

300627
LIBRERIA DE LA VIDA



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U. N. A. M.

28
25

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**"VALOR ENERGETICO DE DIVERSOS ALIMENTOS
DETERMINADO POR MEDIO DE UNA BOMBA
CALORIMETRICA Y METODOS BIOLÓGICOS"**

T E S I S P R O F E S I O N A L
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MA. GUILLERMINA MOLINAR MANCILLA

MEXICO. D. F.

1 9 8 8



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.

INDICE

Capítulo I		
Introducción	-----	1
Capítulo II		
Objetivo	-----	3
Capítulo III		
Generalidades		
3.1 Antecedentes	-----	4
3.2 Importancia de los Requerimientos Calóricos	-----	13
3.3 Controversia entre Joule y Caloría	-----	27
3.4 Importancia de las pruebas Biológicas	-----	31
Capítulo IV		
Parte experimental		
4.1 Material	-----	36
4.2 Métodos	-----	37
4.2.1 Procedimiento a seguir para utilizar la Bomba Calorimétrica	-----	37
4.2.2 Análisis Bromatológico	-----	42
4.2.3 Relación de Eficiencia de Proteína	-----	43
4.2.4 Determinación del Porcentaje de Eficiencia Calórica para el Crecimiento (%EGC)	-----	46
4.3 Procedimiento seguido con las muestras	---	47
4.3.1 Bomba Calorimétrica	-----	47
4.3.2 Análisis Bromatológico	-----	47
4.3.3 Relación de Eficiencia de Proteína	-	48
4.3.4 Porcentaje de Eficiencia Calórica para el Crecimiento	-----	49
Capítulo V		
Resultados y Discusión		
5.1 Bomba Calorimétrica	-----	50
5.2 Análisis Bromatológico	-----	55
5.3 Relación de Eficiencia de Proteína	-----	56
5.4 Porcentaje de Eficiencia Calórica para el Crecimiento	-----	65

Capitulo VI		pages.
Conclusiones	-----	71
Capitulo VII		
Bibliografia	-----	73

C A P I T U L O I

I. INTRODUCCION.

Desde hace mucho tiempo se sabe que los humanos obtienen su energía de los alimentos, ya que al consumirlos se manifiesta una actividad normal del organismo. Actualmente, es un problema la suficiente disponibilidad de alimentos que nos proporcionen la energía que se requiere, con el fin de llevar a cabo las actividades involuntarias y voluntarias del cuerpo. La prioridad nutricional más importante es contar con suficiente alimento para cubrir las necesidades energéticas. Cuando el suministro de calorías se reduce en forma moderada, también disminuye la capacidad de efectuar trabajo y en los niños se retarda o cesa el crecimiento. A medida que la energía disponible al organismo sigue disminuyendo, se utilizará la propia sustancia de este, agotando finalmente el total de la masa corporal que puede ser sacrificada y sobreviniendo la muerte. (8)

Es por esto que los requerimientos calóricos son tan importantes como los requerimientos proteínicos. Aunque estos últimos sean los que determinan el crecimiento y la regeneración de tejidos; los requerimientos calóricos deben ser llenados, para que incluso no se presente un desperdicio de material proteico.

El estudio de los requerimientos calóricos ha sido tan importante desde sus inicios (aproximadamente 200 años atrás) que desde entonces se procuró expresarlos en términos cuantitativos.

Cada alimento tiene un coeficiente específico de digestibilidad y, por lo tanto, el valor de combustión será específico para cada alimento dado. Lo anterior se traduce en que cada alimento al degradarse dentro del organismo libera cierta cantidad de energía, la cual se vé modificada por el proceso que haya sufrido dicho alimento. Es por ésta razón que es importante el uso de la Bomba Calorimétrica, ya que con ella, nosotros podemos conocer con certeza la cantidad de energía liberada por cierto alimento.

Como se mencionó antes, el valor energético o liberación de energía de un alimento dentro del organismo, puede ser medido con exactitud por medio de una Bomba Calorimétrica, ya que dentro de ella se realiza la combustión total del alimento. Debido a esto se puede eliminar el error tan considerable que se introduce al utilizar los valores de combustión promedio propuestos por Atwater o Lusk, al balancear una dieta. (7)

CAPITULO II

III OBJETIVO.

Instalación y utilización de la Bomba Calorimétrica, con el fin de determinar el valor energético experimental de diversos alimentos, comparándolos con los valores de la literatura, para poder determinar la confiabilidad del aparato.

Observer en una proteína de referencia (caseína), el efecto que tiene la densidad calórica de la dieta, con respecto al crecimiento en una especie animal de laboratorio (rata).

C A P I T U L O

III

III. GENERALIDADES.

3.1 ANTECEDENTES.

La historia de la calorimetría data aproximadamente de unos -- 200 años atrás.

Los efectos de medición en los que se basa la Calorimetría son efectos que surgen de una diferente naturaleza; es decir un -- efecto que se produce. Algunos de estos efectos son cambios de temperatura del medio ambiente o un flujo de calor (gradiente de temperatura; diferencia de temperatura entre la prueba y el medio que la rodea).

Hay diferentes calorímetros y estos se clasifican según el -- principio en que se basan; así tenemos calorímetros por:

- 1.- Compensación de calor, que se requiere medir un -- efecto termoléctrico.
- 2.- Compensación de calor, que se requiere medir mediante un cambio de estado.
- 3.- Medición de un incremento de temperatura temporal.
- 4.- Medición de un incremento de temperatura local.

Los más antiguos son los calorímetros por compensación de calor, los cuales se basan en un cambio de estado. Estos surgieron en 1780 con J. Black; el cual desarrolló un método de medición del calor que se basaba en el calor latente.

En 1780 Lavoisier Y Laplace describieron en la academia de Ciencias de París un calorímetro de hielo, (el más antiguo) en donde expresaban la cantidad de calor como la cantidad de hielo derretido. (14)

En 1910 se unaron por primera vez los calorímetros por compensación de calor mediante un efecto termoeléctrico. Estos calorímetros estaban basados en el calor endotérmico.

Los calorímetros con medición de un incremento de temperatura temporal se basan en un equilibrio de temperatura y haciendo un balance de temperatura se puede definir el calor que contiene la sustancia a medir. Un ejemplo de estos es el clásico calorímetro de mezcla.

En los calorímetros por medición de una diferencia de temperatura local se produce un flujo de calor que se mide por diferencia de temperatura.

Así, a lo largo de todo este tiempo, los diferentes calorímetros se han utilizado en propósitos diferentes, y esto es debido al principio en que cada uno está basado. Por ejemplo, los calorímetros de mezcla son útiles para metales y Joule los utilizaba para definir el Calor Específico (Ce); los calorímetros por medición de una diferencia de temperatura local se han utilizado para definir el Calor Específico de gases.

La Bomba Calorimétrica utilizada actualmente para determinar el contenido energético de los alimentos, pertenece al grupo de los "Calorímetros con medición de un incremento de temperatura temporal". Su origen se encuentra con Berthelot (1)(14); científico francés al que se le considera el Padre de la Termoquímica. Las mediciones termoquímicas de Berthelot estaban basadas en un medio experimental, el consistía en quemar la sustancia dentro de un recipiente herméticamente cerrado en presencia de un exceso de oxígeno, para garantizar una incineración total. Esto es la Bomba Calorimétrica.

Su inventor fue J. Priestley, pero quien la utilizó fue Berthelot (1881). (1)

Para que haya sido posible la invención de la Bomba Calorimétrica, tuvo que haber habido una investigación y estudios anteriores sobre el metabolismo energético del ser humano, ya que éste al ingerir sus alimentos obtenía energía para desempeñar sus diferentes funciones, así como un estudio para establecer la cantidad de energía que debía ingerir para cubrir sus necesidades energéticas y llevar una vida saludable.

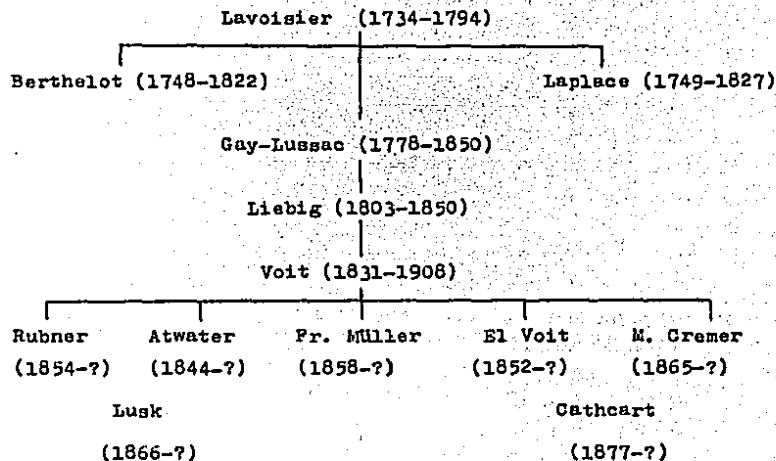
Desde el siglo XVI, gran cantidad de científicos han venido estudiando el metabolismo energético, poniendo a la Calorimetría como la base de la Ciencia de la Nutrición.

Así tenemos que el más antiguo de esta genealogía (fig. 1) es

Antoine Eaurant Lavoisier (1734-1794), fundador de la Química moderna, quién anticipó que sus sucesores establecerían que el calor del cuerpo humano podía ser medido por medio de métodos confiables. (12)

En la última parte del siglo XVIII, Lavoisier apreció el significado que tenían los gases oxígeno y bióxido de carbono y demostró la importancia de la respiración con relación a la utilización de los alimentos para la obtención de energía. (13)

Figura # 1



A Lavoisier le siguen en línea descendiente Calude Louis ----- Berthelot y Pierre Símos Laplace, siendo Berthelot el primero en abrir camino para la determinación del contenido energético de los alimentos por medio de la Bomba Calorimétrica (anteriormente explicada) y Laplace el primero en sugerir el uso de la estadística en investigaciones médicas y biológicas.

El siguiente en la línea es Joseph Louis Gay-Lussac, quien introdujo la Bioquímica a Alemania; posteriormente sigue Liebig, quien fue el primero en realizar análisis, con un alto grado de precisión, de alimentos y demostró claramente que sus principales constituyentes podían ser clasificados en 3 categorías:

Carbohidratos, grasas y proteínas.

Muchas de sus contribuciones fueron demostradas por su alumno Carl von Voit, como la que el calor del cuerpo humano era resultado de la combustión de los alimentos y que podía ser medido por el análisis del aire expirado y la excreta de nitrógeno.

Carl von Voit se convirtió en el gran maestro de muchos alumnos quienes como él, llegaron a ser gigantes en el campo del Metabolismo. Entre algunos de estos se encuentran Max Rubner, --- Wilbur Atwater, Friedrich Müller. También figura entre ellos Erwin von Voit, hermano de Carl von Voit, al cuál se dió a conocer por sus estudios de inanición.

P. W. Bidder y C. Schmidt fueron los primeros en formular el concepto de Metabolismo basal y reconocieron el cociente respiratorio CO_2/O_2 y el efecto que tenían sobre éste los diferentes alimentos.

