

TÍTULO DEL PROYECTO

Correlación de la digestibilidad aparente de harina de garbanzo en ratones de laboratorio y *Saccharomyces cerevisiae* como organismo modelo

SIGLAS

DARSC

TIPO DE PROYECTO

Aplicada

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

LINCAP

DURACIÓN ESTIMADA

Fecha de inicio: 01/08/2019 Fecha de término: 30/06/2020

PARTICIPANTES

- VASQUEZ VILLALOBOS VICTOR JAVIER (COORDINADOR(INV. PRINCIPAL)) — 000000772
- MANRIQUE AMAYA YOMARY SILVANA (ESTUDIANTE) — 000135805

INSTITUCIÓN O LUGAR A EJECUCARSE

- UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO - UPAO (Ingeniería en Industrias Alimentarias)

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existirá correlación de la Digestibilidad Aparente de harina de garbanzo en ratones de laboratorio (*Mus musculus*) y *Saccharomyces cerevisiae* como organismo modelo?

II. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

La calidad de la dieta está relacionada con respuestas de animales (a menudo ratas) después de su alimentación con proteína, lo cual tiene la ventaja de reflejar el suministro de aminoácidos y la digestibilidad de la proteína, que son dos factores importantes en la evaluación proteica. Siendo importante para la proteína dietética considerar la demanda de aminoácidos y su digestibilidad potencial (Boye *et al.*, 2012). El análisis de balance de nitrógeno en ratas, tales como evaluación de digestibilidad, puede proporcionar resultados que son más directamente relevantes a los seres humanos (Schaafsma, 2012).

En 1989, consultores expertos sobre evaluación de la calidad de la proteína de la FAO/WHO recomendaron el uso del método de Digestibilidad de la Proteína Corregida por la Puntuación de

Aminoácidos (*Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score* PDCAAS), que considera tanto el contenido del aminoácido indispensable en el test de proteína y su digestibilidad (Schaafsma, 2012; Boye *et al.*, 2012; Leser, 2013). La digestibilidad ileal es más apropiada para la cuantificación de la digestión, debido a que la digestibilidad verdadera de nitrógeno fecal, no toma en cuenta los aminoácidos esenciales que se pierden en el colon, a través de la actividad de la flora intestinal (Schaafsma, 2012).

Sin embargo, ensayos de ratas para digestibilidad verdadera se han utilizado, en parte debido a su practicidad en comparación con el uso de cerdos con fistura ileal. Por otro lado, experimentos *in vivo* tienen altos costos y mayor tiempo para el desarrollo experimental (aproximadamente 10 días como mínimo), así como objeciones éticas por el uso de animales. Por esta razón, el empleo de métodos alternativos *in vitro* deben ser considerados y desarrollados para mejorar las correlaciones con los ensayos *in vivo* (Tavano *et al.*, 2016).

En una consulta de Expertos de la FAO/WHO sobre evaluación de la calidad de proteínas en nutrición humana se acordó entre otros, revisar las ventajas y desventajas de los métodos alternativos para evaluar la calidad de la proteína y recomendar investigaciones adicionales sobre la valoración de la calidad de las proteínas de acuerdo con las necesidades emergentes o con los nuevos progresos científicos (FAO-FINUT, 2017). Los mismos expertos respecto a consideraciones sobre digestibilidad, encontraron similitudes en la capacidad de humanos y ratas para digerir alimentos, concluyendo que la digestibilidad verdadera de la proteína cruda (DV) es una aproximación razonable para la DV de la mayoría de los aminoácidos (determinado por el método nitrogenado en la rata) en dietas basadas en fuentes animales de proteína, cereales, semillas oleaginosas, legumbres o mezclas de fuentes de proteína. Recomendando asimismo que el método de balance nitrogenado, en la rata era el método práctico más aconsejable para predecir la digestibilidad de la proteína en humanos.

En este sentido los organismos modelo podrían constituir una posible alternativa para simular o entender procesos propios de los seres humanos. Según Karathia *et al.* (2011) el uso de organismos modelo para la investigación es un rasgo distintivo de la actividad científica. Los cuales se utilizan debido a que: a) pueden ayudar a superar las limitaciones éticas y experimentales, b) proporcionan un marco que permiten desarrollar y optimizar métodos analíticos para facilitar y estandarizar los análisis y, c) pueden representar una clase más grande de los seres vivos para cualquier proceso o fenómeno biológico de interés de la comunidad. Sin embargo, la elección de un organismo modelo es a menudo guiada más por las dos primeras consideraciones, que por la última de ellas. Sin embargo, la selección de un organismo modelo basado en la experiencia técnica acumulada y en la disponibilidad de técnicas experimentales, no garantiza resultados representativos en otros organismos. En realidad, existe una brecha en el establecimiento de forma sistemática de cuan cercanos o diferentes organismos son con respecto a un determinado proceso, por lo que se debe dilucidar antes de elegir uno de ellos, como un modelo para el estudio de ese proceso. Tal elección debe tener en cuenta varias consideraciones. Primeramente, los procesos de interés para la comparación, deben ser claramente identificados.

Debiéndose establecer una medida cualitativa o cuantitativa para estimar la similitud entre los diferentes organismos con respecto a los procesos. Finalmente, los procesos de interés deben ser suficientemente bien caracterizados en los organismos alternativos, para que la medida pueda utilizarse para la comparación. Si se realiza rigurosamente, el uso del modelo, estaría caracterizado previamente como una herramienta extrapolable. De hecho, esta caracterización es el propósito de usar un organismo modelo. Por lo tanto, métodos que predicen racionalmente cómo similar, diferentes organismos, podrían ser necesarios con respecto a lo biológico en procesos de interés (Karathia *et al.*, 2011).

