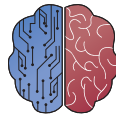




UNIVERSIDAD DE BURGOS  
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR  
Grado en Ingeniería de la Salud



INGENIERÍA  
DE LA SALUD

**TFG del Grado en Ingeniería de la  
Salud**

**Influencia de la  
suplementación con  
probióticos en el estado  
oxidativo de deportistas de  
Crossfit  
Documentación Técnica**

Presentado por Ignacio González Arnaiz  
en Universidad de Burgos

16 de enero de 2025

Tutor: Natalia Busto Vázquez



---

# Índice general

---

Índice general	i
Índice de figuras	iii
Índice de tablas	v
<b>Apéndice A Plan de Proyecto Software</b>	<b>1</b>
A.1. Introducción . . . . .	1
A.2. Planificación temporal . . . . .	1
A.3. Planificación económica . . . . .	3
A.4. Viabilidad legal . . . . .	4
<b>Apéndice B Documentación de usuario</b>	<b>7</b>
B.1. Requisitos software y hardware para ejecutar el proyecto. . .	7
B.2. Instalación / Puesta en marcha . . . . .	8
B.3. Manuales y/o Demostraciones prácticas . . . . .	10
<b>Apéndice C Manual del investigador</b>	<b>17</b>
C.1. Estructura de directorios . . . . .	17
C.2. Instrucciones para la modificación o mejora del proyecto. . .	18
<b>Apéndice D Descripción de adquisición y tratamiento de datos</b>	<b>21</b>
D.1. Descripción formal de los datos . . . . .	21
D.2. Descripción clínica de los datos . . . . .	22
<b>Apéndice E Manual de especificación de diseño</b>	<b>23</b>
E.1. Planos . . . . .	23
E.2. Diseño arquitectónico . . . . .	23

<b>Apéndice F Especificación de Requisitos</b>	<b>25</b>
F.1. Diagrama de casos de uso . . . . .	25
F.2. Explicación casos de uso. . . . .	26
<b>Apéndice G Estudio experimental</b>	<b>27</b>
G.1. Cuaderno de trabajo. . . . .	27
G.2. Configuración y parametrización de las técnicas . . . . .	35
G.3. Detalle de resultados. . . . .	37
<b>Apéndice H Anexo de sostenibilización curricular</b>	<b>39</b>
H.1. Introducción . . . . .	39
H.2. Derechos Humanos y Valores Democráticos . . . . .	39
H.3. Igualdad de Género y No Discriminación . . . . .	40
H.4. Accesibilidad Universal . . . . .	40
H.5. Sostenibilidad y Cambio Climático . . . . .	40
H.6. Reflexión Personal . . . . .	41
<b>Bibliografía</b>	<b>43</b>

---

# Índice de figuras

---

A.1. Diagrama de Gantt de la planificación temporal. Fuente propia con GanttPRO . . . . .	3
B.1. Ejemplo del formato de archivo Excel. Fuente propia con Excel.	9
B.2. Ejemplo de enlace local para ejecutar la aplicación. Fuente propia con VS. . . . .	9
B.3. Panel izquierdo de la web. Fuente propia con aplicación. . . . .	10
B.4. Panel derecho de la web. Fuente propia con aplicación. . . . .	11
B.5. Selección de archico Excel. Fuente propia con aplicación. . . . .	11
B.6. Desplegable con los distintos gráficos. Fuente propia con aplicación.	11
B.7. Ejemplo de estadística descriptiva de Carbonilos. Fuente propia con aplicación. . . . .	12
B.8. Ejemplo de ANOVA de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.	12
B.9. Ejemplo de pruebas T pareadas de Carbonilos. Fuente propia con aplicación. . . . .	12
B.10. Ejemplo de un gráfico de cajas de Carbonilos. Fuente propia con aplicación. . . . .	13
B.11. Ejemplo de un gráfico de violín de Carbonilos. Fuente propia con aplicación. . . . .	13
B.12. Ejemplo de un gráfico de puntos de Carbonilos. Fuente propia con aplicación. . . . .	14
B.13. Ejemplo de un gráfico combinado de Carbonilos. Fuente propia con aplicación. . . . .	14
B.14. Ejemplo de un gráfico de interacción de Carbonilos. Fuente propia con aplicación. . . . .	15
F.1. Diagrama de casos de uso. Fuente propia con Creately. . . . .	25

G.1. Curva de calibrado de Bradford. Fuente propia con Excel. . . . .	28
G.2. Curva de calibrado de MDA. Fuente propia con Excel. . . . .	31
G.3. Curva de calibrado de FRAP. Fuente propia con Excel. . . . .	32
G.4. Curva de calibrado de GSH. Fuente propia con Excel. . . . .	34
G.5. Curva de calibrado de GSSG. Fuente propia con Excel. . . . .	35

---

# Índice de tablas

---

A.1. Desglose del presupuesto experimental. Fuente propia . . . . .	4
B.1. Requisitos de los archivos Excel para su procesamiento en la aplicación web. Fuente propia. . . . .	8





## *Apéndice A*

---

# Plan de Proyecto Software

---

### A.1. Introducción

Aunque este Trabajo de Fin de Grado no se centre en el desarrollo de un software, sino en un ensayo experimental sobre el efecto de la suplementación con probióticos en deportistas de Crossfit, se ha desarrollado una aplicación web con Shiny para facilitar el análisis y visualización de los datos obtenidos. Es por ello que se ha considerado importante incluir un plan de proyecto software. Esto se debe a que, al tratarse de una investigación que implica distintas fases, es de vital importancia contar con una adecuada planificación temporal, económica y legal para garantizar la viabilidad y el éxito del proyecto.