Fue Rubner el primero en analizar sistemáticamente el valor calórico de los alimentos comunes y proponer tales equivalencias calóricas para carbohidratos, grasas y proteínas.

Los estándares de Rubner fueron utilizados tanto en la primera como en la segunda guerra mundial para calcular los requerimientos alimenticios.

Wilbur Atwater junto con A.P. Byrunt desarrolló y publicó unas tablas que contenían la composición química de los alimentos americanos. (12)

Estas tablas con revisiones subsecuentes, han sido en general usadas desde entonces. Atwater empezó a trabajar sobre un calorímetro para la medición directa del calor producido por los humanos. Posteriormente se desarrollaron otros calorímetros orientados hacia la misma dirección que el de Atwater. Pero no muy tarde surgió la necesidad de ampliar su campo de aplicación. Esto se logró rápidamente debido a la necesidad que empezó a surgir por los requerimientos alimenticios de poblaciones sujetas a limitaciones de alimentos ya fuese por la guerra y otras causas.

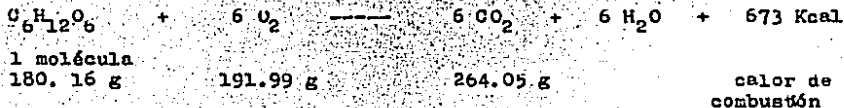
Así fue como se empezó a desarrollar la Calorimetría indirecta que a diferencia de la Calorimetría directa (que se basa en métodos físicos para la medición de emisión del calor, como radiación, conducción, convección) se basa en la medición de los cambios químicos que ocurren cuando los diferentes nutrientes son catabolizados o almacenados en el organismo. Los métodos de Calorimetría indirecta pueden ser catalogados como aquellos en los cuales la retención de energía es medida indirectamente por deducción de la energía perdida, ya sea en heces, orina, gases de combustión y producción de calor; de la energía obtenida por el consumo de la dieta.

La Calorimetría indirecta está basada en la teoría de Combustión y Metabolismo de Lavoisier, la cual dice que tanto el fuego como los animales producen la misma cantidad de calor por unidad de CO_2 producida. A pesar de que sistemas intrínsecos están envueltos en el metabolismo intermedio y la oxidación de los nutrientes alimenticios en el organismo, el consumo de oxígeno, la producción de CO_2 y el calor son las mismas, considerando que los nutrientes alimenticios fuesen incinerados directamente.

La Calorimetría indirecta está basada, primeramente en el hecho de que bajo las mismas circunstancias, la producción de calor está estrechamente correlacionada con el consumo de O_2 y producción de CO_2 cuando los compuestos orgánicos son oxidados. Las cantidades de O_2 utilizado y CO_2 y calor producidos en el me-

metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas pueden variar - debido al diferente contenido de carbono y oxígeno de cada uno de las 3 clases de nutrientes.

De ésta manera, la oxidación de la glucosa dentro del organismo o en una bomba calorimétrica es igual, es decir:



Los carbohidratos guardan una relación de 1 a 1, es decir que por cada molécula de O_2 consumida es producida una molécula de CO_2 . Esta relación es igual para todos los carbohidratos.

Uno de los principales aspectos que deben tomarse en cuenta -- dentro de la Calorimetría es la oxidación incompleta que se presenta en algunos organismos como son los animales herbívoros como cabras, ovejas y otros ruminantes. Y esto es debido a que cantidades considerables de gas combustible son formadas dentro del tracto digestivo como resultado de una fermentación -- producida por microorganismos anaerobios; la mayor parte de éste gas es metano. De ésta manera el CO_2 producido por el metabolismo bacteriano no se puede distinguir del CO_2 producido en el organismo por los procesos oxidativos.

Después de varios estudios realizados con ruminantes, Srouwer

(1965) elaboró unas tablas, con valores promedio, en las cuales se podían basar para determinar el calor producido por los nutrientes tomando en cuenta el porcentaje de carbono en su composición, la cantidad de O_2 consumido y la cantidad de CO_2 producido, así tenemos: (15)

Constantes para proteínas, grasas y carbohidratos, cuando son oxidados dentro del organismo de un rumiante. (15)

Compuesto	Carbono (%)	Consumo de: O_2/g (lts.)	Producción de: CO_2/g (lts.)	Calor producido (Kcal)
Proteína	52.00	0.957	0.774	4.40
Grasa	76.70	2.013	1.431	9.50
Almidón	44.45	0.829	0.829	4.20
Sacarosa	42.11	0.786	0.786	3.96
Glucosa	40.00	0.746	0.746	3.74

Uno de los avances experimentales de la termoquímica más recientes es la llamada Bomba Calorimétrica Moderna, sin lugar a duda la invención de Berthelot de la Bomba Calorimétrica desarrolló los procedimientos más importantes para la calorimetría de reacciones químicas e hizo posible la investigación termo-

Química de gran número de compuestos que contienen C, H, O y N; pero realizar mediciones en una bomba estática (como la de Berthelot) de compuestos que contienen halógenos, sulfuros y otros elementos, resulta imposible.

Uno de los pasos importantes fue el uso de la Bomba rotatoria en Calorimetría de combustión por Popoff y Schirokick. La Bomba rotatoria tiene una utilización significativa cuando se requiere obtener un estado termodinámico en particular. (2)

3.2. IMPORTANCIA DE LOS REQUERIMIENTOS CALORICOS.

La prioridad nutricional mas importante es contar con suficiente alimento para llenar las necesidades energéticas. La energía que proporcionan los alimentos al hombre es el resultado de una larga transformación, la cual empieza con el sol. El sol es la fuente original de toda la energía, que se forma a partir de reacciones nucleares. A través de la acción de la clorofila con la luz solar, mediante el proceso conocido como fotosíntesis, las plantas sintetizan carbohidratos a partir del CO_2 y del agua. Los carbohidratos almacenados por las plantas están disponibles en forma de energía para los animales y para el hombre. Toda la energía del hombre se deriva de los alimentos vegetales y animales que ingiere. Los carbohidratos, grasas y proteínas son las sustancias que liberan energía. En una dieta típica americana los carbohidratos proporcionan del 45 al 55% de las calorías, las grasas del 35 al 45% y las pro-

teínas aproximadamente el 15%. (8)

Por fortuna estas sustancias existen en abundancia en la naturaleza, habitualmente formando parte de compuestos complejos - producidos por otros organismos.

El hombre utiliza estos organismos, parte de ellos o sus secreciones, como alimentos; los ingiere y los digiere, asimila las sustancias útiles que quedaron libres y las quema con el oxígeno que obtiene del aire que respira. La energía desprendida de esta combustión, es utilizada para mantener las diversas funciones del cuerpo.

Los carbohidratos más importantes son el almidón y la sacarosa y en segundo término, la lactosa y el glucógeno. Estos son conocidos popularmente como harinas y azúcares. Los alimentos - que suministran más almidón son las semillas de los cereales - (maíz, trigo, arroz, avena, sorgo, centeno, etc.) y los tubérculos (yuca, papa, camote, etc.) Es por esto que estos alimentos tienen un lugar tan importante en la dieta humana. Así, - las grandes culturas florecieron en torno a alguno de estos dos alimentos; en Mesoamérica la base fue el maíz, para los orientales el arroz y para los europeos el trigo.

Las proteínas, por su parte (compuestas de aminoácidos) tienen también un importante aporte energético.

Los lípidos, además de su aporte energético y de servir como vehículo a las vitaminas liposolubles, suelen mejorar el sabor de los alimentos, al igual que se aroma. Por eso son aislados de sus fuentes originales para utilizarlos en la preparación de platillos.

La dieta diaria debe aportar una cantidad de energía exactamente igual a la que gastamos durante las 24 horas del día. La proporción de la energía aportada por los carbohidratos, los lípidos y las proteínas es variable en las dietas de las diferentes culturas y estratos socio-económicos. Se ha considerado como adecuado que los carbohidratos aporten del 50 al 60% de la energía, los lípidos del 25 al 35% y las proteínas del 10 al 15%. Estas proporciones de ninguna manera son fijas y existe una amplia variedad de combinaciones alrededor de estas cifras.

Surge así el concepto de " DENSIDAD CALORICA" o " DENSIDAD -- ENERGETICA " de la dieta, a la que cada vez se le reconoce mayor importancia; Densidad Energética sería la cantidad de Kilo calorías aportadas por gramo de dieta, en la que existen los 3 tipos de sustancias ya mencionadas.

Si ingerimos mayor cantidad de energía de la que necesitamos - el excedente queda acumulado en forma de tejido adiposo y a la larga se genera obesidad. Si ingerimos menos, el organismo empieza a echar mano de sus propias reservas hasta que, a la lar

ga aparece la desnutrición.

El gasto de energía tiene 2 grandes componentes:

- 1.- El gasto interno, es decir, el que se dedica a man
tener el funcionamiento del organismo. (Metabolismo
basal).
- 2.- El gasto externo, es decir, el que se hace en acti-
vidad física.

La vida implica un continuo flujo de energía del medio ambien-
te hacia el interior del organismo, que se transforma en calor
y en actividad física y se traduce en una serie de funciones.
La falta de suministro de energía es incompatible con la vida,
porque un objetivo central y prioritario de la alimentación -
es asegurar dicho suministro, pero en forma equilibrada y nunca
en exceso. (11)

Muchos trabajos fueron dedicados al estudio de las calorías, o
más correctamente, al metabolismo energético. Alrededor de los
años '30 y '40s, algunos investigadores trabajaron sobre los
requerimientos energéticos del hombre bajo diversas condicio-
nes. Cinco o seis áreas han sido investigadas en relación a
los requerimientos energéticos del hombre.

El metabolismo basal, el cual cuenta con grandes cantidades de
gasto de energía ha sido usualmente relacionado con la super-
ficie corporal. Muchos artículos han sido publicados intentan-
do establecer los valores normales del metabolismo basal.

Cuando la velocidad del metabolismo basal es expresada en términos del área superficial o de cualquier otra forma dentro -- de la que consideren el tamaño total, hay una pequeña variación entre individuos del mismo sexo y edad. En los últimos años, han sido dadas mas consideraciones a aquellos factores que tienden a modificar la velocidad del metabolismo basal. Y ha sido establecido que la velocidad del metabolismo basal se ve disminuída con la edad; y se vé incrementada durante el embarazo. El incremento de la velocidad del metabolismo durante el embarazo es aproximadamente de un 20% en comparación con la encontrada antes del embarazo.

Estudios realizados sobre los efectos producidos por la inanición han demostrado que hay una reducción en la velocidad del metabolismo basal después de dos o tres semanas de inanición o de una severa restricción calórica. A. Keys y sus colaboradores indicaron que una larga etapa de inanición puede resultar en la reducción del metabolismo basal hasta de un 50%. Esta -reducción parece ser una adaptación, la cual permite al cuerpo conservar su energía. (9)

A lo largo del desarrollo de la Calorimetría han sido propuestos muchos diferentes estándares o escalas de requerimientos calóricos, tanto por fisiólogos individuales como por comites. Durante la formulación de algunos de éstos, se han realizado -intentos para calcular el gasto de energía diario de individuos típicos, sumando el gasto de energía diario durante muchas ho-

ras de sueño, trabajo y recreación. Pero mas frecuentemente - han sido las observaciones hechas sobre el consumo de alimento actual, las cuales han formado la principal base de las escalas calóricas, siendo tomado en cuenta que la cantidad de alimento consumido por gente saludable, viviendo una vida normal representa sus requerimientos. Y para el establecimiento de los -- estandares han sido considerados algunos gastos de energía, así como algunas observaciones hechas sobre el consumo de alimentos.

