 0.0354 = 0.76g$$

De acuerdo con la dieta de referencia:

$$\text{Carbohidratos} \rightarrow 67g - 0.94g = 66.06g$$

$$\text{Sacarosa } 66.06g \times 0.3328 = 21.98g$$

$$\text{Glucosa } 66.06g \times 0.2881 = 19.03g$$

$$\text{Dextrina } 66.06g \times 0.3791 = 25.04g$$

$$\begin{aligned} \text{Lípidos} &\rightarrow 14 - 8.72 = 5.28g \\ \text{Manteca} &5.28 \times 0.5714 = 3.02 g \\ \text{Aceite} &5.28 \times 0.4286 = 2.26g \\ \\ \text{Minerales} &\rightarrow 4 - 0.76 = 3.26g \end{aligned}$$

Por lo que para 100g la dieta queda de esta forma:

Componente	(%)
Huevo entero en polvo (HEP)	21.37
Sacarosa	21.98
Glucosa	19.03
Dextrina	25.04
Manteca vegetal	3.02
Aceite de maíz	2.26
Minerales	3.26
Vitaminas	2.0
Colina (50%)	0.4
Celulosa	(100 - 98.36) 1.64
Total	100

En este caso del **HEP** es necesario conocer cuánto se necesita de Huevo fresco para colocarlo en la estufa a una temperatura de 55 - 60 ° C, por lo cual se realizaron los siguientes cálculos:

El **HEP** tiene 4.46% de agua

Los sólidos totales (**ST**) son: $100 - 4.46 = 95.54$

El Huevo entero fresco (**HF**) tiene una humedad promedio de 75.77%

Sus ST = $100 - 75.77 = 24.23$

Se requiere 641.1 g de **HEP** para 3 Kg

$$\frac{100g HF}{24.23 ST} \times 641.1g HEP \times \frac{95.54ST}{100g HEP} = 2527.88g$$



Anexo 3

Formato para anotar la información obtenida a través del desarrollo del ensayo biológico

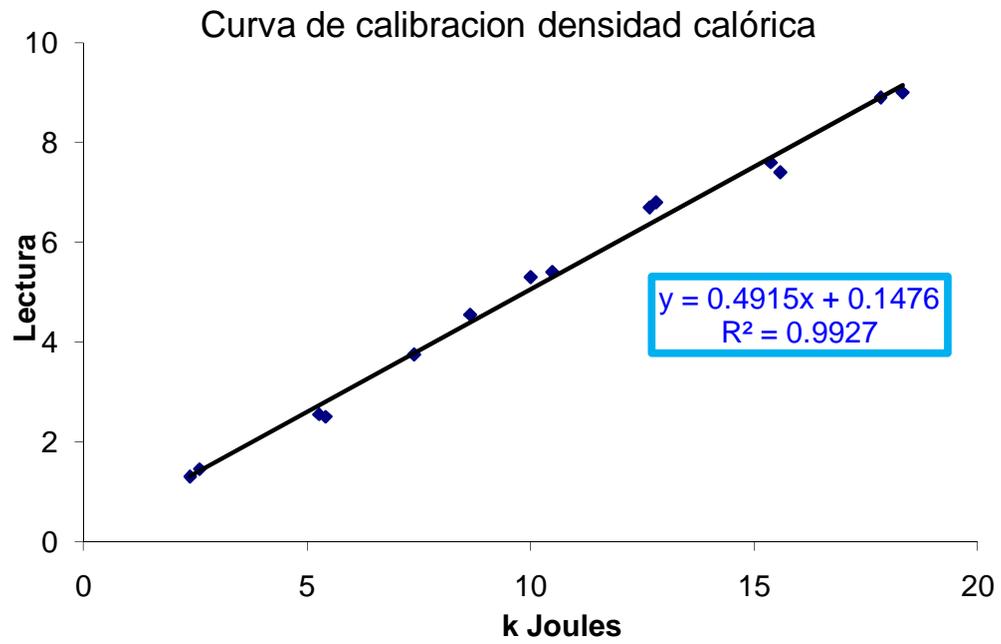


REGISTRO DE DATOS PARA LA PRUEBA BIOLOGICA NUTRICIONAL

RATA		SEXO		Peso inicial (Pi)		Dieta		Fecha						
Tiempo (días)														
Peso animal (Pdía)														
Incremento acumulado (Pdía - Pi)														
Alimento inicial (I)														
Alimento final (F)														
Alimento ingerido (AI = I - F)														
Alimento acumulado (ΣAI)día														
Observaciones:														
RATA		SEXO		Peso inicial (Pi)		Dieta		Fecha						
Tiempo (días)														
Peso animal (Pdía)														
Incremento acumulado (Pdía - Pi)														
Alimento inicial (I)														
Alimento final (F)														
Alimento ingerido (AI = I - F)														
Alimento acumulado (ΣAI)día														
Observaciones:														
RATA		SEXO		Peso inicial (Pi)		Dieta		Fecha						
Tiempo (días)														
Peso animal (Pdía)														
Incremento acumulado (Pdía - Pi)														
Alimento inicial (I)														
Alimento final (F)														
Alimento ingerido (AI = I - F)														
Alimento acumulado (ΣAI)día														
Observaciones:														