En este sentido un organismo de interés es la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*), la cual es uno de los organismos modelo eucariotas más utilizadas. Se ha utilizado como modelo para estudiar el envejecimiento, regulación de la expresión génica, señales de transducción, ciclo celular, metabolismo, apoptosis, enfermedades neurodegenerativas y muchos otros procesos biológicos. Existen hasta el 30% de genes implicados en enfermedades humanas pueden tener ortólogos (secuencias homólogas) en el proteoma de levadura (Karathia *et al.*, 2011). Aproximadamente el 47% de los genes esenciales de la levadura pueden ser reemplazados por sus genes ortólogos humanos, lo que indica que la levadura y el gen humano están muy conservados (Kachroo *et al.* 2015). Tucker & Fields (2001) sostienen que debido a estas características ventajosas, la levadura se ha utilizado como una herramienta experimental para muchos estudios biológicos. El análisis de dos híbridos en levadura, han sido utilizados para su identificación a través de la interacción de biomoléculas funcionales mediante la interacción proteína-proteína. La levadura también se ha utilizado para el cribado de inhibidores químicos de proteínas humanas. Se han desarrollado varios métodos de cribado de alto rendimiento, tales como el cribado de estrógeno de levadura (Tucker & Fields, 2001).

Utilizando un modelo metabólico simple de *S. cerevisiae*, se ha encontrado una relación entre la tasa de absorción de amonio y la tasa de crecimiento de la biomasa teórica constante. Reportándose que el contenido de nitrógeno (relacionado con la producción de biomasa) no fue afectada claramente por la relación de C/N para las condiciones de experimentales, donde al parecer no existe limitación de N. Sin embargo un valor bajo para la tasa de crecimiento mostró un alto contenido de N en la biomasa. En muy bajas concentraciones de N el contenido de proteína permaneció en el nivel más bajo y el rendimiento fue afectado (Rodríguez *et al.*, 2004).

Meng *et al.* (2017) estudiaron la actividad antioxidante de fitoquímicos dietéticos utilizando *S. cerevisiae* como modelo. Reportaron las características antioxidantes de los componentes dietéticos en la levadura, utilizando yerba mate, té verde, propóleos, arándanos, achicoria roja, resveratrol, catequina, quercitina entre otros. Habiendo encontrado ciertas ventajas como: tiempo de generación corto y facilidad para el cultivo, así como observaron que la división y el crecimiento pueden ser controlados con eficacia, y que el sistema de desintoxicación ROS (*Reactive Oxygen Species*) se conserva altamente en la levadura. Concluyéndose que las investigaciones en la levadura son económicas y tienen un gran potencial para aplicaciones industriales. Entre las limitaciones se tiene: que el metabolismo y la absorción pueden ser

diferentes en el cuerpo humano, asimismo que los niveles y concentraciones eficaces pueden ser diferentes. La levadura es un organismo unicelular y el humano es un organismo multicelular, y que la dieta fotoquímica no puede dirigirse con precisión a los tejidos o células en el cuerpo humano.

Dolezalova & Rumlova (2014) realizaron una prueba biológica de toxicidad de agua basada en el seguimiento de los cambios de la conductividad específica de la suspensión de *S. cerevisiae* como resultado de la inhibición de actividad de fermentación de levadura en condiciones tóxicas.

Los medios de cultivo son factores ambientales importantes en el crecimiento microbiano y afectan fuertemente varios procesos metabólicos celulares. En este sentido Kim & Kim (2017) utilizando metabolómica, investigaron el efecto de medios simples (caldo de nitrógeno a base de levadura) y complejo (caldo YP: extracto de levadura y peptona) en los perfiles metabólicos intracelulares de *S. cerevisiae*. Los medios tuvieron 2% de glucosa como única fuente de carbono. Cultivadas en estos medios, los análisis fueron realizados por cromatografía de gases/espectrometría de masas con tiempo de vuelo. De los metabolitos intracelulares, 120 fueron identificados en la levadura, los niveles de aminoácidos, esenciales para la síntesis de proteína y el crecimiento celular, fueron significativamente mayores en los organismos que se desarrollaron en el cultivo con medio complejo, comparados con los que se desarrollaron en medio simple. En contraste, los niveles de azúcares, alcoholes de azúcar y los ácidos grasos, fueron significativamente superiores en los organismos cultivados en medios simples, comparados con los cultivados en medio complejo. En este sentido los perfiles de metabolitos intracelulares demostraron ser dependientes del tipo de medios de cultivo. Estos resultados sugieren que las células preparan su metabolismo de supervivencia en medio simple, considerando que están activamente comprometidos para un rápido crecimiento en medio complejo.

Oprea *et al.* (2014) investigaron la acción quimioprotectiva de extractos de arándano contra la toxicidad de cadmio usando una cepa de *S. cerevisiae* extremadamente sensible al cadmio. Utilizaron cuatro variedades de arándanos, encontrando que los extractos con elevado contenido de antocianidinas totales, exhiben un efecto protector significativo contra la toxicidad del cadmio y H_2O_2 . Tanto los extractos de los arándanos, como el flavonoide cianidina pura, exhibieron efectos protectores contra el cadmio en forma de dosis dependiente, sin interferir significativamente con la acumulación de cadmio en las células de levadura.

Haraldsson *et al.* (2005) estudiaron la hidrólisis del fitato extracelular (mio-inositol hexakisfosfato, InsP6) con cepas de levadura de alta fitasa y su supervivencia en condiciones digestivas simuladas, utilizando levadura en medio de cultivo dextrosa peptona y trigo como alimento modelo. La digestión *in vitro* fue modificada para mejor correlación con el gradiente del pH gástrico, simulando el consumo del alimento *in vivo*. *S. cerevisiae* ha demostrado ser notablemente ácido tolerante, resistir valores de pH tan bajos como 1.0 hasta por 4 h. También ha demostrado sobrevivir a las enzimas gástricas, sales biliares y cambios en el pH producidos en

una simulación de digestión humana (Scevola *et al.*, 2003). La levadura de alta fitasa produjo una fuerte reducción de fitato (mio-inositol hexakisfosfato InsP6 (60%) en la fase gástrica temprana, comparada con la no degradación por cepas de tipo salvaje. El nivel de degradación durante la digestión del InsP6, fue influenciado por el tipo de cepa, densidad celular y concentración de InsP6. A pesar de la alta solubilidad del InsP6, se observó alta resistencia a la proteólisis por pepsina, elevada supervivencia celular y la degradación en las últimas fases intestinales gástricas y tempranas, fue insignificante. La dependencia del pH para expresión de la fitasa, parece ser un factor importante y limitante. Los resultados demuestran el potencial del uso de la levadura como un portador de fitasa en el tracto gastrointestinal.

III. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO (IMPORTANCIA, BENEFICIARIOS, RESULTADOS ESPERADOS)

La alimentación humana es un aspecto cada día de mayor interés y responsabilidad, frente a un entorno de mayor necesidad, disponibilidad, así como de calidad. Ocupando un lugar de suma importancia la forma de determinar la cantidad y calidad de proteínas para satisfacer las necesidades nutricionales humanas con el objeto de mantener la salud y bienestar las poblaciones (FAO-FINUT, 2017). La calidad de proteína en la dieta se mide utilizando una variedad de métodos, muchos de los cuales están relacionados con respuestas de animales (a menudo ratas) después de su alimentación con proteína. Durante muchos años, han sido empleados Test de crecimiento utilizando ratas (PER: Protein Efficiency Ratio, NPR: Net Protein Ratio o NPU: Net Protein Utilization), estas pruebas sufren la desventaja que las ratas pueden presentar necesidades diferentes de aminoácidos que los seres humanos. Experimentos *in vivo* (con ratas) tienen altos costos y mayor tiempo para el desarrollo experimental (aproximadamente 10 días como mínimo), así como objeciones éticas por el uso de animales. Por esta razón es de importancia, el empleo de métodos alternativos *in vitro* deben ser considerados y desarrollados para mejorar las correlaciones con los ensayos *in vivo* (Tavano *et al.*, 2016). En una consulta de Expertos de la FAO/WHO sobre evaluación de la calidad de proteínas en nutrición humana se acordó entre otros, revisar las ventajas y desventajas de los métodos alternativos para evaluar la calidad de la proteína y recomendar investigaciones adicionales sobre la valoración de la calidad de las proteínas de acuerdo con las necesidades emergentes o con los nuevos progresos científicos (FAO-FINUT, 2017). En este sentido los organismos modelo podrían constituir una posible alternativa para simular o entender procesos propios de los seres humanos. Un organismo de interés es la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la cual es uno de los organismos modelo eucariotas más utilizadas. Tucker & Fields (2001) sostienen que la levadura se ha utilizado como una herramienta experimental para muchos estudios biológicos, y en este sentido en el presente proyecto de investigación, se plantea utilizar *S. cerevisiae* como organismo modelo para determinar la digestibilidad proteica *in vitro* de harina de garbanzo, y correlacionarlo con el método tradicional *in vivo* que utiliza ratas o ratones de laboratorio. De corroborarse una buena correlación, se tendrá una alternativa de bajo costo para evaluar la digestibilidad de alimentos, lo

que ayudaría a superar limitaciones y objeciones éticas por el uso de animales.

III. FUNDAMENTACIÓN DE LAS ACTIVIDADES NO LECTIVAS

La parte microbiologica se realizara en el laboratorio de industrias alimentarias, fuera de las horas de trabajo de la institucion principal donde se labora (UNT), por ser profesor contratado. La parte de ensayos con ratones de laboratorio se hara el seguimiento de las pruebas en bioterio externo a la UPAO.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General (propósito del proyecto)	Resultados Finales	Medios de verificación
Determinar la correlación estadística de la Digestibilidad Aparente (DA) de la harina de garbanzo (HG) en ratones de laboratorio y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como organismo modelo	R1: correlación estadística de la DA de la HG en ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo.	MV1: Informe final incluyendo hoja de cálculo de la correlación estadística e histograma de la DA de los diferentes tratamientos.
Objetivo Específicos (componentes)	Resultados intermedios	Medios de verificación

<ul style="list-style-type: none"> - Determinar la DA de HG utilizando <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo. - Determinar la DA de HG utilizando ratones de laboratorio. - Establecer la correlación estadística de la DA de HG en ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo. 	<p>P1: Obtener resultados de la DA de <i>S. cerevisiae</i> a partir de medios a base de 16, 12, 8 y 4% de HG.</p> <p>P2: Obtener resultados de la DA de ratones de laboratorio a partir de dietas a base de 16, 12, 8 y 4% de HG.</p> <p>P3: obtener la correlación estadística de la DA de HG en ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo.</p>	<p>MV1: Recuento del crecimiento de <i>S. cerevisiae</i> en medios base de 16, 12, 8 y 4% de HG.</p> <p>MV2: DA de ratones de laboratorio a partir de dietas a base de 16, 12, 8 y 4% de HG.</p> <p>MV3. Hoja de cálculo del análisis estadístico de la DA de HG entre ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo.</p>
--	--	---

IV. OBJETIVOS

<p align="center">Objetivo General</p> <p align="center">(propósito del proyecto)</p>	<p align="center">Resultados Finales</p>	<p align="center">Medios de verificación</p>
<p>Determinar la correlación estadística de la Digestibilidad Aparente (DA) de la harina de garbanzo (HG) en ratones de laboratorio y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como organismo modelo</p>	<p>R1: correlación estadística de la DA de la HG en ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo.</p>	<p>MV1: Informe final incluyendo hoja de cálculo de la correlación estadística e histograma de la DA de los diferentes tratamientos.</p>
<p align="center">Objetivo Específicos</p> <p align="center">(componentes)</p>	<p align="center">Resultados intermedios</p>	<p align="center">Medios de verificación</p>

<ul style="list-style-type: none"> - Determinar la DA de HG utilizando <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo. - Determinar la DA de HG utilizando ratones de laboratorio. - Establecer la correlación estadística de la DA de HG en ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo. 	<p>P1: Obtener resultados de la DA de <i>S. cerevisiae</i> a partir de medios a base de 16, 12, 8 y 4% de HG.</p> <p>P2: Obtener resultados de la DA de ratones de laboratorio a partir de dietas a base de 16, 12, 8 y 4% de HG.</p> <p>P3: obtener la correlación estadística de la DA de HG en ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo.</p>	<p>MV1: Recuento del crecimiento de <i>S. cerevisiae</i> en medios base de 16, 12, 8 y 4% de HG.</p> <p>MV2: DA de ratones de laboratorio a partir de dietas a base de 16, 12, 8 y 4% de HG.</p> <p>MV3. Hoja de cálculo del análisis estadístico de la DA de HG entre ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo.</p>
--	--	---

V. MARCO TEÓRICO

Digestibilidad proteica

La evaluación de la calidad de las proteínas tiene como objetivo determinar la capacidad de las fuentes alimentarias para satisfacer los requerimientos de proteína y nitrógeno amínico de los aminoácidos indispensables, para satisfacer las necesidades metabólicas de aminoácidos y nitrógeno. Los requerimientos de proteína se definen como la ingesta necesaria para satisfacer las necesidades metabólicas para el mantenimiento del organismo, que a su vez está indicado por el equilibrio nitrogenado en los grupos de edad correspondiente más los requerimientos asociados con las necesidades proteicas para el crecimiento normal de lactantes y adolescentes, y para mujeres embarazadas y durante la lactancia. De esta manera las únicas medidas válidas de calidad de las proteínas para humanos son las que valoran directamente la eficacia de las diferentes fuentes proteicas para el crecimiento normal. Sin embargo, la valoración de la calidad de las proteínas en los grupos de población humana se han basado en los enfoques indirectos que implican tanto ensayos *in vitro* como estudios metabólicos en animales o humanos (FAO-FINUT, 2017).