Los estándares de los requerimientos calóricos tienen su origen a finales del siglo XIX. Estos los encontramos con Voit (1880), Atwater (1895), Lusk (los cuales fueron adoptados por la Comisión Científica Inter-Aliada en 1918), la Asociación de Naciones (1935), y el Consejo de Investigación Nacional de los E.U.A., que los publicó en 1943 y más tarde los revisó en 1953. Aparte de estos, otras tallas de requerimientos calóricos han sido elaboradas por grupos técnicos en varios países para el uso nacional. De acuerdo con Voit, Un obrero con un trabajo ordinario en Alemania requiere 3055 Kilocalorías diarias obtenidas de sus alimentos. Basándonos en los estándares de Atwater 3500 Kilocalorías fueron asignadas a un adulto hombre que haya desempeñado 10 horas de trabajo moderado por día. En la escala de Lusk, los requerimientos para un adulto hombre el cual -- hubiera tenido 8 horas de trabajo moderado son de 3300 Kilocalorías gruesas, las cuales corresponden a 3000 netas, tomando en cuenta la pérdida que se obtiene a través de la excreta.

La Asociación de Naciones establece 2400 Kilocalorías netas -- por día para los requerimientos de un adulto, ya sea hombre o mujer, viviendo ordinariamente en un clima templado y sin elaborar ningún trabajo manual. Para un adulto que desarrolle 8 horas de trabajo moderado, los requerimientos establecidos fueron de 3000 Kilocalorías netas. Los requerimientos de los niños fueron expresados en términos de la escala de coeficientes representando fracciones de los requerimientos de los adultos.

En la escala del Consejo de Investigación Nacional de los --- E.U.A. fueron recomendadas 3000 Kilocalorías para un hombre de 70 kg con una actividad física. Pero también se hicieron recomendaciones para personas con diferentes grados de actividad por ejemplo, para una persona sedentaria fueron establecidas 2400 Kilocalorías como requerimientos y para aquellas que desempeñan trabajos pesados 4500 Kilocalorías. La escala también establecía requerimientos para mujeres y niños de diferentes edades y sexo.

Estas escalas están basadas en datos obtenidos en el estudio de individuos y poblaciones en el Oeste de los E.U.A. Relativamente han sido pocas las escalas formuladas para poblaciones diferentes a la del oeste de E.U.A. y las cuales están basadas en observaciones e investigaciones locales. Entre dichas escalas puede ser mencionado aquella sugerida por la Asociación de Naciones Intergubernamentales en la conferencia de Higiene

Rural. (19)

Las escalas basadas en observaciones hechas al consumo de alimentos presentan obvias desventajas. Cuando los alimentos están disponibles en abundancia y no hay ninguna restricción en su consumo, es consumido más alimento del requerido, y por --- otro lado, cuando los alimentos disponibles son insuficientes, no son llenados los requerimientos. En otras palabras no es lo que debiera ser. (7)

Los requerimientos energéticos o calóricos totales no son iguales para todas las personas, aunque estas sean de la misma talla y sexo. Pues ya que además de los gastos de energía para mantener las actividades involuntarias del cuerpo existen otros factores como la actividad muscular voluntaria, el efecto de los alimentos y el mantenimiento de la temperatura corporal que deben tomarse en cuenta.

a) Gasto de energía para mantener las actividades involuntarias

La actividad de energía requerida para llevar a cabo el trabajo involuntario del cuerpo se conoce como valor del Metabolismo Basal. Incluye las actividades funcionales de los diferentes órganos como el cerebro, corazón, hígado, riñones, pulmones, - las actividades secretorias de las glándulas, los movimientos peristálticos del tracto gastrointestinal, las oxidaciones que se llevan a cabo en los tejidos en reposo y el mantenimiento

del tono muscular. El valor del metabolismo basal se mide por Calorimetría directa, que es la cantidad de calor producido -- por el cuerpo; en donde el calor desprendido por el individuo es absorbido por el agua que fluye a través de serpentines en la cámara. Se mide la temperatura del agua al principio del estudio, a intervalos y al terminar el mismo; y también se mide el volumen de agua que fluye por los serpentines. Estos calorímetros llamados de respiración están diseñados de tal manera que puede medirse el consumo de O_2 y la excreción de CO_2 al mismo tiempo que se determina la producción de calor.

Numerosos experimentos en personas de todas las edades han demostrado que un litro de O_2 es igual a 4.825 Kilocalorías bajo determinadas condiciones, las cuales son específicas para la determinación del gasto de energía por el metabolismo basal.

Dichas condiciones son:

- Estado posabsorbente: 12 a 16 horas después de la última comida.
- En posición raclinada, pero despierta (media o una hora de reposo antes de empezar).
- Relajado y libre de trastornos emocionales o migraña a la prueba misma.
- Temperatura normal del cuerpo.
- Temperatura ambiente confortable.

Bajo estas condiciones los individuos muestran una diferencia

del \pm 15% bajo una misma talla, sexo y edad.

El cálculo que se realiza es el siguiente:

Supóngase que un individuo consume 1200 ml de O_2 en un período de 6 minutos, el gasto de calor basal en un período de 24 horas es:

$$\begin{array}{rcl} \frac{10 \text{ X } 1200 \text{ X } 24}{1000} & = & 288 \text{ lts de } O_2 \text{ en } 24 \text{ horas.} \\ 288 \text{ X } 4.825 \text{ Kilocalorías} & = & 1390 \text{ Kilocalorías.} \end{array}$$

b) Actividad muscular.

Después del metabolismo basal, la actividad es la que requiere el mayor gasto de energía. El trabajo sedentario, que incluye trabajo de oficina, contabilidad, mecanografía, etc., requiere menos energía que el trabajo más activo como lo es el de en-fermería, mantenimiento del hogar, etc.

En la tabla # 1 se encuentran clasificados en 5 grupos varias de las actividades. El gasto calórico incluye el gasto debido al mantenimiento basal.

Hay que tomar en cuenta que las necesidades energéticas serán mayores para la persona que utiliza muchos movimientos en la realización de su trabajo, y que trabaja bajo gran tensión muscular o que encuentra difícil relajarse completamente en reposo. (8)

Tabla # 1

GASTO DE CALORIAS PARA DIVERSOS TIPOS DE ACTIVIDAD.

Tipo de actividad	Kilocalorías por hora
Sedentarias Leer, escribir, comer, ver televisión o cine, escuchar el radio, coser y otras actividades que se realizan estando sentado y que requieren poco o ningún movimiento de brazos.	80 a 100
Ligera Preparar y cocinar alimentos, lavar platos, - sacudir, planchar, caminar despacio, arreglo personal y otras actividades que se hacen de pie y requieren algún movimiento de brazos.	110 a 160
Moderada Tender camas, sacudir y lavar pisos, barrer, pulir, encerar, jardinería ligera y trabajo de carpintería, caminar moderadamente aprisa, otras actividades que se hacen de pie y requieren movimiento moderado de los brazos y actividades que se hacen estando sentado y - requieren un movimiento vigoroso de los brazos.	170 a 240
Vigorosa Lavado y encerado pesado, lavado a mano de artículos o ropa de gran tamaño, colgar ropa, destender camas, otro trabajo pesado, caminar de prisa, jugar boliche, jugar golf y jardinería.	250 a 350
Extenuante Nadar, jugar tenis, correr, montar en bicicleta, bailar, esquiar y jugar fútbol.	350 y más

Las cifras inferiores se aplican a las mujeres, las cifras superiores a los hombres. Las cifras incluyen tanto el metabolismo basal como la actividad.

c) Efecto calorizénico de los alimentos.

Ningún efecto asociado con el metabolismo energético ha sido -
menos entendido que el "Efecto Calorigénico" o "Acción Dinámi-
ca Específica del Alimento", que es el calor producido por el
consumo de los alimentos. El mecanismo que causa este aumento
todavía no se comprende completamente. Se ha observado que al
ingerir únicamente proteínas aumenta la velocidad metabólica -
en un 30%, mientras que los carbohidratos y las grasas produ-
cen aumentos mucho más pequeños en el metabolismo. Basándose
en las dietas que son mezclas de carbohidratos, proteínas y --
grasas, que por lo general son las que se consumen, solo un 6%
de la energía ingerida es consumida por la acción dinámica es-
pecífica, así que este factor no es de mayor consideración pa-
ra el establecimiento de los requerimientos calóricos. (9) (20

d) Mantenimiento de la Temperatura Corporal.

Es importante la consideración que se le tiene a la temperatu-
ra ambiental, pues ya que ha sido asumido que los requerimien-
tos calóricos de un individuo se incrementan en bajas tempera-
turas ambientales, pero esto es menos importante cuando se usa
ropa adecuada. Cuando hay una capa de tejido adiposo bajo la
piel, el calor corporal se conserva mejor. La grasa subcutánea
sirve para conservar el calor del cuerpo en lugar de que se di-
sipe a través de la piel.

En climas extremadamente fríos, la temperatura corporal se mantiene por un aumento de las actividades involuntarias y a menudo de las voluntarias. Esto es, los vasos sanguíneos se constríen por lo que llega menos sangre a la superficie de la piel los músculos se ponen tensos y se provoca estremecimiento. -- Estas actividades involuntarias producen un aumento considerable de la velocidad metabólica, y con el frío hay un aumento de la actividad voluntaria.

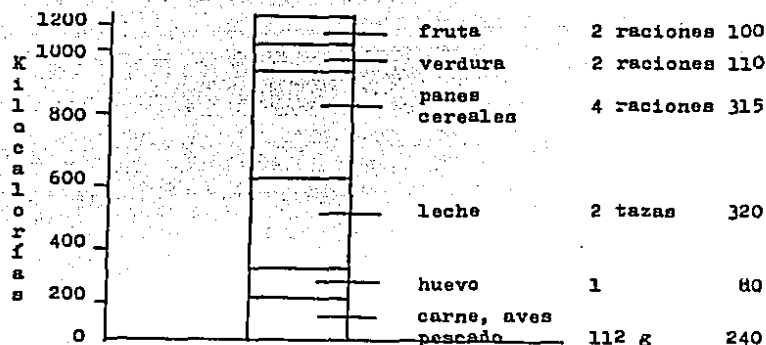
Por otro lado, cuando la temperatura ambiental es alta, el calor corporal se pierde por evaporación y el gasto de energía -- que se requiere para que el agua del interior del organismo -- salga a la superficie de la piel y se lleve a cabo la transpiración es mínimo, por lo que los requerimientos calóricos se -- ven brevemente incrementados.