Anexo 4

Curva de Calibración para el ácido benzoico



Anexo 5

ECUACIONES OBTENIDAS A PARTIR DEL MÉTODO MÍNIMOS CUADRADOS (MMC)

Ecuación 1

Datos para aplicar MMC

Lote	Pi	ΔP	x2	y2	xy
1	32.5	-5.1	1056.3	26.010	-165.750
2	37.2	-9.2	1383.8	84.640	-342.240
3	43.8	-7.5	1918.4	56.250	-328.500
4	44.4	-7.9	1971.4	62.410	-350.760
5	44.9	-7.45	2016.0	55.503	-334.505
6	45.3	-9	2052.1	81.000	-407.700
7	48.3	-9.4	2332.9	88.360	-454.020
8	48.3	-10.7	2332.9	114.490	-516.810
9	50.6	-9.2	2560.4	84.640	-465.520
10	51.1	-9.5	2611.2	90.250	-485.450
11	51.1	-12.1	2611.2	146.410	-618.310
12	55	-10.8	3025.0	116.640	-594.000
13	57.5	-13	3306.3	169.000	-747.500
14	57.8	-12.6	3340.8	158.760	-728.280
15	59.1	-11.7	3492.8	136.890	-691.470
16	59.9	-10.9	3588.0	118.810	-652.910
17	62.8	-12.3	3943.8	151.290	-772.440
18	65.8	-14.4	4329.6	207.360	-947.520
19	78.8	-18.2	6209.4	331.240	-1434.160
suma	994.2	-201.0	54082.4	2280.0	-11037.8

MMC

SSE	SStotal-SSR	21.897
Sxy	$\sum XiYi - ((\sum xi)(\sum yi)/N)$	-522.872
Sxx	$\sum Xi^2 - ((\sum xi)^2/N)$	2059.557
y	$\sum yi/N$	-10.576
x	$\sum xi/N$	52.326
b	Sxy/Sxx	-0.254
a	$y-bx$	2.708
SStotal	$\sum Yi^2 - ((\sum yi)^2/N)$	154.642
SSR	$((Sxy)^2/Sxx)$	132.745
\hat{y}	$a + bx$	-7.873
x	41.7	
MSR	SSR	132.745
MSE	SSE/n-2	1.288
r	Sxy/\sqrt{SxxSyy}	-0.92649879

Ecuación 1

$$\Delta P = -0.254(P_i) + 2.708$$

Análisis de varianza para MMC

FUENTE	GL	SS	MS	F
REGRESION	1	132.745	132.745	103.056
ERROR	17	21.897	1.288	Fc
TOTAL	18	154.642		1.24E-08

Ho: $\beta = 0$ pendiente igual a cero

Ha: $\beta \neq 0$ pendiente diferente de cero

Cuando $F > F_c$ la hipótesis nula se rechaza y se acepta la hipótesis alternativa mostrando una pendiente diferente de cero. Esto se aplica para los casos siguientes.

Ecuación 2.

Datos para aplicar MMC

10 días					
	X	Y	X ²	Y ²	XY
	Pi	ΔP			
lote 1	32.4	-5.15	1048.7	26.52	-166.774
lote2	36.2	-6.05	1307.5	36.60	-218.768
lote3	41.1	-5.42	1689.2	29.34	-222.625
lote4	46.6	-6.78	2171.6	46.01	-316.103
lote5	51.4	-7.53	2642.0	56.70	-387.042
suma	207.6	-30.9	8859.0	195.2	-1311.3

MMC para 10 días

SSE	Sstotal-SSR	0.794
Sxy	$\sum XiYi - ((\sum xi)(\sum yi)/N)$	-26.831
Sxx	$\sum Xi^2 - ((\sum xi)^2/N)$	235.805
y	$\sum yi/N$	-6.186
x	$\sum xi/N$	41.529
b	Sxy/Sxx	-0.114
a	$y-bx$	-1.461
SStotal	$\sum Yi^2 - ((\sum yi)^2/N)$	3.847
SSR	$((Sxy)^2/Sxx)$	3.053
\hat{y}	$a + bx$	-6.203
x	41.68	
MSR	SSR	3.053
MSE	$SSE/n-2$	0.265
r	Sxy/\sqrt{SxxSyy}	0.8908557