La calidad de proteína en la dieta se mide utilizando una variedad de métodos, muchos de los cuales están relacionados con respuestas de animales (a menudo ratas) después de su alimentación con proteína. Estos métodos tienen la ventaja de reflejar el suministro de aminoácidos y la digestibilidad de la proteína, que son dos factores importantes en la evaluación

proteica. Para proteína dietética se considera importante considerar la demanda de aminoácidos y su digestibilidad potencial (Boye *et al.*, 2012). Durante muchos años, han sido empleados Test de crecimiento utilizando ratas (PER: *Protein Efficiency Ratio*, NPR: *Net Protein Ratio* o NPU: *Net Protein Utilization*), estas pruebas sufren la desventaja que las ratas pueden presentar necesidades diferentes de aminoácidos que los seres humanos. En este sentido, el análisis de balance de nitrógeno en ratas, tales como evaluación de digestibilidad, puede proporcionar resultados que son más directamente relevantes a los seres humanos (Schaafsma, 2012).

En 1989, consultores expertos sobre evaluación de la calidad de la proteína de la FAO/WHO recomendaron el uso del método de Digestibilidad de la Proteína Corregida por la Puntuación de Aminoácidos (*Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score* PDCAAS), que considera tanto el contenido del aminoácido indispensable en el test de proteína y su digestibilidad (Schaafsma, 2012; Boye *et al.*, 2012; Leser, 2013). La digestibilidad ileal es más apropiada para la cuantificación de la digestión, debido a que la digestibilidad verdadera de nitrógeno fecal, no toma en cuenta los aminoácidos esenciales que se pierden en el colon, a través de la actividad de la flora intestinal (Schaafsma, 2012).

Expertos de la FAO-FINUT (2017) respecto a consideraciones sobre digestibilidad, encontraron similitudes en la capacidad de humanos y ratas para digerir alimentos, concluyendo que la digestibilidad verdadera de la proteína cruda (DV) es una aproximación razonable para la DV de la mayoría de los aminoácidos (determinado por el método nitrogenado en la rata) en dietas basadas en fuentes animales de proteína, cereales, semillas oleaginosas, legumbres o mezclas de fuentes de proteína. Recomendando asimismo que el método de balance nitrogenado, en la rata era el método práctico más aconsejable para predecir la digestibilidad de la proteína en humanos.

Ratones de laboratorio

El uso de animales de laboratorio en estudios de investigación biomédica y producción de reactivos biológicos en general, requiere que éstos sean los apropiados para que proporcionen la seguridad en los resultados esperados, para ello, es necesario contar con bioterios que brinden animales de calidad microbiológica y genéticamente definidos mantenidos bajo condiciones estandarizadas y de acuerdo con normas internacionales establecidas. El animal de laboratorio tiene que ser respetado como ser vivo, entender que padece necesidades y sufre dolor, por ley es obligación del personal que lo cuida, mantiene y utiliza (investigador), asegurar su bienestar y confort mientras viva. El animal de laboratorio es aquel que: Es engendrado y producido en condiciones controladas, mantenido en un entorno controlado, posee claros antecedentes genéticos y microbiológicos, existe una comprobación sistemática de estos antecedentes. El ratón de la especie *Mus musculus*, posee ventajas de su uso como animal de laboratorio debido a que: Es de fácil cuidado y mantenimiento, pequeño tamaño, tiene bajo costo de manutención, cepa definida, posee diversidad de características específicas que sirven como modelo, posee eficiencia reproductiva, vida relativamente corta porque es excelente para su uso en ensayos

crónicos de toxicología, microbiología, virología, farmacología, etc., corto tiempo de generación (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010).

El ratón de laboratorio puede ser considerado entre otros animal haloxénico (tradicionalmente convencional). Son animales mantenidos sin ningún proceso especial (instalaciones abiertas) tradicionalmente llamados convencionales. Deben estar libres de toda evidencia de enfermedades infecciosas, especialmente las trasmisibles al hombre, tanto en el examen clínico como en el post mórtem. Se refiere a las siguientes entidades biológicas: Toda *Salmonella* y *Shigella*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Leptospira* spp., Dermatofitos, *Sarcoptes scabiei*, Virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCM) (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010).

El ratón doméstico es una especie cosmopolita, se adapta a una gran variedad de condiciones ambientales, desde zonas muy frías hasta regiones tropicales. En general, las especies prefieren ambientes más secos que húmedos. Es un mamífero de sangre caliente, de hábitos nocturnos y su comportamiento está influenciado por feromonas. Posee un agudo sentido de la audición, por lo que se alteran rápidamente con los ruidos, es por ello que hay que tener cuidado con los equipos que se utilizan. Su sentido del olfato está muy desarrollado, no sólo para detectar comida y depredadores, sino también para percibir un orden social. Su visión es muy pobre y no pueden percibir los colores. En la órbita del ojo posee unas glándulas con forma de herradura llamadas glándulas Harderianas, cuando el ratón está en estrés, excreta en la zona periorcular una sustancia de color marrón llamada porfirina. El sistema social depende de la densidad de población, viven en grandes colonias y el rango social está bien desarrollado. Generalmente, son muy dóciles a excepción de algunas cepas exocriadas que mantienen su agresividad, al igual que sus antecesores salvajes. Por su pequeño tamaño son muy susceptibles a cambios ambientales, puesto que una variación de la temperatura entre 2 a 3°C, puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología. El tamaño del ratón adulto varía entre 12 a 15 cm desde la punta de la nariz a la punta de la cola; el largo de la cola es igual al largo del cuerpo y con un peso aproximado de 30 gr. Las crías al nacer tienen un peso aproximado de 1 a 2 g y gana rápidamente peso durante la lactancia. Tienen una vida útil de 10 a 12 meses y se obtiene de ocho a diez camadas (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010).