La ingestión de cantidades mínimas de cada uno de los 3 grupos de nutrientes proporcionan energía a los niveles basales para el adulto, figura # 2. (8)

Para completar el requisito calórico pueden seleccionarse cualquier alimento o alimentos que se desee. La ingestión de más alimentos del grupo de los cereales y panes no solamente amentará el abastecimiento de calorías a bajo costo, sino incrementará el nivel de proteínas, hierro y vitaminas del complejo B

Figura # 2

LA DIETA BASICA



en la dieta. La selección de alimentos adicionales de otra de los grupos diferentes, aumentará el nivel calórico de la dieta en diversos grados y proporcionará beneficios nutricionales adicionales en proteínas, minerales y vitaminas.

Los azúcares y las grasas son fuente concentrada de energía y pueden utilizarse para aumentar rápidamente el nivel calórico de la dieta. Estas tienen un lugar legítimo en la dieta, pero debe tenerse en cuenta que las grasas y los azúcares, no contienen proteínas, minerales o vitaminas. Cuando constituye una proporción alta de las calorías totales de la dieta existe

el peligro de que no se cubran las necesidades de otros nutrientes. Son muchas las personas que seleccionan dietas en donde las grasas y los azúcares proporcionan una tercera parte o más de las calorías. Esta es un área importante en la educación nutricional. (8)

Como se ha mencionado antes, el estudio del metabolismo energético tiene ya mucho tiempo, y el enfoque que se le ha dado generalmente es hacia el aspecto nutricional del ser humano. Pero en los últimos años se ha estudiado al metabolismo energético dándole un enfoque muy diferente; esto es, dirigido hacia la investigación de enfermedades como lo es el cáncer. Esto representa un tremendo reto por la posición que juega esta enfermedad como causa de muerte. Estudios clínicos del metabolismo han revelado un incremento de gasto de energía en ciertos períodos en el crecimiento progresivo de tumores malignos; usualmente esto está asociado con la captura del nitrógeno dentro del tumor y algunas veces con la reducción de la grasa del cuerpo.

3.3 CONTROVERSIAS ENTRE JOULE Y CALORÍA.

La caloría definida como la cantidad de calor necesario para incrementar la temperatura de 1 g de agua 1°C, ha sido usada desde hace 2 siglos. Esta unidad fue la que utilizó Lavoisier. En el desarrollo de la ciencia de la Nutrición, la caloría generalmente tomada como Kilocaloría, ha sido la llave del mundo.

Alrededor de 1842, de acuerdo con Lusk, se estableció la relación entre trabajo-mecánico y calor, la cual puede resumirse e con la afirmación de Lusk de que una Kilocaloría es equivalente a 4.180 Joules.

El reciente impulso hacia la metrificación, ha provocado un estudio a fondo, aún de las mismas unidades métricas. Algunos - Institutos, entre ellos el Royal Society, han decretado que la caloría debería ser omitida de la selecta lista de unidades establecidas por el SI (Système International d'Unités) y que el Joule deberá jugar el doble papel como unidad, es decir para la energía mecánica y para el calor. (10)

El VIII Congreso Internacional de Nutrición, que en septiembre de 1969 en Praga, aceptó las recomendaciones del "Committee on Nomenclature of the International Union of Nutrition Sciences". Dichas recomendaciones fueron que aceptó que el Joule reemplazara completamente a la caloría dentro de la terminología de la Nutrición y además se estableció que el cambio debería ser gradual por los efectos que podrían ocasionarse. (3)

De acuerdo a lo anterior fue conveniente redefinir la caloría, para lo cual se tuvo que analizar el hecho de que muchos nutriólogos utilizan la palabra energía (incorrectamente) como sinónimo para alimento. Por ejemplo, un exceso de calorías es, algunas veces, debido a una causa adiposa, actualmente se sabe - que esta condición es causada por un exceso de alimento, el cual

no es usado para la producción de calorías. Similarmente el uso de la expresión "Metabolismo Energético" parece estar infundada, ya que la energía no es metabolizada, pero si es producida por el metabolismo de los alimentos.

Así, la caloría podría redefinirse como unidad de alimento, mas que de calor. Sobre estas bases, la nueva caloría podría ser convenientemente definida como la cantidad de cualquier alimento, el cual, cuando es usado por el cuerpo del animal, exclusivamente para la generación de energía, produce 4.180 Joules.

La causa principal de que la caloría no podía continuar indefinidamente como unidad de energía, es que la caloría no puede derivarse directamente de las unidades bases del SI (m = longitud; Kg = masa; s = tiempo; Amp = corriente eléctrica; cd = intensidad luminosa) sin usar un factor experimentalmente determinado. Por otro lado, el Joule, es completamente coherente para medir la energía en todas las ramificaciones de la ciencia, y es definitivamente definido regurosamente en términos de unidades básicas de masa, longitud y tiempo.

$$\text{Joule} = \frac{\text{Kgm} \times \text{m}}{\text{seg}^2} = \text{New} \times \text{m}$$

Kgm = Kilogrametro

New = Newton

Analizando la caloría desde otro punto de vista, no puede ser

omitida ya que el trabajo estático no puede ser medido directamente en términos de Joule, sino únicamente por Calorimetría o por medición de la cantidad de CO_2 excretado, es decir en términos de caloría. El trabajo estático se refiere cuando se -- realiza por ejemplo un levantamiento de un peso determinado -- (supongamos 50 kg) y no se mueve, sino que se queda quieto como un pilar. El trabajo realizado en este caso es igual a cero (0), puesto que la distancia recorrida es cero (0). El alcance total de este esfuerzo depende del tiempo durante el cual se soporta el peso, lo cual se traduce al producto de New por tiempo y no de New por distancia. (10)

Actualmente para la estandarización calorimétrica se utiliza el calor de combustión del ácido benzoico. Este calor de combustión es expresado primeramente en Joules por gramo/mol, y en segundo plano en términos de caloría termoquímica por mol. Esto es debido a que las mediciones calorimétricas están basadas en una calibración eléctrica, por lo cual es lógico calibrar en unidades de energía más que en unidades térmicas.

Los calorímetros son calibrados por la medición de la cantidad de energía eléctrica necesaria para duplicar el efecto térmico (calor de combustión de una cantidad estándar de ácido benzoico). La potencia de la energía eléctrica es medida en las unidades volt x Amp x seg y/o watts x seg.

Un watt/seg es igual a 1 New/metro, que es igual a 1 Joule.

Para conveniencia de la energía específica de los alimentos -- puede ser expresada en términos de Kilojoule por kilogramo. (3)

Una de las conclusiones a las que se ha llegado después de discutir largamente el uso de Joule y caloría como medida de energía es que para mantener la caloría como unidad de energía se tendrá que aislar a la ciencia de la Nutrición para los principales avances del cuerpo dentro del campo físico y químico. (4)

Mientras se espera la opinión de expertos en la materia los Nutriólogos deberán mantener la caloría pero como unidad de los alimentos y no de calor.

La caloría deberá ser redefinida, sin ningún cambio significativo, como la cantidad de energía que produce cualquier alimento, cuando es exclusivamente usado por un animal como fuente de energía, produciendo 4.180 joules.

Mientras es nuevamente definida la unidad, deberá de continuar llamandose caloría. (10)

3.4 IMPORTANCIA DE LAS PRUEBAS BIOLÓGICAS.

Los animales domésticos fueron probablemente los primeros en usarse en investigaciones nutricionales.

No fue hasta alrededor de 1840, que una observación casual de la respuesta de los animales, entonces usados las cabras, (en general animales de granja) al cambiar los ingredientes de su ración, parcialmente dieron una manera de controlar los experimentos.

Años más tarde se llevaron a cabo experimentos con terneras, - las cuales eran alimentadas con maíz, trigo y avena; los investigadores se dieron cuenta que el desarrollo de las terneras era superior al alimentarlas con maíz que con los otros granos. Posteriormente observaron que se requería que los ingredientes de las raciones fueran purificados. Las pequeñas cantidades - disponibles de estos ingredientes excluían las investigaciones con animales tan grandes como las cabras, por lo cual se empezaron a usar las ratas, Al principio podían adquirirse en tiendas de mascotas y posteriormente en tiendas o instituciones dedicadas únicamente a la cría de colonias de ratas.

El énfasis principal de la investigación biológica es sobre el desarrollo de los métodos químicos y físicos que permitirán al investigador trabajar con muy pocas células individuales.

Esto es importante porque al trabajar con sistemas biológicos aislados es más fácil poder controlar diferentes parámetros y los resultados podrán de esta manera ser aplicables al hombre.

Para entender los factores que estan envueltos en el funcionamiento de un organismo complejo, los animales experimentales - requieren del estudio del animal intacto. Este debe ser el primer paso en cualquier estudio nutricional significativo.

Una de las áreas donde el estudio de animales es significativo es en la evaluación de la eficacia que puedan tener en el organismo los nutrientes y sustancias tóxicas al ser ingeridas.

(22)

Varios investigadores han reportado de forma independiente que el hombre se asemeja cercanamente a la rata en crecimiento en cuanto a su utilización metabólica de las proteínas de la dieta. También se ha demostrado que las pruebas de crecimiento - de las ratas son por todo, aplicables a la evaluación de dietas humanas. Por otro lado Flodin encontró una muy aceptable correlación entre los valores P.E.R. (Relación de eficiencia - de proteína) determinados con la rata y los valores biológicos obtenidos con hombres adultos. (23)

Las ratas se han escogido como los animales más adecuados para las investigaciones nutricionales principalmente por la razón antes descrita y en segundo termino por las razones siguientes:

1.- Son animales omnivoros y pueden ser alimentadas con la mig

ma ración a lo largo de su vida, siendo ésta nutricional-
mente adecuada.

- 2.- Son fáciles de manejar y de cuidar.
- 3.- Son muy dóciles en cuanto a su manejo y cuidado.
- 4.- Un gran número de estos animales pueden ser guardados en la misma jaula.
- 5.- Son muy fértiles y se reproducen en 10 semanas.
- 6.- Hay un largo periodo después del destete, durante el cual continúan creciendo e incrementado su peso corporal. (Las ratas al nacer pesan alrededor de 6 gramos; a las 3 semanas su peso es 7 veces mayor; en la pubertad, mas o menos 6 semanas de edad, su peso es 25 veces mayor que cuando nacieron. La velocidad de ganancia de peso es de 5 a 7 gramos por día, el cual puede continuar a lo largo de 6 a 8 semanas, después empieza a decrecer).

Esta última es la razón mas importante para el amplio uso de estos animales, ya que muchos estudios nutricionales requieren el uso de animales que continúan ganando peso sobre periodos extensos.

Existen algunas limitaciones para el uso de estos animales pero pueden ser controladas. Una de estas es que algunas ratas son susceptibles a enfermedades respiratorias de tipo crónico. La mejor medida terapéutica es prevenirla y para esto la experiencia sugiere que los animales deban mantenerse aislados unos de otros y ser protegidos de rápidas reducciones de temper-

ratura en el ambiente. En algunas instituciones las medidas que toman es que los cuartos cuentan con calefacción, la cual funciona por las noches y en días fríos. La temperatura que debe mantenerse es alrededor de los 23°.