Ecuación 2

$$\Delta P = -0.114 (Pi) - 1.461$$

Análisis de Varianza para MMC 10 días

FUENTE	GL	SS	MS	F
REGRESION	1	3.053	3.053	11.537
ERROR	3	0.794	0.265	Fc
TOTAL	4	3.847		0.0426

Ecuación 3

Datos para aplicar MMC 11 días

11 días					
	Pi	ΔP	$(Pi)^2$	$(\Delta P)^2$	$Pi * \Delta P$
lote 1	32.4	-5.550	1048.7	30.803	-179.728
lote2	36.2	-6.375	1307.5	40.641	-230.520
lote3	41.1	-6.025	1692.0	36.301	-247.828
lote4	46.6	-7.233	2171.6	52.321	-337.073
lote5	51.4	-8.500	2645.4	72.250	-437.183
suma	207.7	-33.7	8865.1	232.3	-1432.3

MMC para 11 días

SSE	Sstotal-SSR	0.779
Sxy	$\sum X_i Y_i - ((\sum X_i)(\sum Y_i)/N)$	-33.059
Sxx	$\sum X_i^2 - ((\sum X_i)^2/N)$	236.436
y	$\sum y_i/N$	-6.737
x	$\sum x_i/N$	41.542
b	S_{xy}/S_{xx}	-0.140
a	$y - bx$	-0.928
SStotal	$\sum Y_i^2 - ((\sum Y_i)^2/N)$	5.401
SSR	$((S_{xy})^2/S_{xx})$	4.623
\hat{y}	$a + bx$	-6.756
x	41.7	
MSR	SSR	4.623
MSE	$SSE/n-2$	0.260
r	$S_{xy}/\sqrt{S_{xx}S_{yy}}$	0.92508793

Ecuación 3

$$\Delta P = -0.140 (P_i) - 0.928$$

Análisis de Varianza para MMC 11 días

FUENTE	GL	SS	MS	F
REGRESION	1	4.623	4.623	17.803
ERROR	3	0.779	0.260	Fc
TOTAL	4	5.401		0.0243

En los tres casos la Hipótesis nula (**H₀**) es rechazada.



Anexo 6

Manejo de Datos para obtener RNP a partir de las diferentes ecuaciones



Fuente de P	Rata	Pi	Pf	DP	AI	PI	RNPexp	RNP teo (1)	RNP teo (2)	RNP teo (3)
Maiz	1	35.0	48.4	13.4	80.3	5.5	3.2	3.9	3.5	3.6
	2	37.3	47.6	10.3	64.0	4.4	3.4	4.1	3.7	3.9
	3	37.3	46.1	8.8	66.0	4.6	2.9	3.7	3.3	3.4
	4	45.0	56.3	11.3	81.2	5.6	2.8	3.4	3.1	3.2
	5	45.2	51.4	6.2	75.6	5.2	2.1	2.7	2.4	2.5
	6	49.2	56.2	7.0	70.5	4.9	2.4	3.1	2.7	2.8
Soya	1	35.4	57.4	22.0	71.9	6.3	4.3	4.8	4.5	4.6
	2	36.7	60.5	23.8	84.2	7.3	3.9	4.3	4.1	4.2
	3	39.8	67.6	27.8	95.1	8.3	3.9	4.3	4.1	4.2
	4	44.3	71.9	27.6	94.6	8.2	3.9	4.3	4.1	4.2
	5	45.2	73.4	28.2	95.5	8.3	3.9	4.4	4.1	4.2
	6	48.1	80.9	32.8	98.7	8.6	4.4	4.8	4.5	4.6
Caseína	1	35.6	79.4	43.8	92.9	10.2	4.7	5.1	4.9	4.9
	2	36.7	72.8	36.1	78.3	8.6	4.7	5.1	4.9	5.0
	3	40.2	70.7	30.5	82.5	9.1	3.9	4.2	4.0	4.1
	4	43.8	90.4	46.6	98.5	10.8	4.7	5.0	4.9	4.9
	5	45.3	88.7	43.4	101.9	11.2	4.3	4.6	4.4	4.5
	6	48.0	82.1	34.1	95.5	10.5	3.7	4.0	3.8	3.9
Leche	1	35.7	66.9	31.2	75.7	6.7	5.4	5.9	5.6	5.7
	2	36.5	67.9	31.4	79.9	7.0	5.1	5.6	5.3	5.4
	3	40.7	67.2	26.5	71.5	6.3	4.9	5.5	5.2	5.3
	4	43.5	79.7	36.2	90.0	7.9	5.2	5.6	5.4	5.4
	5	45.5	78.5	33.0	92.2	8.1	4.6	5.1	4.8	4.9
	6	48.0	85.6	37.6	98.3	8.7	4.9	5.3	5.1	5.1
Garbanzo	1	36.2	63.1	26.9	83.3	7.7	4.1	4.5	4.3	4.3
	2	36.5	71.7	35.2	88.7	8.2	4.8	5.2	5.0	5.1
	3	41.0	69.5	28.5	86.5	8.0	4.1	4.5	4.3	4.4
	4	43.3	70.9	27.6	91.2	8.5	3.8	4.2	4.0	4.1
	5	46.1	78.4	32.3	96.4	9.0	4.1	4.5	4.3	4.4
	6	47.9	73.6	25.7	94.8	8.8	3.4	3.8	3.6	3.7
Gelatina	1	36.4	33.5	-2.9	44.1	4.3	0.4	1.2	0.8	0.9
	2	36.5	32.7	-3.8	34.7	3.4	0.2	1.2	0.7	0.9
	3	41.4	37.3	-4.1	37.1	3.6	0.1	1.1	0.6	0.7
	4	42.3	40.4	-1.9	40.5	3.9	0.7	1.6	1.1	1.2
	5	46.5	40.5	-6.0	38.4	3.7	-0.4	0.5	0.1	0.2
	6	47.0	53.8	6.8	69.4	6.7	1.7	2.2	1.9	2.0
Huevo	1	36.4	69.3	32.9	89.4	9.7	3.9	4.2	4.0	4.1
	2	36.5	85.7	49.2	93.4	10.1	5.3	5.7	5.5	5.5
	3	41.6	95.5	53.9	100.6	10.9	5.4	5.7	5.5	5.6
	4	42.2	100.3	58.1	99.5	10.7	5.8	6.2	6.0	6.0
	5	46.7	92.2	45.5	98.3	10.6	4.7	5.0	4.9	4.9
	6	46.7	103.4	56.7	111.2	12.0	5.1	5.4	5.2	5.3