El ratón es un animal sociable y se mantiene en grupos sin ningún inconveniente, estos grupos deben formarse rápidamente luego del destete. Sin embargo, los machos de algunas cepas comienzan a mostrar su agresividad entre la séptima y décima semana de edad, aun cuando estos grupos se hayan establecido al destete. En el grupo de machos existe uno dominante que puede ser muy agresivo. Las hembras generalmente no pelean, incluso cuando se hayan agrupado siendo ya adultas. El acto de comer es cíclico, con un pico máximo durante el periodo de oscuridad. El mayor consumo de agua es durante las horas de oscuridad. El consumo de alimento y agua varía entre las cepas de ratones. El ratón generalmente divide su caja en áreas específicas para dormir, comer, orinar y defecar. Las hembras parturientas construyen un nido y permanecen mucho tiempo cerca de él o sobre las crías (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010).

Al nacer el ratón pesa entre uno y dos gramos, nacen con los ojos y oídos cerrados, sin pelos y son muy activos. Al tercer día comienza a observarse el desarrollo del pelaje, llegando a cubrirse totalmente desde los siete a diez días. A los 12 días empiezan a abrir los ojos y el conducto auditivo externo, entre los días 13 y 14 inician a ingerir alimento sólido y agua del bebedero. Generalmente se les desteta a los 21 días de edad con un peso de aproximadamente 11 a 14 gramos (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010).

Ética de la experimentación animal

El tema ético compete a todos los individuos pero, con mayor razón, a los involucrados en la investigación biológica, desde el auxiliar a cargo de los animales hasta el directivo de la institución productora o usuaria. La primera condición del científico que trabaja con animales de laboratorio es el respeto por la vida, el dolor o el sufrimiento a que éstos pueden ser sometidos en los trabajos de experimentación bajo su responsabilidad. Siempre que se usen animales en investigación, se debe considerar que un objetivo tan importante como el de obtener resultados experimentales, será el de minimizar cualquier dolor o angustia que dichos animales puedan sufrir. El refinamiento de los procedimientos para conseguir que estos no causen sufrimiento debe ser parte integrante de toda investigación científica. Esto es importante tanto desde el punto de vista de la preocupación humanitaria como para cumplir con los requisitos de la legislación sobre animales de investigación. Los investigadores que trabajen y experimenten con animales están moralmente obligados a manifestarles tres tipos de actitudes: respeto, afecto y gratitud. Respeto: por tratarse de seres vivos y sensibles, que están experimentando sufrimiento y podrían terminar perdiendo la vida, tratárseles con todas las consideraciones que el caso merece. Afecto: considerándolos partícipes con nosotros, del misterio de la vida. Gratitud: reconocimiento por la importante ayuda al constituirse nuestros más íntimos colaboradores. La investigación biomédica en animales es éticamente aceptable, si se sigue el principio de las tres R de la experimentación humanizada para con los animales, propuesta por William Russell (zoólogo y psicólogo) y Rex Burch (microbiólogo) en 1959: Reducir, Reemplazar y Refinar. Reducir, al máximo el número de ellos y, por ende, el total de animales utilizados en investigación. Reemplazar, siempre que sea posible el animal de experimentación por otro modelo experimental, cuando no resulte imprescindible el uso de animales. Refinar, los métodos y técnicas utilizados de modo que produzcan al animal el menor sufrimiento posible. En la práctica, el cuidado de los animales de laboratorio recae en varias personas, pero legalmente y dependiendo de las leyes del país donde se lleve a cabo el estudio, la responsabilidad final con frecuencia recae en el investigador principal que esté realizando el procedimiento científico (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010).

Los ratones se alojan en cajas o jaulas especialmente diseñadas para facilitar su bienestar, pueden ser de metal o de plástico (polipropileno, policarbonato, poliestireno y polisulfano), provistas de tapas de acero inoxidable con o sin filtro. La altura de las paredes de la caja no debe ser menor de 12.7 cm. Debe tener las siguientes características: Proporcionar espacio adecuado, ser cerrado, seguro y protegerlo de las amenazas externas. Ser adecuado en ventilación. Ser resistente al lavado, desinfección y esterilización frecuente. Permitir la observación del animal.

Tener pisos y paredes fáciles de limpiar (superficies lisa) y con tapa removible de rejas o perforada. Mantenerse en buenas condiciones de uso. Facilitar el acceso de los animales al agua y alimento. No presentar bordes cortantes o proyecciones que puedan causar lesiones. El tamaño de las jaulas o cajas debe ser apropiado; por ejemplo, en el caso de ratones adultos, se requiere una superficie mínima de 80 cm² por animal (Fuentes-Paredes *et al.*, 2010).