Otro problema que se presenta en las ratas es la coprofagia. Esto significa que bajo ciertas circunstancias se hace difícil determinar efectos nutricionales y fisiológicos de reacciones secundarias iniciadas por la actividad microbiológica en el tracto gastrointestinal.

Para evitar esto se colocan a los animales en jaulas cuyo fondo sea una red, es decir que tenga orificios por los cuales puedan caer las heces a una superficie inferior, quedando así aisladas de los animales.

La raza de ratas más usadas comunmente es la Sprague Dawley porque su comportamiento metabólico se asemeja mucho al de los humanos. Un ejemplo es que al ser sometidas a una dieta con altas concentraciones de cloruro de sodio, desarrollan hipertensión; y al ser alimentadas con una dieta rica en grasas manifiestan obesidad, lo cual no ocurre con las ratas blancas S5/BFl. (22)

C A P I T U L O I V

IV. PARTE EXPERIMENTAL.

4.1 Material:

Equipo:

- Bomba Calorimétrica Gallen Kamp.
mod. CFB-330.
- Balanza Analítica Melter tipo H15.
- Estufa de vacío Lab-Line mod. 3620.
- Digestor Tecator, mod. ab 20/40
- MicroKjeldahl Labconco.
- Digestor para fibra cruda Labconco.
- Molino de laboratorio Thomas-Willey
mod. 4.
- 36 ratas machos, peso de 40 a 57g,
raza Sprage Dowley, recién destetadas.
(21 días de edad)

Muestras:

- Dieta A: 10% de proteína
3.68 Kcal/g
- Dieta B: 15% de proteína
3.68 Kcal/g
- Dieta C: 0% de proteína
4.18 Kcal/g
- Dieta D: 15% de proteína
4.18 Kcal/g
- Dieta E: 15% de proteína
3.94 Kcal/g
- Dieta F: alimento balanceado para
ratas purina.
- Arroz

- Jamon
- Pan integral
- Harina de trigo integral
- Grano de trigo
- Frijol crudo
- Frijol cocido
- Tortilla de maiz

4.2 Métodos:

4.2.1 Procedimiento a seguir para utilizar la Bomba Calorimétrica.

Se recomienda que como rutina, se hagan dos o tres pruebas con cada muestra y se calcule el valor promedio.

- Preparación de las muestras:

Es esencial que cada muestra sea verdaderamente representativa del material a utilizar. Para lograr esto es recomendable llevar a cabo una molienda, seguida de un mezclado uniforme.

En general el material de muestra deberá ser secado antes de la combustión, ya sea en horno tradicional o secado al vacío, según las características de la muestra.

- Tamaño de la muestra:

El criterio que gobierna el tamaño de la muestra a ser tomada es la liberación de calor total, recomendándose una liberación de aproximadamente 4.0 Kcal por muestra, usando el rango de 0.4g para material con alto valor calorífico hasta 1.5 g para materiales como la urea.

Con la presión de oxígeno recomendada, de 25 atmósferas la cantidad de muestra tomada deberá de ser quemada completamente y sin desarrollar presión excesiva en la bomba.

- Preparación de la muestra para la combustión:

La mayoría de las muestras pueden ser pesadas directamente en un crisol y solo requieren ser golpeadas o presionadas levemente para formar una capa lisa acomodada para la combustión, pero los materiales que tienen baja densidad deberán primero ser compactados para reducir su velocidad de combustión.

Cuando se requiera de un tratamiento especial, se notará debido a un exceso en el aumento de la presión sobre la combustión y la presencia de muestra no quemada en la base de la bomba; el tratamiento que deberá seguirse es agregar a la muestra mas o menos 10 gotas de agua como agente humectante y permitir que se empape antes de la incineración.

- Inserción de la muestra en la bomba:

Ponga el crisol en el pilar de soporte, en la base de la bomba

ba. Tome un hilo de algodón de 50 mm de largo, inserte un extremo del hilo entre las roscas del alambre de ignición e introduzca el otro extremo en el centro de la muestra en el crinol. Una longitud estándar de hilo de algodón deberá ser usada para cada prueba de manera que la corrección tenga un valor constante.

- Montaje de la bomba:

Verifique que el anillo sellador de la bomba este en posición y asegúrese de que no haya imperfecciones en el anillo sellador. Levante el anillo entriado asegurador tan alto como pueda y baje el cuerpo de la bomba sobre el anillo y dele vuelta -- hasta que se acople en el anillo. Tome el cuerpo de la bomba firmemente con una mano y sin dejar que de vueltas, atornille el anillo sellador firmemente con la otra mano. Enchufe la Terminal del termopar en el orificio de la tapa del cuerpo de la bomba.

- Llenado de la bomba con oxígeno:

Considerando que la válvula del cilindro de oxígeno está abierta, cierre la válvula de liberación de presión en la bomba y abra la válvula en el panel frontal de la caja de control mas o menos un cuarto de vuelta. Permita que la presión aumente a 25 atmósferas en un tiempo aproximado de 20 segundos y después cierre la válvula de la caja de control.

- Encendido de la bomba:

Ajuste el indicador del galvanómetro en cero (0) y déjelo -- que permanezca estable por 30 segundos para checar que la -- temperatura sea estable. Apartese de la bomba, presione y suelte el botón de ignición.

- Preparación para la próxima muestra:

Inmediatamente después de que la máxima deflexión ha sido -- registrada, los gases pueden ser liberados de la bomba a tra -- vés de la válvula de liberación de presión a la derecha de -- la base de la bomba. Quite el cuerpo de la bomba y llénelo con agua fría, enjuagando dos o tres veces.

Ponga la siguiente muestra en posición, entonces seque el -- cuerpo de la bomba teniendo especial cuidado en que el orifi -- cio del termopar esté seco. Proceda como se describió antes.

- Estandarización del aparato:

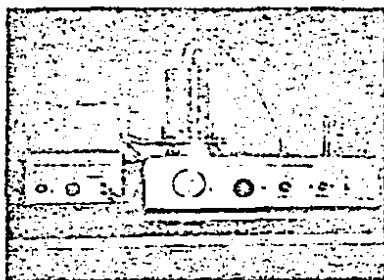
La siguiente prueba debe ser hecha antes de que las lecturas del galvanómetro puedan ser convertidas en valores calóricos. La figura # 3 ilustra la bomba calorimétrica.

Corrección para ganancia constante de calor.

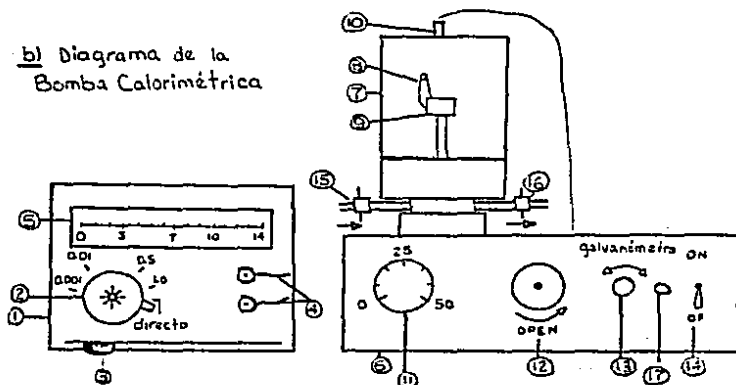
Durante cada prueba una pequeña cantidad constante de calor es liberada en la bomba por la combustión de la mecha de algodón. Para medir estos, lleve a cabo una prueba sin ningún

FIGURA # 5

a) fotografía
de la Bomba
Calorimétrica



b) Diagrama de la
Bomba Calorimétrica



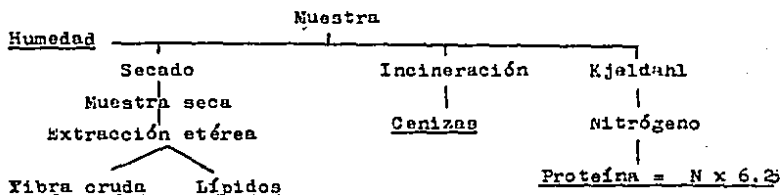
- | | |
|--|---------------------------------|
| ① Galvanómetro | ⑨ Soporte para el crisol |
| ② Atenuador (Sensibilidad de la Señal) | ⑩ Termopar |
| ③ Ajuste grueso | ⑪ Manómetro |
| ④ Conexiones con la Bomba | ⑫ Valvula de oxígeno |
| ⑤ Pantalla con escala | ⑬ Ajuste fino del galvanómetro |
| ⑥ Bomba Calorimétrica | ⑭ Interruptor de encendido |
| ⑦ Campana de Combustión | ⑮ Entrada de oxígeno |
| ⑧ Alambre de ignición | ⑯ Salida de gases de combustión |
| | ⑰ Botón ignición |

na muestra en el crisol utilizando únicamente la mecha de algodón. Para poder detectar la máxima deflexión, espere 40 segundos aproximadamente, después de que oprimió el botón y entonces tome la lectura.

Calibración con muestra estándar.

El propósito de esta calibración es el de establecer la relación entre las deflexiones del galvanómetro y la cantidad de calor liberado por la combustión de la muestra. Lleve a cabo pruebas utilizando un material de muestra de valor conocido. El ácido benzoico de grado termoquímico es el recomendado como material estándar, (British Chemical Standards # --- 190 k).

4.2.2 Análisis bromatológico. (*)



(*) Manual de Análisis Bromatológico. División de Estudios de Post-grado, departamento de Farmacia y Productos Naturales. U.N.A.M.

4.2.3 Relación de Eficiencia de Proteína. (P.E.R.) (18)

- Preparación de las dietas:

Para poder preparar las dietas que requerimos para lograr -- nuestro objetivo, se tomaron en cuenta las siguientes dietas:

- la primera con un contenido bajo en calorías, cuya composición es la siguiente:

proteína --- 10 (%)	mezcla de sales --- 4
sacrosa --- 21.6	mezcla de vitaminas --- 2
dextrosa --- 24	celulosa --- 4.4
dextrina --- 24	<hr/>
mantequilla --- 6	Total --- 100.0
aceite --- 4	% proteína --- 10
	densidad calórica --- 3.7 Kcal/g
	ca

- la segunda con un contenido alto en calorías, cuya composición es la siguiente:

proteína --- 10 (%)	mezcla de sales --- 4
sacrosa --- 19.6	mezcla de vitaminas --- 2
dextrosa --- 20	celulosa --- 4.4
dextrina --- 20	<hr/>
mantequilla --- 12	Total --- 100.0
aceite --- 8	% proteína --- 15
	densidad calórica --- 4.2 Kcal/g
	ca

En base a estas dietas se procedió a realizar los cálculos -- quedando nuestras dietas con la siguiente composición:

(antes de efectuar los cálculos se analizó la proteína (caseína 91 %) para verificar su contenido proteico).