Anexo 7

PRUEBA de T de Student Pareada

En los diferentes casos las hipótesis empleadas fueron las siguientes con un intervalo de confianza (α) de 0.05 (95%).

Hipótesis aplicadas para las pruebas de t en las diferentes fuentes de proteína

Ho :	$(\mu_1 - \mu_2) = D_0 = 0$
Ha :	$(\mu_1 - \mu_2) \neq D_0$
SE RECHAZA Ho CUANDO	$t > t_{\alpha/2}$

Prueba t para medias de dos muestras pareadas		
	Ecuación 1	
	Variable 1	Variable 2
Media	3.67142857	4.14285714
Varianza	2.50571429	2.19285714
Observaciones	7	7
Coefficiente de correlación de Pearson	0.99673926	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	-	
	7.77817459	
P(T<=t) una cola	0.00011887	
Valor crítico de t (una cola)	1.94318027	
P(T<=t) dos colas	0.00023774	
Valor crítico de t (dos colas)	2.44691185	

Anexo 8

Prueba de T de Student para las diferentes fuentes de proteína

En los diferentes casos las hipótesis empleadas fueron las siguientes con un intervalo de confianza (α) de 0.05 (95%).

Hipótesis aplicadas para las pruebas de t en las diferentes fuentes de proteína

Ho :	$(\mu_1 - \mu_2) = D_0 = 0$
Ha :	$(\mu_1 - \mu_2) \neq D_0$
SE RECHAZA Ho CUANDO	$t > t_{\alpha/2}$

Fuente de Proteína Maíz

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales MAÍZ				
	ECUACION 2		ECUACION 3	
	Variable 1	Variable 2	Variable 1	Variable 2
Media	2.800	3.120	2.800	3.230
Varianza	0.248	0.257	0.248	0.260
Observaciones	6	6	6	6
Varianza agrupada	0.252		0.254	
Diferencia hipotética de las medias	0		0	
Grados de libertad	10		10	
Estadístico t	-1.104		-1.479	
P(T<=t) una cola	0.148		0.085	
Valor crítico de t (una cola)	1.812		1.812	
P(T<=t) dos colas	0.296		0.170	
Valor crítico de t (dos colas)	2.228		2.228	
H ₀	SE ACEPTA		SE ACEPTA	