Garbanzo

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.), es una legumbre compuesta por hidratos de carbono 48.6% (almidón principalmente), proteínas 20%, fibra 15%, grasas 3.4% sin presencia de colesterol, azúcares 10.7% y agua 11.57%. Minerales principalmente fosforo, calcio, potasio, manganeso. Vitaminas A, C, E, B1, B2, B6. Su consumo resulta de gran interés para aquellas personas que poseen diabetes y necesitan controlar los niveles de azúcar en sangre. El consumo de este alimento los puede hacer menos dependiente del suministro de insulina. Poseen proteínas de menor calidad que la proteína animal porque presentan carencias en los aminoácidos triptófano, cisteína y metionina. La ventaja de las proteínas de las legumbres con respecto a las proteínas de ciertas carnes, es su riqueza en aminoácidos de más fácil digestión. La riqueza de proteínas y ácidos nucleicos está considerada como un antídoto natural contra el envejecimiento al ser capaz de renovar las células de nuestro cuerpo. Asimismo aportan proteínas sin las desventajas de las carnes que son muy ricas en grasas saturadas y colesterol. En este sentido, un consumo variado de legumbres, combinado con otros alimentos vegetales, como los cereales y las verduras, constituye una buena alternativa al consumo de proteína animal. Contienen una importante cantidad de fibra (15%), especialmente fibras solubles, que ayudan a regular el tránsito intestinal y es ideal para aquellas personas que padecen de estreñimiento. La fibra soluble, además contribuye a mejorar la circulación porque absorbe el colesterol antes que se absorba a través de los capilares del intestino, formando una especie de masa o gel que es eliminado del organismo por medio de las heces. Por su escaso contenido en sodio se pueden incluir en dietas de control de la hipertensión y presentan un marcado efecto diurético. En lo que se refiere a los ácidos grasos, el garbanzo se caracteriza por los ácidos grasos insaturados linoleico y oleico, los cuales protegen al organismo del aumento de colesterol. Poseen a su vez vitaminas y minerales, entre los que destacan el calcio, magnesio, hierro, fósforo y potasio, que ayudan a mantener las defensas altas de nuestro cuerpo. Son ricos en vitaminas del grupo B principalmente, adecuadas para un buen funcionamiento del sistema nervioso. Entre todas se destaca la niacina o vitamina B3, junto con la tiamina, la piridoxina y la riboflavina. El ácido fólico o vitamina B9 de los garbanzos, hace de este un alimento muy recomendable para su consumo en etapas de embarazo o de lactancia. Este alimento también puede ayudar a combatir los efectos perjudiciales de ciertos medicamentos que absorben la vitamina B9 y puede ayudar a personas alcohólicas o fumadores, pues estos hábitos, ocasionan una mala absorción del ácido fólico. El elevado contenido de vitamina K en este alimento hace que ingerir garbanzos sea beneficioso para una correcta coagulación de la sangre. Los garbanzos y en general las legumbres son ricas en oligosacáridos (especialmente rafinosa y estaquiosa), contenidos en sus pieles principalmente. Éstos resultan difíciles de digerir, de manera que se acumulan en el intestino. Allí son atacados

por las bacterias de la flora intestinal. En este proceso se produce una gran cantidad de metano que es el responsable de los retorcijones y flatulencias o gases que habitualmente provocan en muchas personas (Peralta & Veas, 2014)

***Saccharomyces cerevisiae* como organismos modelo**

La levadura de cerveza como las células del ser humano tiene en común múltiples procesos y mecanismos moleculares que cuando dejan de funcionar en el ser humano se desencadena una patología. Debido a la complejidad y alto coste que presentan los organismos pluricelulares, se prefiere utilizar células más sencillas como *Saccharomyces cerevisiae* para establecer las bases de la enfermedad. Una vez que se conoce qué es lo que ocurre en *S. cerevisiae*, se valida en organismos eucariotas superiores como pueden ser el ratón, el gusano o la mosca (Calvo, 2015).

La levadura de la cerveza tiene un genoma pequeño y compacto, siendo el 72% secuencias codificantes. El 24 de abril de 1996, se dio a conocer la secuencia completa de *S. cerevisiae*. Este proyecto sirvió como base para la posterior secuenciación del genoma humano. La levadura *S. cerevisiae* tiene alrededor de 6.183 genes, de los cuales la mayoría, 5.800 genes, codifican para proteínas (Dujon, 1996). Si se compara el genoma de la levadura con el genoma del ser humano, se llega a la conclusión de que existen bastantes similitudes.

A pesar de que la levadura y el hombre han ido evolucionando a lo largo de caminos diferentes desde hace millones de años, ambas especies comparten múltiples genes procedentes de un mismo antepasado (Leslie, 2015). Mucho antes de que tuviera lugar la secuenciación del genoma de la levadura (1996), ya se conocía que había genes en la levadura y en el hombre que codifican para proteínas muy similares, siendo el gen *H-RAS* el primero identificado (Botstein *et al.*, 1997).

La mayor parte de proteínas que comparte *S. cerevisiae* con las células humanas son aquellas necesarias para la supervivencia de la célula, como por ejemplo las que se encargan de la señalización celular, componentes estructurales, reacciones metabólicas, etc. Cuando existen problemas en estas proteínas en humanos se desencadena una patología (Ferrer-Miralles *et al.*, 2009). La homología presente entre la levadura y el ser humano, y la gran facilidad con la que la levadura permite establecer la relación entre la estructura genética y la función de la proteína (Botstein & Fink, 2011), hace que se pueda utilizar *S. cerevisiae* para estudiar patologías humanas.

VI. HIPÓTESIS

Existe correlación estadística de la Digestibilidad Aparente de harina de garbanzo en ratones de laboratorio (*Mus musculus*) y *Saccharomyces cerevisiae* como organismo modelo.

VII. METODOLOGÍA

Materiales:

Garbanzo (*Cicer arietinum*), cepa de *Saccharomyces cerevisiae*, agar Sabouraud para manutención de cepa, medio YPD y medio GD. Antibiótico cloranfenicol en cápsula, conteniendo: 7 mg de clorhidrato de metoclopramida, 30 mg de dimeticona, 25 mg de ácido dehidrocólico. Frutaenzima, cada capsula contiene: clorhidrato de metoclopramida 7 mg, dimeticona 30 mg, ácido dehidrocólico 25 mg., enzimas digestivas de origen fungal: pancreatina 4-NF proteasa 40 mg; celulasa 30 UI; pepsina 100 UI; lipasa 100 UI; amilasa 5600 UI; excipientes c.s.p.

Colorantes: Violeta de genciana, safranina, azul de metileno con los reactivos: Lugol, alcohol, acetona.

Ratón albino (*Mus musculus* BALB/C), machos destetados.

Material de vidrio: Probetas 2 L, pipetas 10 mL, placas petri, balones 500 mL, matraces de 2 L, tubos de ensayo de 15 mL, mecheros.

Equipos:

Autoclave, estufa, balanza analítica, centrífuga, microscopio óptico, pH-metro, espectrofotómetro, Orbital shaker, jaulas metabólicas individuales de 45x35x25 cm. de alto.

Metodología:

Obtención de la harina de garbanzo (*Cicer arietinum* L.): Semillas de garbanzo se remojaran en agua destilada (4°C/24 h), serán descascaradas, secadas en una estufa a 60°C por 6 h para luego ser pulverizadas y tamizadas con malla 60 (mesh-60). Finalmente se almacenaran en bolsas herméticas a temperatura ambiente para ser utilizadas posteriormente.

Medio de cultivo control YPD: 1% extracto de levadura, 2% de peptona, 2% dextrosa, 1.5% de agar y 0.16 g de antibiótico a un pH 5.8.