Ingredientes	A	B	C	D	E
Caseína (91%)	10.98	16.48	0.00	16.48	16.48
Sacarosa	21.6	21.6	19.6	19.6	18.0
Dextrosa	24.0	21.0	20.0	17.0	17.0
Dextrina	24.0	22.0	20.0	18.0	18.0
Manteca vegetal	6.0	6.0	12.0	12.0	11.0
Aceite	4.0	4.0	8.0	8.0	7.0
Mezcla de sales	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Mezcla de vitaminas	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Celulosa	3.42	2.92	14.4	2.92	6.52
TOTAL	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Proteína (%)	10	15	0	15	15
Densidad calórica (kcal/g)	3.68	3.68	4.18	4.18	3.94

La fuente de proteína se homogenizó junto con todos los ingredientes sólidos excepto las vitaminas. a continuación se procedió a adicionar la mezcla de lípidos (aceite y manteca fundida); por último se adicionó la mezcla de vitaminas, manteniendo la dieta en la mezcladora hasta su completa homogenización. Una vez lista la dieta se procedió a guardarla en refrigeración.

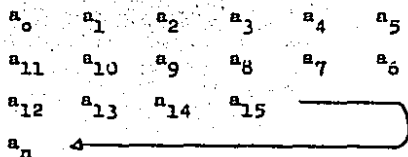
- Distribución de los animales:

El primer día, las ratas se pesaron forma individual, cuyo dato corresponde al peso inicial de los experimentos. Para una adecuada distribución de los animales por lote, se procedió a repartirlos de acuerdo a la distribución de "Culebra ja

ponesa", (figura # 4) con el fin de que el peso total por lote no varíe más que ± 1 gramo. El número de animales por lote fué de 6 y éstos se colocaron en jaulas individuales.

Ya que estos animales al comer tienden a desperdiciar alimento, se aconseja colocar debajo de la jaula una charola de papel manila, para poder recuperar este material.

Figura # 4: Distribución por el método de "Culebra japonesa"



Donde:

a_0 = Corresponde a la rata más chica, es decir con menor peso.

a_n = Corresponde a la rata más grande, es decir con mayor peso.

- Desarrollo de la prueba:

Una vez que se tienen los diferentes lotes, se les coloca a cada animal su respectiva dieta (pesada) y agua "ad libitum" y a partir del primer día se mantienen dichas condiciones; - los animales se pesan dos veces por semana, teniendo la precaución de recuperar el alimento desperdiciado, haciendo uso

del tamiz para separarlo de las heces del animal.

El estudio se mantiene por espacio de 3 semanas, y al final de dicho tiempo se pesan tanto alimento como animal, y este último dato corresponderá al peso final. De preferencia se deben realizar en un mismo horario todas las pesadas para que a lo largo del estudio haya menor variación por este motivo. (16)

4.2.4 Determinación del Porcentaje de Eficiencia Calórica para el Crecimiento (% ECC).

- Procedimiento a seguir:

Una vez terminada la prueba de Relación de Eficiencia de Proteína, a continuación se recolectan los datos necesarios para poder determinar el % ECC. Estos datos son:

a) ganancia en peso del animal a lo largo de la prueba.

$$(P_f - P_i)$$

b) Calorías consumidas durante toda la prueba. Esto lo obtenemos multiplicando la cantidad de alimento total ingerido por la densidad calórica de cada dieta (dato obtenido experimentalmente) por 100.

Así tenemos:

$$\% \text{ ECC} = \frac{\text{Ganancia en peso}}{\text{Calorías consumidas}} \times 100$$

CAPITULO V.

4.3 Procedimiento seguido con las muestras.

4.3.1 Bomba Calorimétrica.

Primeramente se procedió a instalar el aparato, tal y como lo indica el manual, posteriormente se llevó a cabo la calibración de la Bomba Calorimétrica utilizando ácido benzoico. Se realizó una curva de calibración, a la cual se le determinó su coeficiente de correlación lineal, la cual fue bastante adecuada (= 0.984).

Una vez estando seguros de que la curva de calibración es -- adecuada y que podemos interpolar en ella con gran seguridad de obtener resultados confiables, se continuó a someter a va rios alimentos (arroz frito, arroz crudo, jamón, pan, frijol crudo, frijol cocido, tortilla, grano de trigo) en la Bomba Calorimétrica para determinar su valor energético experimental.

Los resultados obtenidos experimentalmente se compararon con los que muestra la literatura (17), y se realizó una prueba de "t" de Student, para poder verificar la confiabilidad de los resultados obtenidos.

4.3.2 Análisis Bromatológico.

De las dietas que se utilizaron para la realización de la -- prueba biológica, 5 de ellas fueron elaboradas en el labora torio mientras que la restante estuvo compuesta por alimen-

to balanceado purina que se les administra normalmente a las ratas para cualquier otro experimento que no sea una valoración proteínica de la dieta administrada.

Como no se conocía la composición de dicho alimento balanceado de purina, se llevó a cabo un análisis bromatológico de ésta y además se determinó el contenido calórico.

El objeto de utilizar el alimento balanceado purina fue el de tener una dieta de referencia, para poder comparar el crecimiento de las ratas con aquellas que no fueron alimentadas con alimento balanceado purina, para así poder determinar cómo influye el contenido calórico del alimento administrado.

4.3.3 Relación de Eficiencia de Proteína (P.E.R.)

Se manejaron 6 lotes de ratas, y cada uno de estos fue alimentado con una dieta que contenía diferente valor calórico al de las otras dietas.

Los valores calóricos que se manejaron fueron:

- 1.- Bajo nivel calórico, el cual corresponde a 3.68 Kcal/g.
- 2.- Medio nivel calórico, el cual corresponde a 3.94 Kcal/g.
- 3.- Alto nivel calórico. el cual corresponde a 4.18 Kcal/g.

Estos niveles calóricos fueron determinados teóricamente en

el momento de formular las dietas, tomando en cuenta que el valor calórico que proporcionan los carbohidratos, proteínas y grasas, en términos generales, son de 4 Kcal/g, 4 Kcal/g y 9 Kcal/g respectivamente.

Una vez elaboradas las dietas, se les determinó el contenido calórico experimental por medio de la Bomba Calorimétrica.

Por cada lote se realizó una curva de crecimiento, con el propósito de analizar el comportamiento de las ratas para cada diferente dieta. En algunos lotes fue necesario excluir unos animales, debido a que su comportamiento se desparaba del promedio del lote siendo provocado por causas ajenas al experimento (bebedores tapados).

4.3.4 Porcentaje de Eficiencia Calórica para el crecimiento.

Ya terminada la prueba de Relación de Eficiencia de Proteína, se recolectaron los datos necesarios para determinar el % ECC. Los cuales fueron ganancia en peso del animal a lo largo de la prueba y calorías consumidas durante la prueba. Una vez obtenidos los resultados, se hizo una comparación con los obtenidos en el P.E.R.

CAPITULO V

V. RESULTADOS Y DISCUSION.

5.1 Bomba Calorimétrica.

Se calibró la Bomba Calorimétrica, realizándose una curva de calibración, a la cual se le determinó su coeficiente de correlación lineal, el cual fue bastante adecuado: $r = 0.984$. Dicha curva se muestra en la gráfica # 1.

Gráfica # 1

Curva estandar de ácido benzoico.

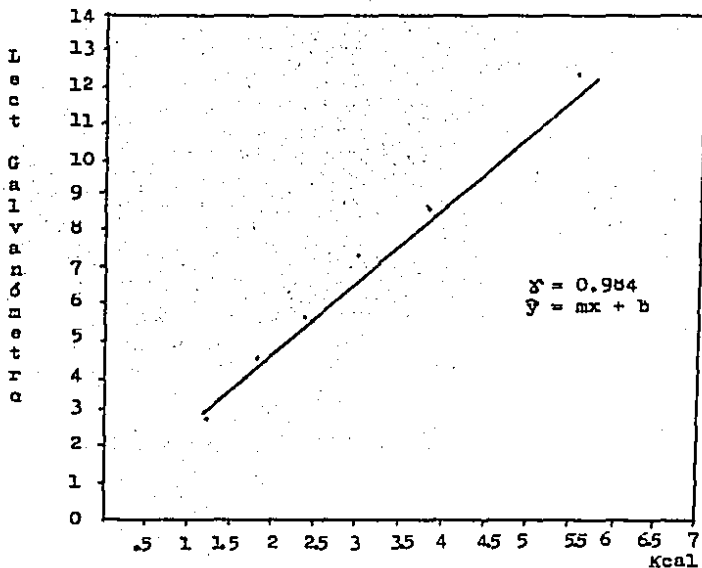


Tabla # 2

Datos necesarios para construir la curva de calibración.

Kilocalorías (Kcal)	g ác. benzoico	lectura obtenida en el galvanómetro. *
1.22	0.194	2.70
1.84	0.2913	4.35
2.47	0.3918	5.75
3.06	0.4888	7.375
3.78	0.5988	8.45
4.42	0.6997	8.95
5.02	0.7953	10.00
5.35	0.8468	12.30
6.32	1.0000	-

* Despreciando la lectura obtenida por la mecha de algodón.

Kilocalorías = Datos obtenidos interpolando con la ecuación de la regresión lineal.

Al someter varios alimentos en la Bomba Calorimétrica se obtuvo la siguiente tabla de resultados:

Tabla # 3

Valor energético experimental obtenido por medio de la Bomba Calorimétrica.

Alimento	Humedad (%)	Kcal/g	\bar{x} (a)	\bar{x} (b)
Arroz frito	85.11	6.01 5.95	5.98	0.89
Arroz crudo	11.60	4.83 4.84	4.835	4.27
Jamón	53.33	5.89 5.89	5.89	2.94
Pan	26.20	5.00 5.02	5.01	3.69
Prijol crudo	8.53	4.99 4.97	4.98	4.55
vertilla	37.30	6.10 6.10	6.10	3.82
Trigo grano	8.63	5.23 5.27	5.22	4.77
Prijol	78.28	6.20 6.15	6.17	1.34

(a) = Kcal/g on base seca

(b) = Kcal/g on base húmeda

Tabla # 4

Determinación de la confiabilidad de la Bomba Calorimétrica por medio de la obtención de la "t" experimental y crítica, en base a los siguientes datos.

Alimento	Contenido energético experimental	Contenido energético teórico ^{1*}
Arroz frito	0.86	0.67
Arroz crudo	4.27	3.60
Jamón	2.94	2.85
Pan	3.69	2.90
Frijol crudo	4.55	3.41
Tortilla	3.82	2.50
Trigo grano	4.77	3.64
Frijol cocido	1.34	0.89

"t" de Student experimental: $t = 1.0327^{1*}$

"t" de Student crítico: $t_{(0.01)} = 2.9768 (24)$

^{1*} Resultado obtenido en la Calculadora Victor 3600 Systems Applications for Statistical.

^{2*} Quintín Olascoaga, José Dr. Tablas de valores Nutritivos para Cálculos Dietéticos. México, D.F. 5-21, 1967.

Al comparar la "t" experimental (1.0327) con la "t" crítica (tablas de referencia)(24), en un (grado de confiabilidad) de 0.01 = 99% de confiabilidad, observamos que el valor de "t" experimental fue menor al valor de "t" crítica (2.9768), con lo cual podemos decir que no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos en la Bomba Calorimétrica y los representados en la literatura.