Fuente de Proteína Soya

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales SOYA				
	ECUACION 2		ECUACION 3	
	Variable 1	Variable 2	Variable 1	Variable 2
Media	4.043	4.251	4.043	4.322
Varianza	0.042	0.046	0.042	0.047
Observaciones	6	6	6	6
Varianza agrupada	0.0439		0.0447	
Diferencia hipotética de las medias	0		0	
Grados de libertad	10		10	
Estadístico t	-1.712		-2.284	
P(T<=t) una cola	0.059		0.023	
Valor crítico de t (una cola)	1.812		1.812	
P(T<=t) dos colas	0.118		0.046	
Valor crítico de t (dos colas)	2.228		2.228	
H ₀	SE ACEPTA		SE RECHAZA	

Fuente de Proteína Caseína

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales CASEINA				
	ECUACION 2		ECUACION 3	
	Variable 1	Variable 2	Variable 1	Variable 2
Media	4.337	4.497	4.337	4.553
Varianza	0.222	0.223	0.222	0.224
Observaciones	6	6	6	6
Varianza agrupada	0.223		0.223	
Diferencia hipotética de las medias	0		0	
Grados de libertad	10		10	
Estadístico t	-0.589		-0.792	
P(T<=t) una cola	0.284		0.223	
Valor crítico de t (una cola)	1.812		1.812	
P(T<=t) dos colas	0.569		0.447	
Valor crítico de t (dos colas)	2.228		2.228	
H ₀	SE ACEPTA		SE ACEPTA	

Fuente de Proteína Leche Entera en Polvo

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales LECHE				
	ECUACION 2		ECUACION 3	
	Variable 1	Variable 2	Variable 1	Variable 2
Media	5.017	5.235	5.017	5.310
Varianza	0.065	0.073	0.065	0.076
Observaciones	6	6	6	6
Varianza agrupada	0.069		0.071	
Diferencia hipotética de las medias	0		0	
Grados de libertad	10		10	
Estadístico t	-1.436		-1.912	
P(T<=t) una cola	0.091		0.042	
Valor crítico de t (una cola)	1.812		1.812	
P(T<=t) dos colas	0.181		0.085	
Valor crítico de t (dos colas)	2.228		2.228	
H ₀	SE ACEPTA		SE ACEPTA	

Fuente de Proteína Garbanzo

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales GARBANZO				
	ECUACION 2		ECUACION 3	
	Variable 1	Variable 2	Variable 1	Variable 2
Media	4.059	4.251	4.059	4.317
Varianza	0.210	0.213	0.210	0.215
Observaciones	6	6	6	6
Varianza agrupada	0.212		0.212	
Diferencia hipotética de las medias	0		0	
Grados de libertad	10		10	
Estadístico t	-0.722		-0.969	
P(T<=t) una cola	0.243		0.178	
Valor crítico de t (una cola)	1.812		1.812	
P(T<=t) dos colas	0.487		0.355	
Valor crítico de t (dos colas)	2.228		2.228	
H ₀	SE ACEPTA		SE ACEPTA	

Fuente de Proteína Gelatina

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales GELATINA				
	ECUACION 2		ECUACION 3	
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	0.463	0.859	0.463	0.995
Varianza	0.486	0.392	0.486	0.362
Observaciones	6	6	6	6
Varianza agrupada	0.439		0.424	
Diferencia hipotética de las medias	0		0	
Grados de libertad	10		10	
Estadístico t	-1.034		-1.415	
P(T<=t) una cola	0.163		0.094	
Valor crítico de t (una cola)	1.812		1.812	
P(T<=t) dos colas	0.325		0.187	
Valor crítico de t (dos colas)	2.228		2.228	
H ₀	SE ACEPTA		SE ACEPTA	

Fuente de Proteína Huevo Entero en Polvo

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales HUEVO				
	ECUACION 2		ECUACION 3	
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	5.043	5.194	5.043	5.246
Varianza	0.456	0.449	0.456	0.446
Observaciones	6	6	6	6
Varianza agrupada	0.452		0.451	
Diferencia hipotética de las medias	0		0	
Grados de libertad	10		10	
Estadístico t	-0.389		-0.524	
P(T<=t) una cola	0.353		0.306	
Valor crítico de t (una cola)	1.812		1.812	
P(T<=t) dos colas	0.705		0.612	
Valor crítico de t (dos colas)	2.228		2.228	
H ₀	SE ACEPTA		SE ACEPTA	

Anexo 9

Análisis estadístico

Eliminación de valores anómalos

Es frecuente que cuando se realiza un experimento uno de los resultados obtenidos en una serie de medidas difiera del resto de manera inexplicable. A estas medidas se les denomina resultados anómalos.

Por lo tanto la media y la desviación estándar dependerán de que hayan sido rechazados o no los valores anómalos.