Medio de cultivo con harina de garbanzo (GD): obtenida a partir de 4, 8, 12, 16 % de harina de garbanzo (fuente de proteína), 2% dextrosa, 1.5% de agar, 0.16 g de antibiótico y 0.0024 g de frutaenzima agregada después de la esterilización del medio. Los medios de cultivo serán ajustados a valores de pH 5.8.

Siembra del organismo modelo *S. cerevisiae*: Se empleara cepas de levadura *S. cerevisiae* mantenidas en agar Sabouraud de las cuales se procederán a tomar una muestra con asa de platino disolviéndose en una suspensión de NaCl 0.9%, las que serán preparadas a una concentración correspondiente a DO de 610 nm, en un volumen a 50 mL. De la que se tomará 1

mL y se colocará en 9 mL de agua estéril, agitándose para uniformizarla, realizándose seguidamente diluciones de 10^{-4} y 10^{-5} , de la que se procederá a sembrar 0.1 mL en la superficie de placas petri con medios nutritivos YDP y GD, incubándose a 30°C por 24 h, para obtener y evaluar posteriormente las Unidades Formadoras de Colonia (UFC) en los diversos tratamientos.

Para el recuento se utilizó la siguiente fórmula: , dónde: $N = \frac{C}{0.1(n_1 + 0.1n_2)} \times d$

N: número de colonias (UFC) por mL ó g de producto.

C: Sumatoria de todas las colonias contadas en todas las placas.

n1: Número de placas contadas de la menor dilución.

n2: Número de placas contadas de la mayor dilución.

d: dilución de la cual fue obtenido el primer recuento.

Determinación del nitrógeno: Se determinará de acuerdo al método de Kjeldahl (AOAC, 1990). La proteína cruda se calculará empleando el factor $N \times 6.25$.

Digestibilidad proteica de garbanzo con ratones de laboratorio: Después de período de aclimatación de dos días, los ratones serán divididos aleatoriamente en 5 grupos de trabajo de 2 especímenes cada grupo de acuerdo a lo indicado seguidamente y según dietas mostradas en la Tabla 1.

- Grupo control positivo: Alimentados con una dieta a base de avena comercial.
- Grupo control negativo: Alimentados con una dieta libre de proteína a base de harina de maíz.
- Grupo experimental 1: Alimentados con una dieta a base de harina de garbanzo 16%.
- Grupo experimental 2: Alimentados con una dieta a base de harina de garbanzo 12%.
- Grupo experimental 3: Alimentados con una dieta a base de harina de garbanzo 8%.
- Grupo experimental 4: Alimentados con una dieta a base de harina de garbanzo 4%.

Los especímenes serán alojados en jaulas individuales, en una habitación mantenida a 24 ± 1 °C y 50-60% de humedad relativa, con un ciclo de 12 h luz/oscuridad (Tavano *et al.*, 2008). Se formularan dietas modificadas de acuerdo a la dieta AIN-93 para el crecimiento de los ratones (Reeves *et al.*, 1993), excepto el contenido de proteína. Agua se proporcionará *ad libitum*, los ratones serán alimentados con una ración de 20 g por día durante 15 días. En los días 13 al 15 se

recogerán las heces de cada uno de los ratones para determinar el porcentaje de nitrógeno y proteínas en las heces según el método de Kjeldahl (AOAC, 1990).

Tabla 1. Dieta de alimentación de los ratones según grupo de trabajo

Grupo de trabajo	Dieta	
Control positivo	Avena comercial	
Control negativo	Harina de maíz	
Grupo experimental 1 Harina de garbanzo 16%	Harina de garbanzo (g)	16.0
	Harina de maíz (g)	77.1
	Glucosa (g)	2.0
	NaCl (g)	0.9
	Agua (mL)	4.0
Grupo experimental 2 Harina de garbanzo 12%	Harina de garbanzo (g)	12.0
	Harina de maíz (g)	81.1
	Glucosa (g)	2.0
	NaCl (g)	0.9
	Agua (mL)	4.0

Grupo experimental 3	Harina de garbanzo (g)	8.0
Harina de garbanzo 8%	Harina de maíz (g)	85.1
	Glucosa (g)	2.0
	NaCl (g)	0.9
	Agua (mL)	4.0
Grupo experimental 4	Harina de garbanzo (g)	4.0
Harina de garbanzo 4%	Harina de maíz (g)	89.1
	Glucosa (g)	2.0
	NaCl (g)	0.9
	Agua (mL)	4.0

Se evaluará la digestibilidad proteica de la harina de garbanzo a través de la Digestibilidad Verdadera (DV) y Digestibilidad Aparente (DA). La DV se calculará empleando la siguiente fórmula: $DV = \frac{\text{consumo de N} - (\text{N fecal} - \text{N metabólico})}{\text{consumo de N}}$.

El consumo de N se hallará multiplicando el contenido de N (%) por el consumo de alimento (g). El N fecal multiplicando el contenido de nitrógeno (%) por la cantidad (g) de heces. El N fecal metabólico se estimará determinando la cantidad de nitrógeno fecal excretado cuando el animal está consumiendo una dieta libre de proteína (Silva *et al.*, 2003). La Digestibilidad Aparente (DA) se calculará considerando la DV sin el N metabólico (Malca *et al.*, 2006).

Evaluación estadística: Los valores serán presentados como promedio de las repeticiones. Diferencias en los valores promedios, serán probadas por ANOVA usando Tukey's HSD prueba de rango múltiple para diferencias significativas entre grupos y un valor de $p < 0.05$ será considerado significativo.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

AOAC. Official Methods of Analysis, 1990. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA.

Botstein, D., Chervitz, S. A., & Cherry, M. (1997). Yeast as a model organism. *Science*, 277(5330), 1259-1260.

Botstein, D., & Fink, G. R. (2011). Yeast: an experimental organism for 21st Century biology. *Genetics*, 189(3), 695-704.

Boye, J., Wijesinha-Bettoni, R., & Burlingame, B. (2012). Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *British Journal of Nutrition*, 108(S2), S183-S211.

Calvo, M. J. S. (2015). La levadura de la cerveza como modelo para el estudio de enfermedades y el rastreo farmacológico. Doctoral dissertation, Universidad Complutense. Madrid, España.

Dolezalova, J., & Rumlova, L. (2014). A new biological test of water toxicity–yeast *Saccharomyces cerevisiae* conductometric test. *Environmental toxicology and pharmacology*, 38(3), 977-981.