También se observa que los valores energéticos de los alimentos al quemarse en la Bomba son ligeramente más altos -- da los que se presentan en el cuerpo humano, pero siempre guardando una relación directamente proporcional entre ambos. Esto es debido, primero, a que durante la digestión hay pequeñas pérdidas en los 3 nutrientes. Para la dieta típica mezclada del americano, se absorbe y transforma el 98% de los carbohidratos, el 95% de las grasas y el 92% de las proteínas. Los carbohidratos y las grasas que son absorbidas se oxidan completamente en el cuerpo tal como sucede en la Bomba Calorimétrica, pero en el caso de las proteínas los productos finales del metabolismo se eliminan -- parcialmente como urea y otros compuestos orgánicos de nitrógeno, que son combustibles. En otras palabras, el cuerpo pierde parte del valor de la energía potencial de la -- proteína y el valor neto es menor que el que se determina en una Bomba Calorimétrica.

5.2 Análisis Bromatológico.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla # 5.

Tabla # 5

Análisis bromatológico del alimento balanceado purina.

Determinación	(%)
Cenizas	8.62
Humedad (perdida por secado)	9.93
Proteína (N x 6.25)	23.82
Grasa (extracto etéreo)	4.04
Fibra cruda	3.42
Carbohidratos (por diferencia)	50.17
Densidad Calórica (Kcal/g)	2.92

5.3 Relación de Eficiencia de Proteína (P.E.R.)

Los resultados obtenidos de la determinación experimental del contenido energético de las dietas se muestra en la tabla # 6.

Tabla # 6

Contenido energético experimental de las dietas.

Alimento	Humedad (%)	Kcal/g	\bar{x} (a)	\bar{x} (b)
Dieta A	10.11	4.90 5.01	4.95	4.44
Dieta B	9.98	5.16 5.10	5.13	4.62
Dieta C	10.03	5.89 5.97	5.93	5.33
Dieta D	10.09	6.17 6.17	6.17	5.54
Dieta E	9.92	5.57 5.57	5.57	5.01
Dieta R	9.93	5.15 5.17	5.16	4.65

(a) = base seca

(b) = base húmeda

Tabla # 7

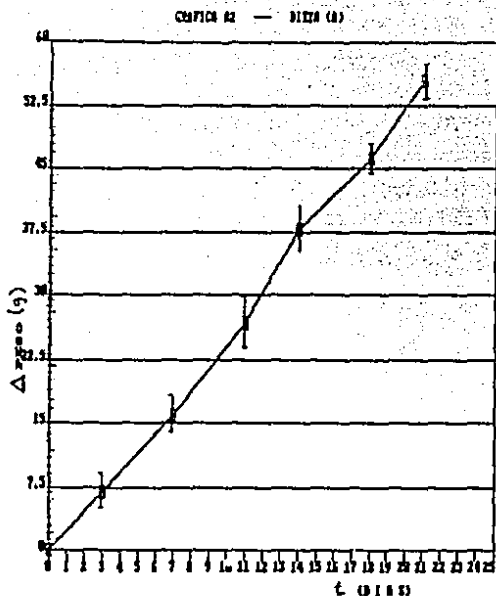
Resultados obtenidos a partir de la realización del P.E.R.

Dieta	Fi (g)	Pf (g)	ΔP (g)	Ac (g)	Pc (g)	Cc (Kcal)
A	49.16	103.48	50.25	194.91	19.49	865.40
σ	5.70	11.62	12.14	26.43	2.64	1.17
(n)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
B	42.16	141.06	90.56	239.23	35.88	1108.58
σ	17.84	15.48	14.0	24.13	3.62	1.11
(n)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
C	50.7	40.48	-10.37	88.72	---	-470.00
σ	5.25	6.84	4.20	16.01	---	0.86
(n)	(6)	(5)	(6)	(5)	---	(5)
D	50.71	142.73	92.01	219.1	32.86	1213.80
σ	5.27	15.31	14.55	27.63	4.14	1.53
(n)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
E	50.83	143.05	92.21	2229.6	35.44	1157.97
σ	4.67	8.69	12.55	22.98	2.72	1.14
(n)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
R	50.85	129.06	78.21	286.26	68.18	1331.12
σ	5.13	17.78	17.75	19.33	4.60	1.09
(n)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

Donde:

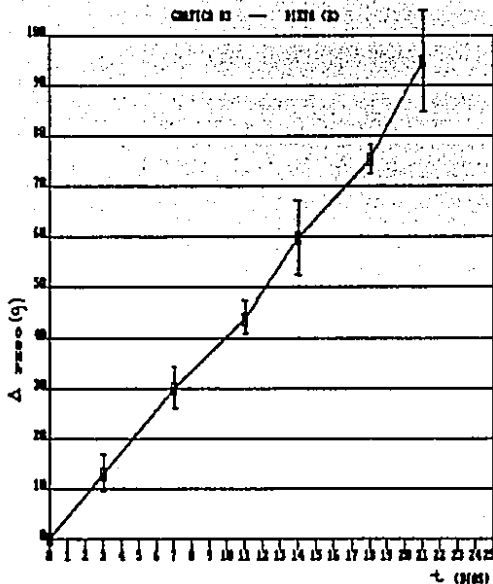
Fi (g) = peso inicial del animal en g. Cc (Kcal) = calorías consumidas en Kcal.
 Pf (g) = peso final del animal en g.
 ΔP (g) = incremento en peso en g.
 Ac (g) = alimento consumido en g. (n) = número de animales
 Pc (g) = proteína consumida en g.

Las gráficas 2, 3, 4, 5, 6 y 7 muestran el crecimiento de las ratas para cada diferente dieta.



Curva de crecimiento
correspondiente a la
dieta A.

Tiempo (Días)	3	7	11	14	18	21
Δ Peso (g)	6.95	15.9	26.81	37.79	46.17	55.33
σ Desviación estandar	2.55	2.23	2.90	2.92	1.80	2.22

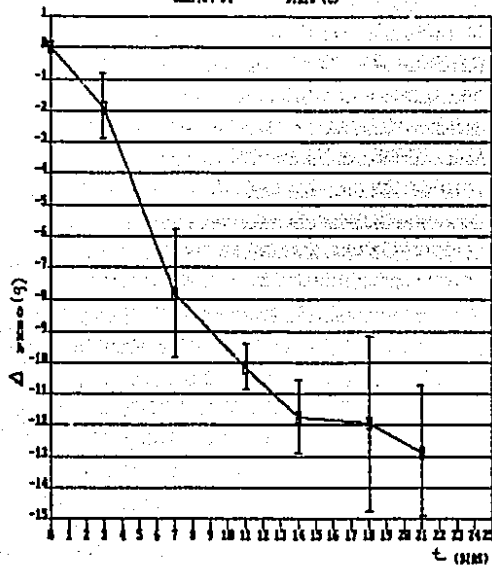


Curva de crecimiento correspondiente a la dieta B.

Tiempo (días)	3	7	11	14	18	21
Δ Peso (g)	12.88	29.86	43.89	59.61	75.39	94.63
Desviación (n) estandar	2.30	2.66	2.05 (4)	4.73 (4)	1.91	6.34 (5)

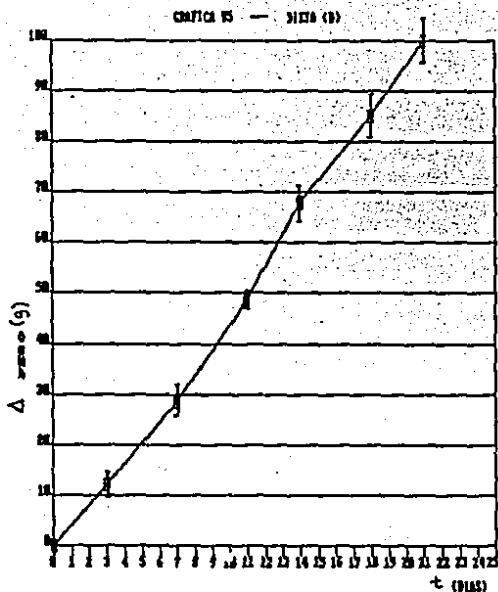
(n) = Número de ratas que intervinieron para determinar la desviación estándar. Cuando no aparezca esto, quiere decir que ninguna rata se excluyó
Esto es para cada una de las gráficas de crecimiento.

GRUPO M — HED (C)



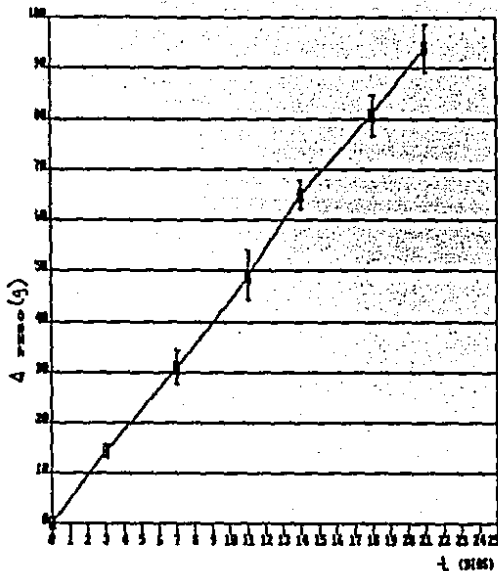
Curva de crecimiento
correspondiente a la
dieta C.

Tiempo (días)	3	7	11	14	18	21
Δ Peso (g)	-1.9	-7.81	-10.16	-11.76	-11.92	-12.86
σ Desviación estandar	1.20	2.14	0.86	1.20	2.91	2.20

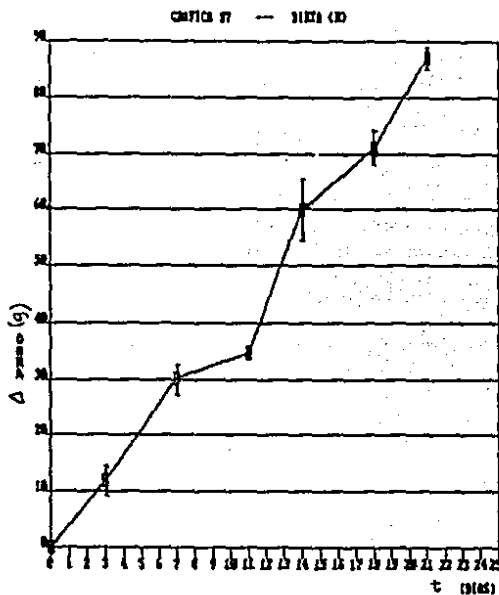


Curva de crecimiento correspondiente a la dieta D.

Tiempo (días)	3	7	11	14	18	21
Δ Peso (g)	12.08	28.5	48.56	67.87	84.87	99.88
σ Desviación (n) estándar	2.14	2.94 (5)	1.75 (4)	3.63	4.63 (5)	4.19



Tiempo (días)	3	7	11	14	18	21
Δ Peso (g)	14.32	30.76	48.76	64.91	80.97	93.92
Desviación (n) estandar	1.27 (5)	3.85 (5)	5.42	3.66	4.78	5.61



Curva de crecimiento correspondiente a la dieta R.