El plan de proyecto software abordará los siguientes aspectos clave:

### A.2. Planificación temporal

La planificación temporal inicial de la investigación se llevó a cabo en tres etapas principales y fue desarrollada teniendo en cuenta las necesidades de la investigación y las circunstancias personales (Figura: [A.1](#)).

La primera etapa fue la fase bibliográfica y experimental, que se realizó durante los meses de febrero a abril. Primero se realizó una amplia búsqueda bibliográfica y seguidamente se comenzó con los protocolos experimentales. Esta fase incluyó la cuantificación de proteínas mediante Bradford y Nanodrop, la cuantificación de carbonilos totales en el plasma, de peroxidación lipídica mediante MDA (malondialdehído)-TBARs, de la capacidad antioxidante total mediante FRAP, así como los niveles de glutatión reducido y

oxidado. Cada experimento se realizó siguiendo los protocolos descritos en detalle en el anexo G, garantizando de este modo la precisión y fiabilidad de los resultados. Se llevó también a cabo una amplia búsqueda bibliográfica en torno al tema de este Trabajo de Fin de Grado.

Seguidamente, durante el mes de mayo se procedió con el análisis de los datos experimentales. Esta etapa implicó el uso de software especializado (Microsoft Excel y Statgraphics 19) para la interpretación de los resultados experimentales y la aplicación de técnicas estadísticas adecuadas, como el ANOVA, para determinar la significancia de los datos.

Finalmente, de manera progresiva y finalizando en junio, se llevó a cabo la redacción de la memoria y los anexos. Esta fase incluyó la documentación detallada de cada una de las etapas anteriores, la organización y presentación de los resultados y la elaboración de las conclusiones finales. Se hizo hincapié en la claridad y coherencia del documento, asegurando que reflejara fielmente todo el proceso de investigación y los hallazgos obtenidos. La memoria fue estructurada de manera que su comprensión fuera simple y sirviera como referencia para futuros estudios en el área.

Sin embargo, con el fin de mejorar la calidad de este TFG, se llevó a cabo una segunda planificación temporal donde se desarrollaron dos etapas principales (Figura: [A.1](#)).

Durante los meses de octubre a enero, se llevó a cabo el desarrollo de la aplicación web en Shiny. Esta etapa comenzó con la planificación del funcionamiento y la interfaz de la web, para una posterior implementación mas sencilla y eficaz, donde se desarrollaron las funciones de análisis estadístico y los gráficos informativos. Finalmente, se mejoró la interfaz de la aplicación para una mejor comprensión del usuario.

En la última etapa, desarrollada de noviembre a enero, se llevó a cabo la revisión y corrección de la memoria y de los anexos. Se realizó principalmente una revisión del contenido aunque también se tuvieron en cuenta la redacción y estructura de ambos documentos. Tomando en consideración los puntos de mejora indicados en el informe de la primera memoria, se hizo especial hincapié en la mejora de las referencias bibliográficas, en proporcionar un enfoque distinto para los análisis de los resultados y en la incorporación de la documentación relacionada con la aplicación desarrollada. Se realizó también una revisión detallada de los anexos para que contuvieran toda la información complementaria necesaria para la comprensión del trabajo, incluyendo todo lo relacionado con la aplicación desarrollada.

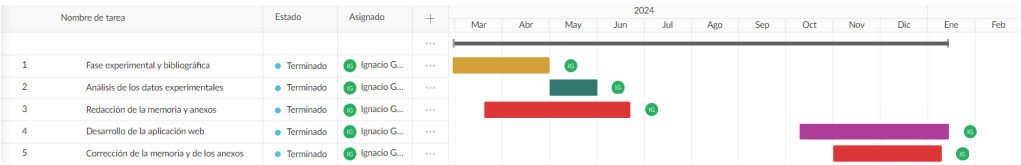


Figura A.1: Diagrama de Gantt de la planificación temporal. Fuente propia con GanttPRO

### A.3. Planificación económica

Se va a desglosar un presupuesto aproximado de los costes experimentales, considerando materiales, los equipos y cualquier otro recurso necesario ya que una gestión económica adecuada es primordial para mantener el proyecto dentro de dicho presupuesto.