Dujon, B. (1996). The yeast genome project: what did we learn?. *Trends in Genetics*, 12(7), 263-270.

FAO- FINUT (Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura-Fundacion Iberoamerica de Nutrición). (2017). Evaluación de la calidad de las proteínas de la dieta en la nutrición humana, Consulta de expertos. Estudio FAO Alimentación y Nutrición 92. Pp. 240.

Ferrer-Miralles, N., Domingo-Espín, J., Corchero, J. L., Vázquez, E., & Villaverde, A. (2009). Microbial factories for recombinant pharmaceuticals. *Microbial cell factories*, 8(1), 17.

Fuentes Paredes, F. D. M., Yanavilca, M., Amelia, R., Rosales Fernández, A. L., Tarmeño, C., & Alberto, R. (2010). Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Instituto Nacional de Salud, Perú.

Haraldsson, A. K., Veide, J., Andlid, T., Alminger, M. L., & Sandberg, A. S. (2005). Degradation of phytate by high-phytase *Saccharomyces cerevisiae* strains during simulated gastrointestinal digestion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(13), 5438-5444.

Kachroo, A. H., Laurent, J. M., Yellman, C. M., Meyer, A. G., Wilke, C. O., & Marcotte, E. M. (2015). Systematic humanization of yeast genes reveals conserved functions and genetic modularity. *Science*, 348(6237), 921-925.

Karathia, H., Vilaprinyo, E., Sorribas, A., & Alves, R. (2011). *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism: a comparative study. *PloS one*, 6(2), e16015.

Kim, J., & Kim, K. H. (2017). Effects of minimal media vs. complex media on the metabolite profiles of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Process biochemistry*, 57, 64-71.

Leser, S. (2013). The 2013 FAO report on dietary protein quality evaluation in human nutrition: recommendations and implications. *Nutrition Bulletin*, 38(4), 421-428.

Leslie, M. (2015). Yeast can live with human genes. *Science*. URL: <http://www.sciencemag.org/news/2015/05/yeast-can-live-human-genes>.

Meng, D., Zhang, P., Li, S., Ho, C. T., & Zhao, H. (2017). Antioxidant activity evaluation of dietary phytochemicals using *Saccharomyces cerevisiae* as a model. *Journal of functional foods*, 38, 36-44.

Oprea, E., Ruta, L. L., Nicolau, I., Popa, C. V., Neagoe, A. D., & Farcasanu, I. C. (2014). *Vaccinium corymbosum* L. (blueberry) extracts exhibit protective action against cadmium toxicity in *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Food chemistry*, 152, 516-521.

Peralta, R. B., & Veas, R. E. A. (2014). Garbanzo: usos alternativos para generar valor agregado al descarte (Bachelor's thesis). Universidad Nacional de Córdoba.

Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey Jr, G. C. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 123, 1939-1951.

Rodríguez, J., Perner, I., Schmidt, K., & Posten, C. (2004). Simple Metabolic Model of *Saccharomyces Cerevisiae* in Fed-Batch Culture to Study the Cellular Nitrogen Uptake. *IFAC Proceedings Volumes*, 37(3), 153-158.

Schaafsma, G. (2012). Advantages and limitations of the protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS) as a method for evaluating protein quality in human diets. *British journal of nutrition*, 108(S2), S333-S336.

Scvola, D., Perversi, L., Cavanna, C., Candiani, C., Uberti, F., Castiglioni, B., & Marone, P. (2003). Acid tolerance and fecal recovery following oral administration of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of chemotherapy*, 15(2), 143-147.

Tavano, O. L., da Silva Jr, S. I., Demonte, A., & Neves, V. A. (2008). Nutritional responses of rats to diets based on chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed meal or its protein fractions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(22), 11006-11010.

Tavano, O. L., Neves, V. A., & da Silva Júnior, S. I. (2016). In vitro versus in vivo protein digestibility techniques for calculating PDCAAS (protein digestibility-corrected amino acid score) applied to chickpea fractions. *Food Research International*, 89, 756-763.

Tucker, C. L., & Fields, S. (2001). A yeast sensor of ligand binding. *Nature biotechnology*, 19(11), 1042.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	INICIO	FIN
Adquisición de materiales e insumos	01/08/2019	30/09/2019
Evaluación de la DA de HG utilizando <i>S. cerevisiae</i> como organismo modelo	01/10/2019	31/01/2020
Evaluación de la DA de HG utilizando ratones de laboratorio	04/02/2020	30/04/2020
INFORME PARCIAL DEL PROYECTO	02/03/2020	31/03/2020
Informe Parcial del Proyecto	02/03/2020	31/03/2020
Evaluación de la correlación estadística de la DA de HG utilizando ratones de laboratorio y <i>S. cerevisiae</i>	01/05/2020	29/05/2020
Informe Final del Proyecto	01/06/2020	01/06/2020
INFORME FINAL DEL PROYECTO	01/06/2020	30/06/2020

PRESUPUESTO

DESCRIPCION	CANTIDAD	PRECIO_UNITARIO	PRECIO_PARCIAL
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	1003	1003
REACTIVOS E INSUMOS	5 UNI	1.50	7.50
Alimento	5 KG	5.50	27.50
REACTIVOS E INSUMOS	10 UNI	1	10
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	861.40	861.40
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	177	177
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	53.10	53.10
REACTIVOS E INSUMOS	2 UNI	130	260
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	247.80	247.80
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	15	15
MATERIAL DE VIDRIO	1 UNI	404.27	404.27
MATERIAL DE VIDRIO	50 UNI	2.80	140
MATERIAL DE VIDRIO	6 UNI	18	108
MATERIAL DE VIDRIO	5 UNI	136.63	683.15
Análisis en Laboratorio Externo	3 P01	1418.40	4255.20
TESISTA	6 UNI	546	3276
OTROS	1 UNI	283.20	283.20
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	212.40	212.40
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	1510.40	1510.40
REACTIVOS E INSUMOS	3 UNI	55	165
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	55	55
MATERIAL DE VIDRIO	1 UNI	212.40	212.40
MATERIAL DE VIDRIO	5 UNI	190	950
Análisis en Laboratorio Externo	42 P01	60	2520
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	1353.50	1353.50
Total 18790.82			