Tiempo (días)	3	7	11	14	18	21
Δ. Peso (g)	11.93	30.78	34.64	59.7	71.02	87.07
σ Desviación (n) estándar	3.01	3.48	1.56 (3)	7.37 (5)	3.95 (5)	2.27 (4)

5.4 Porcentaje de Eficiencia Calórica para el crecimiento.

Tabla # 8

Valores de P.E.R. y % ECC correspondientes a cada una de las dietas.

Densidad calórica	Dieta	Porcentaje proteína	P.E.R.	% ECC
4.44	A	10	2.58 ± 0.51	5.81 ± 1.16
4.62	B	15	2.51 ± 0.16	8.15 ± 0.54
5.54	D	15	2.79 ± 0.22	7.57 ± 0.61
5.01	E	15	2.67 ± 0.24	8.01 ± 0.74
4.65	R	23.82	1.14 ± 0.27	6.32 ± 1.04

Donde:

P.E.R. = Relación de Eficiencia de Proteína.

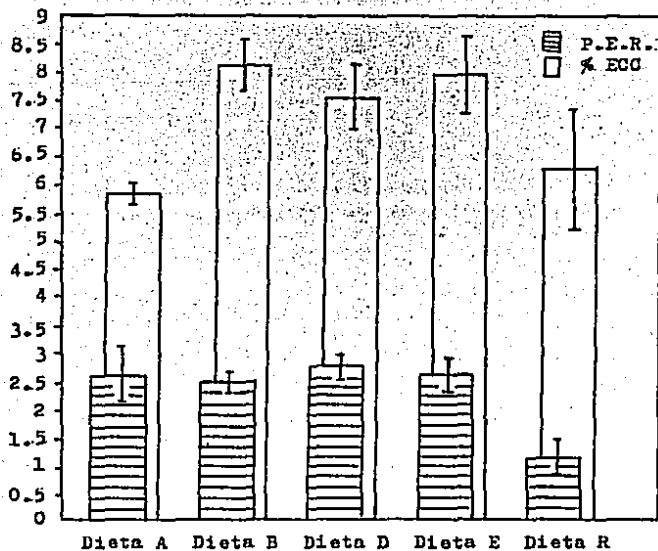
% ECC = Porcentaje de eficiencia calórica para el crecimiento.

Al observar la tabla #8 a simple vista se podría afirmar que la densidad calórica de la dieta sí influye en el aprovechamiento de las proteínas, ya que el valor más alto de P.E.R. lo muestra la dieta D, que es la que contenía un alto nivel calórico con un 15% de proteína.

Ya que toda prueba biológica implícitamente presenta variabilidad, es conveniente reportar los resultados, como el valor promedio con sus respectivas desviación estándar; ya que esta puede influir de tal manera que la diferencia al comparar las variables de respuesta (P.E.R.), no sea estadísticamente significativa. Por esta razón se construyó la gráfica # 8.

Grafica # 8

Valores promedio de P.E.R. y % ECC, con sus respectivas desviaciones estandar.



P.E.R. = Relación de Eficiencia de Proteína

% ECC = Porcentaje de eficiencia calórica para el crecimiento

Al analizar la gráfica # 8, se observa que las barras que corresponden a los valores de P.E.R., no muestran una diferencia significativa estadísticamente hablando, ya que al observar la variación que presenta, se nota que hay un traslape de datos, a excepción de la dieta R, como era de esperarse, ya que ésta última aparte de indicarnos que la fuente de proteína no es de buena calidad, presentó una baja densidad calórica.

Por lo que respecta a las barras que corresponden a los porcentajes de eficiencia calórica para el crecimiento (%EC) el comportamiento de estas, muestra una diferencia de la dieta A con respecto a las otras dietas (B, P, E), lo cual quiere decir que un bajo nivel calórico (4.44 Kcal/g) no muestra una respuesta óptima en el aprovechamiento del alimento ingerido. Para comprobar lo anterior se realizó una prueba de "t" de Student, comparando la dieta A con cada una de las otras dietas. Al realizarla se encontraron los siguientes resultados, que se muestran en la tabla # 9.

Tabla# 9

Valores de "t" experimental y crítica de cada
una de las dietas.

Dieta	"t" experimental	"t" crítica
A	4.4644	3.1693
B	3.2845	3.1693
D	3.7021	3.1693
E	3.3022	3.1693

* = 0.01 = 99% de confiabilidad

Al analizar los datos de la tabla # 9, se puede apreciar - que todas las "t"s experimentales muestran valores más altos que las "t"s críticas, con lo cual vemos que si hay diferencia, hablando ya, estadísticamente por lo que respecta al aprovechamiento del alimento ingerido con una dieta con un contenido bajo en nivel calórico (4.44 Kcal/g) en comparación con dietas de medio y alto nivel calórico, ----- 4.62 Kcal/g y 5.54 Kcal/g respectivamente.

CAPITULO VI

VI . CONCLUSIONES.

Por lo que respecta a la Bomba Calorimétrica, podemos afirmar que es un aparato confiable y además que facilita de -- una manera significativa el trabajo del investigador y le -- ahorra tiempo. Con esto nos referimos a que si se tuviera que determinar el contenido calórico de cualquier alimento o sustancia por métodos tradicionales, llevaría mucho tiempo su determinación, ya que primero se tendría que realizar un análisis bromatológico para poder determinar la cantidad de grasa (lípidos), carbohidratos y proteínas que contiene para más tarde poder traducir estos resultados a valores ca lóricos. De otro modo, utilizando la Bomba Calorimétrica -- el resultado lo obtenemos en cuestión de minutos.

Aunque este aparato proporciona el valor exacto del conteni do energético de los alimentos, no se puede utilizar este -- valor tal cual, es decir, como cantidad de energía propor-- cionada al organismo, ya que al entrar dicho alimento en el organismo sufre transformaciones, las cuales llevan consigo un gasto de energía y además muchos de sus componentes son metabolizados y varios de sus productos finales no son apro-- vechados por el organismo, sino que son eliminados por me-- dio de secreciones de éste. En otras palabras no toda la energía que produce el alimento al llevarse a cabo la com-- bustión es asimilable.

Los valores obtenidos por medio de la Bomba Calorimétrica - nbs proporcionan un dato bastante cercano al real, puesto - que el valor de combustión real y el valor en el organismo guardan una relación directamente proporcional.

Por lo que se refiere a los niveles calóricos, podemos afir - mar que con un bajo contenido calórico (4.44 Kcal/g) no hay aprovechamiento óptimo del alimento ingerido, lo cual puede afectar el crecimiento, y que con un alto contenido calóri - co (5.54 Kcal/g) hay un mejor aprovechamiento del alimento ingerido, ya que en comparación con un bajo contenido caló - rico (4.44 Kcal/g), el primero muestra un valor de P.E.R. - superior al segundo. Pero para poder determinar de que ma - nera influye el contenido energético del alimento en el cre - cimiento del animal se tiene que utilizar un rango mas am - plio de niveles calóricos.

C A P I T U L O V I I

VII. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Hemminger, W. Historical notes on Calorimetry. (Inst. Werkstoffkunde und Herestellungsverfahren, Tech. --- Univ. Braunschweig. FRG). *Thermochemica Acta*, ----- 40(1):41-62, 1980.
- 2.- Hajiev, S.N.; Kerimov, K.K.; Hajieva, F.S. and Ignateyv, V.L. Advances in experimental Thermochemistry. A Modern Bomb Calorimeter. (Kusbas Polytech. Inst. 650026 -- Kemerovo, U.S.S.R.) *J. Chem. Thermodyn.* 12(6):509-519, 1980.
- 3.- Ames, Stanley R. The Joule - Unit of Energy. ----- *J. Am. Diet. Assoc.* 57:415-416, 1970.
- 4.- Harper, A. E. Remarks on the Joule. *J. Am. Diet. Assoc.* 57:416-418, 1970.
- 5.- Konoshi, Frank Ph. D. Food Energy Equivalents of ---- various Activities. *J. Am. Diet. Assoc.* 46:186-188, 1965.
- 6.- Barral, Edward M. and Dawson Barbara. Techniques for - improving the performance of the Perkin-Elmer scanning Calorimeter. *Thermochemica Acta.* 8(1-2):83-92, 1974.
- 7.- Calorie Requirments. Report of the Second Committe on Calorie Requirments. Food and Agriculture organization of the United Nations. F.A.O. Nutritional Studies.
- 8.- Robinson, H. Corinne. Fundamentos de Nutrición Normal. C.E.C.S.A. 1a. ed. México. pp. 99-130, 1979.
- 9.- Ogden C. Johnson, Ph. D. Present Knowledge in Nutrition. 3a. ed. The Nutrition Foundation, Inc. E.U.A. 1967.
- 10.- Moore, Sc. D. The Calorie versus The Joule. Cambridge University. England. *J. Am. Diet. Assoc.* 59:327-330, 1971.

- 11.- La Energía: Nutrimiento Fundamental. Cuadernos de Nutrición. 5(1):13-16, 1981.
- 12.- Wilder, Russell M. Calorimetry. The Basis of the Science of Nutrition. Arch. Inter. Med. 103:146-154, - 1959.
- 13.- Whedon, G. Donald. New Research in Human Energy Metabolism. J. Am. Diet. Assoc. 35:682-686, 1959.
- 14.- Sturtevant J. M. Calorimetry and Biology. (dep. Chem.- Yale Univ. New Haven, CT 06520 U.S.A.) NATO Adv. Study Inst. Ser. Ser. C. 55(Bionerg. Thermodyn.: Model Syst.): 17-22. 1980.
- 15.- Flatt, William P. Methods of Calorimetry. B. Indirect. (Anim. Husb. Res. Serv. Deltville, Md.) Nutr. Anim. -- Agr. Importance. 1:491-520, 1969.
- 16.- Biliardires, Costas G. Differential Scanning Calorimetry in Food Research - a review. Food Chem. 10(4):239-265, 1963.
- 17.- Quintin Olascoaga, José Dr. Tablas de valores Nutritivos para Calculos Dietéticos. México, D.F. 5-21, 1967.
- 18.- Campbell J. A. Dr. Suggested Methods for determining -- of Protein Efficiency Ratio (P.E.R.) and Possible Toxic effects. The Pag Compendium. Worldmark Press, Ltd. -- New York. Vol D:692-693, 1975.
- 19.- League of Nations, Health Organizations. Series of League of Nations Publications. 111 Health. Sec. 65-77, 1937.
- 20.- Swift, R. W. et. al.: The Effects of High versus Low Protein Equicaloric Diets on the Heat Production of Human Subjects. J. Nutr. 65:89-102, 1985.
- 21.- Pratt, A. W.: A small-animal analytical respirometer. - J. Nat. Cancer Inst. 20:161, 1958.

- 22.- Gay, W. I. Methods of animal experimentatiton. Academic Press. N. Y. Vol. V., 1974.
- 23.- Fag Compendium. Worldmark International Documentation. Worldmark Press Ltd. N.Y. Vol. D:653, 1975.
- 24.- Hernández Lerma, Onésimo. Elementos de Probabilidad y Estadística. Edit. Fondo de Cultura Económica. México. pp. 350, 1979.