Una forma de estudiar esta medida sospechosa es comparar la diferencia entre ella y la medida más próxima en tamaño, con la diferencia entre las medidas más grande y más pequeña. El cociente de estas diferencias (prescindiendo del signo) se denomina **Q de Dixon**.

$$Q = \frac{|valor\ sospechoso - valor\ más\ cercano|}{(valor\ más\ grande - valor\ más\ pequeño)}$$

Los valores críticos de **Q** para $P = 0.05$ se muestran a continuación. Si el valor de **Q** calculado supera el valor crítico, se rechaza el valor sospechoso.

Tabla 16. Valores críticos de Q (P = 0.05)

Tamaño de muestra	Valor crítico
4	0.831
5	0.717
6	0.621
7	0.570
8	0.524
9	0.492
10	0.464

King, E. P., J. Am. Statist. Assoc; 1958, 48, 531, American Statistical Association.

En una situación ideal, se habría que tomar nuevas medidas cuando aparezca un valor sospechoso. Para un nivel de significación del 5% hay todavía un 5% de riesgo, o 1 de cada 20, de rechazar incorrectamente un valor sospechoso. (Miller, 1993)

Estadística Descriptiva

Promedio

Los promedios son una medida de posición que dan una descripción compacta de cómo están centrados los datos y una visualización más clara del nivel que alcanza la variable, pueden servir de base para medir o evaluar valores extremos o raros y brinda mayor facilidad para efectuar comparaciones.

El promedio como punto típico de los datos es el valor alrededor del cual se agrupan los demás valores de la variable. La media es una medida matemática, un número individual que representa razonablemente el comportamiento de todos los datos. (Miller, 1973)

Más formalmente, si denotamos por (X_1, X_2, \dots, X_n) los n datos que tenemos recogidos de la variable en cuestión, el valor medio vendrá dado por:

$$Media(X) = \frac{\sum_{j=1}^n X_j}{n}$$

Desviación estándar

Otro de los parámetros a calcular es la **desviación estándar**, la cual es útil para describir cuanto se apartan de la media de la distribución los elementos individuales. Una medida de ello se denomina puntuación estándar, número de desviaciones a las que determinada observación se encuentra con respecto a la media. Es la medida de dispersión más utilizada en estadística.

Aunque esta fórmula de la desviación típica muestral es correcta, en la práctica, la estadística nos interesa para realizar inferencias poblacionales, por lo que en el denominador se utiliza, en lugar de n , el valor $n-1$. (Miller, 1973)

$$S_X = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (X_j - Media(X))^2}{n-1}}$$

Rango

El rango mide la dispersión de la totalidad de los datos. Es la más obvia de las medidas ya que es la distancia entre los valores máximo y mínimo.

El **rango** o recorrido da alguna idea del grado de variación que ocurre en la población, pero con frecuencia los resultados pueden ser engañosos, pues este depende de los valores extremos e ignora la variación de las demás observaciones. El rango es afectado por ocurrencias raras o extraordinarias. (Miller, 1973)

Correlación y Regresión lineal

Correlación

Para la segunda parte del experimento estadístico se hará uso de la correlación que es una medida sobre el grado de relación entre dos variables, sin importar cuál es la causa y cuál es el efecto. La dependencia de la que se habla en este sentido es la dependencia entre la varianza de las variables.

El manejo de unidades adimensionales nos permiten tener un coeficiente sobre el que de forma cómoda se pueda trabajar, por lo que podemos dividir entre el producto de las desviaciones de las variables, es decir:

$$r = \frac{S_{xy}}{n(S_x S_y)}$$

Los valores para este coeficiente están comprendidos entre -1 y 1.

Entre más se aproxima a los valores 1 y -1 la aproximación a una correlación se considera buena. Cuando más se aleja de 1 o de -1 y se acerca a cero se tiene menos confianza en la dependencia lineal, sin embargo no significa que no existe dependencia, lo único que se puede decir es que la dependencia no es lineal. Un valor positivo para r indica que a medida que una variable crece la otra también lo hace, por el contrario si su valor es negativo, lo que se puede decir es que a medida que una variable crece la otra decrece.

Una vez que se determina que existe dependencia lineal un aspecto sumamente relevante es el investigar las características del modelo matemático que relaciona una variable con otra, así de esta forma, una variable puede clasificarse como: determinístico y probabilístico.

La correlación que es una medida sobre el grado de relación entre dos variables, sin importar cuál es la causa y cuál es el efecto. La dependencia de la que se habla en este sentido es la dependencia entre la varianza de las variables.

Precisamente para realizar este análisis estadístico, se requiere de personal especializado en el manejo de la información en cuestión, con el fin de no encontrar relaciones absurdas e ilógicas. (Mendenhall, 2002)

Significatividad de la Correlación

Cuando se calcula el coeficiente de correlación es necesario determinar si la relación que se encontró es real o es producto del azar, por ello se plantea la siguiente hipótesis nula la cual corresponde a que el coeficiente de correlación es igual a cero y para comprobar esto se procede a una prueba de t de significatividad (Miller, 1993). Donde t es:

$$t = r \frac{\sqrt{N - 2}}{\sqrt{1 - r^2}}$$

N = Número de pareja de datos tomados en consideración

r = coeficiente de correlación

El resultado de esta prueba debe de ser comparado con la t de distribución de Student en donde un valor mayor al obtenido rechazará la hipótesis nula y por lo tanto la correlación será estadísticamente significativa. (Tevni, 2000)

Regresión lineal

En aquellos casos en que el coeficiente de regresión lineal sea “cercano” a +1 o a -1, tiene sentido considerar la ecuación de la recta que “mejor se ajuste” a la nube de puntos (recta de mínimos cuadrados). Uno de los principales usos de dicha recta será el de predecir o estimar los valores de Y que obtendríamos para distintos valores de X. Estos conceptos quedarán representados en lo que llamamos **diagrama de dispersión**.

El análisis de regresión lineal es una técnica estadística utilizada para estudiar la relación entre variables. Se adapta a una amplia variedad de situaciones. En la investigación social, el análisis de regresión se utiliza para predecir un amplio rango de fenómenos, desde medidas económicas hasta diferentes aspectos del comportamiento humano.

Tanto en el caso de dos variables (regresión simple) como en el de más de dos variables (regresión múltiple), el análisis de regresión lineal puede utilizarse para explorar y cuantificar la relación entre una variable llamada dependiente o criterio (y) y una o más variables llamadas independientes o predictoras (x_1, x_2, \dots, x_n), así como para desarrollar una ecuación lineal con fines predictivos. Además, el análisis de regresión lleva asociados una serie de procedimientos de diagnóstico que informan sobre la estabilidad e idoneidad del análisis y que proporcionan pistas sobre como perfeccionarlo.

Un diagrama de dispersión puede utilizarse como una forma de cuantificar el grado de relación lineal existente entre dos variables: basta con observar el grado en el que la nube de puntos se ajusta a una línea recta. Pero así también tiene un inconveniente, el que la relación entre dos variables no siempre es perfecta o nula; de hecho, habitualmente no es ni lo uno ni lo otro.

Se ha enfatizado sobre la importancia de las representaciones gráficas y se ha visto la utilidad de las versiones linealizadas de los gráficos (X, Y) junto a las distintas maneras de llevar a cabo la linealización. A menudo nos confrontamos con situaciones en las que existe o suponemos que existe una relación lineal entre las variables X e Y . Cuando la relación entre las variables X e Y es lineal, el método de ajuste por cuadrados mínimos se denomina también *método de regresión lineal*.

La **Fig. 1** ilustra el caso lineal. La dispersión de los valores está asociada a la fluctuación de los valores de cada variable. Se observa una tendencia lineal entre las variables y nos preguntamos sobre cuál es la *mejor recta*: $Y(x) = a x + b$ Ec. (1) que representa este caso de interés. (Mendenhall, 2002)

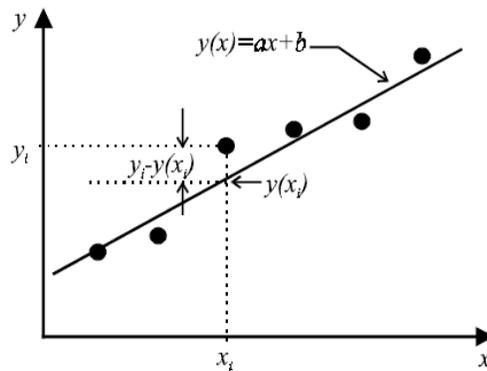


Figura 1 Gráfico de datos asociados a un modelo lineal. La cantidad $y_i - y(x_i)$ representa la desviación de cada observación de y_i respecto del valor predicho por el modelo $y(x)$.

Método Mínimos Cuadrados (Mendenhall, 2002)

Para minimizar las distancias de los puntos a la recta ajustada, se hace uso del principio de mínimos cuadrados:

La recta que minimiza la suma de los cuadrados de las desviaciones de los valores observados de y respecto a los valores predichos es la recta del mejor ajuste. La suma de las desviaciones cuadradas se llama comúnmente suma de cuadrados del error (SSE) y se define como;

$$SSE = \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 = \sum (y_i - a - bx_i)^2$$

Para encontrar los valores de a y b , las estimaciones de a y b , se utiliza el cálculo diferencial; en lugar de deducir sus valores, se limitara a presentar las fórmulas para calcular estos valores, denominados estimadores de mínimos cuadrados de a y b .

$$b = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} \quad a = \bar{y} - b\bar{x}$$

Donde las cantidades S_{xy} y S_{xx} están definidas como

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \sum x_i y_i - \frac{(\sum x_i)(\sum y_i)}{n}$$

Y

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}$$

Para calcular \bar{y} y \bar{x} se utilizan las siguientes formulas:

$$\bar{y} = \frac{\sum y_i}{n} \quad \bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Con esto se puede llegar a la ecuación de la recta, pues se tienen los parámetros correspondientes y así obtener la ecuación siguiente:

$$\hat{y} = a + bx$$

Análisis de Varianza para la regresión lineal (Mendenhall, 2002)

En un análisis de regresión, la respuesta y se relaciona con la variable independiente x . En consecuencia, la variación total en la variable de respuesta y , dada por:

$$SS_{total} = S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{n}$$

Se divide en dos partes:

- **SSR** (Suma de Cuadrados para la Regresión) mide la cantidad de variación explicada mediante la recta de regresión con una variable independiente x
- **SSE** (Suma de Cuadrados para el Error) mide la variación “residual” en los datos que no es explicada por la variable independiente x

De modo que

$$SS_{total} = SSR + SSE$$

En donde SSR y SSE se definen como:

$$SSR = \frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}$$

$$SSE = SS_{total} - SSR = S_{yy} - \frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}$$

A continuación se muestra la tabla de análisis de varianza:

Fuente	Gl	SS	MS
Regresión	1	$\frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}$	MSR
Error	n-2	$S_{yy} - \frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}$	MSE
Total	n-1	S_{yy}	

Un análisis de varianza divide la variación total de las mediciones de respuesta en partes que se podrían atribuir a distintos factores de interés para el investigador.

Mediante el análisis de varianza se pueden comparar dos medias, más de dos medias poblacionales y determinar los efectos de diversos factores en diseños experimentales más complejos. Se apoya en la estadística con distribuciones muestrales que se modelan mediante la distribución F. La prueba F es una demostración más general de la utilidad del modelo y se puede usar cuando éste tiene más de una variable independiente. (Mendenhall, 2002)

Comparación de medias

Cuando se desea comparar si los valores de una característica que es posible cuantificar difieren al agruparlas en dos o más grupos se hablará de comparación de medias.

En donde se abarca la comparación de los valores de una variable continua según los valores de una variable que se puede resumir en dos o más categorías y que se englobará dentro de las pruebas para datos independientes, así como la comparación de los valores de una variable continua evaluada en dos o más momentos en el tiempo y que se englobara dentro de las pruebas para datos apareados.

Existen pruebas estadísticas que permiten comparar las medias de una variable continua entre dos o más grupos.

La decisión de cuando aplicar una prueba paramétrica o no paramétrica depende de las características inherentes a la variable que se analizará.

En este caso debe ser utilizada una prueba paramétrica y por lo tanto debe de cumplir ciertos supuestos:

- Normalidad en la distribución de la variable
- Homocedasticidad
- Independencia de las observaciones

La prueba de t de Student es utilizada cuando se desea comparar única y exclusivamente las medias entre dos grupos. (Mendenhall, 2002)

Prueba t Student. Valores independientes.

En la prueba de Student, el estadístico de contraste utilizado para probar la hipótesis nula planteada se construye en función de las diferencias registradas entre los valores de la variable de estudio evaluada en cada uno de los grupos a comparar. Se utiliza la información procedente de las medias y desviación estándar de cada uno de los grupos de estudio. (Mendenhall, 2002)

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\sqrt{\frac{(n-1)S_1^2 + (m-1)S_2^2}{n+m-2}} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m}}}$$

Prueba t Student. Datos apareados.

La base de las pruebas para la comparación de medias apareadas consiste en analizar las diferencias entre las observaciones de un mismo individuo. Suponiendo que la variable aleatoria que define la diferencia entre dos observaciones registradas en un mismo individuo (modelo antes-después) fuera una variable aleatoria que se distribuyera normalmente, y se quiere contrastar la hipótesis de que se produjo un efecto entre ambas observaciones. (Mendenhall, 2002)

$$t = \frac{\bar{d}}{\hat{S}_d} \sqrt{n}$$

Donde:

- 1) \bar{d} : media muestral de la diferencia entre las observaciones "pre" y "post"
- 2) n : tamaño de la muestra
- 3) \hat{S}_d : desviación estándar muestral de las diferencias
- 4) t_{n-1} : ley de probabilidad de la t de Student con $n-1$ grados de libertad