Para este presupuesto se van a considerar 3 grandes grupos, los materiales, los equipos y otros recursos. Se ha tenido en cuenta también la realización cada método experimental una única vez, salvo el malondialdehído que tuvo que realizarse tres veces para lograr obtener un resultado correcto. Los precios fueron calculados de manera aproximada, puesto que variaban mucho dependiendo del distribuidor y de la cantidad adquirida.

En primer lugar, teniendo en cuenta que se partió originalmente de 92 muestras, el presupuesto de materiales y reactivos para los 7 ensayos (Bradford, Nanodrop, Carbonilos, MDA, FRAP, GSH y GSSG) es aproximadamente de 2350€.

El presupuesto para los equipos y software es notablemente más elevado que el de materiales y reactivos ya que es sabido que los equipos utilizados en un laboratorio tienen un alto coste económico. El coste de todos los equipos utilizados para este TFG es de alrededor de 93000€. No obstante, se ha decidido prorratear el coste de cada equipo con el de esta investigación ya que cada uno de los equipos utilizados no son específicos para este ensayo, sino que sirven para multitud de proyectos, y de este modo se obtiene un presupuesto más asequible y ajustado. El presupuesto total prorrateado para la investigación es de 3350€.

Adicionalmente, como otros recursos se ha tenido en cuenta la gestión de residuos, el uso de electricidad para los equipos y el agua, obteniendo un presupuesto aproximado de 200€. Se ha incluido también como recursos, el trabajo del personal. Teniendo en cuenta que un biólogo en España tiene un salario promedio de 13€ la hora [Talent, 2024], se calcula que

aproximadamente el coste de un investigador para todo el proyecto es de 1760€.

Por último, se ha creído conveniente incluir el coste del equipo utilizado para el desarrollo de la aplicación web en Python. Para ello se utilizó un ordenador portátil con las siguientes características específicas: 8GB RAM, procesador Intel(R) Core(TM) i5-9300H CPU @ 2.40GHz 2.40 GHz, 256GB SSD y NVIDIA® GeForce RTX™.

Un equipo de estas características tiene un coste aproximado de 800€. Debido a que se ha utilizado Visual Studio Code y Python para su desarrollo, ambas siendo herramientas gratuitas de código abierto, no se necesita añadir costes de licencias de software.

Concluyendo, el presupuesto total teniendo en cuenta materiales (2350€), equipos y software (3350€), recursos (1760€), y equipamiento para desarrollo (800€), asciende a un total aproximado de 8260€ (Tabla A.1).

Concepto	Coste Aproximado (€)
Materiales y Reactivos	2350
Equipos y Software	3350
Otros Recursos	1760
Equipamiento para el Desarrollo de la Aplicación	800
<b>Total</b>	<b>8260</b>

Tabla A.1: Desglose del presupuesto experimental. Fuente propia

Un posible plan de explotación de este proyecto sería la colaboración con nutricionistas deportivos o especializados en fisiología deportiva para establecer criterios de suplementación con probióticos, vendiendo los conocimientos adquiridos gracias al ensayo, en caso de unos resultados favorables de la investigación.

## A.4. Viabilidad legal

Este apartado se centra en el cumplimiento de las leyes y regulaciones vigentes, asegurando un manejo adecuado de los datos y el uso de licencias apropiadas para las aplicaciones utilizadas. A continuación, se detallan los aspectos clave de esta viabilidad:

1. Aprobación del Comité de Bioética: Este proyecto cuenta con la aprobación del Comité de Ética para las investigaciones con seres humanos,

sus muestras y sus datos (CEISH) de Universidad del País Vasco (M10\_2022\_199), lo que garantiza que todas las actividades experimentales se llevan a cabo conforme a los principios éticos y legales aplicables. El informe favorable del comité respalda la adecuación ética de los métodos y procedimientos empleados en el estudio.

2. Cumplimiento de las Leyes y Regulaciones del Tratamiento de Datos: Este ensayo se ajusta a las normativas de protección de datos personales [del Estado, 2018], garantizando que cualquier información recopilada se maneje de manera segura y confidencial. La obtención del consentimiento informado [del Estado, 2002] de los participantes es un aspecto primordial que remarcar, ya que asegura que los sujetos comprendan el propósito del estudio y cómo serán utilizados sus datos.
3. Licencias de Aplicaciones: Se ha llevado a cabo una verificación de todas las aplicaciones y softwares utilizados durante el proyecto, asegurando que cumplen con las respectivas licencias. Esto garantiza que el uso de herramientas informáticas sea legal y conforme a los términos de servicio establecidos por los proveedores. Las aplicaciones que cuentan con licencia han sido las siguientes:
  - Microsoft Excel [Microsoft, 2023]
  - Statgraphics 19 [Statgraphics, 2024]
  - Gen 5 Microplate Reader and Imager Software [Agilent, 2024]
  - NanoDrop DeNovix [DeNovix, 2024]



## *Apéndice B*

---

# Documentación de usuario

---

### **B.1. Requisitos software y hardware para ejecutar el proyecto.**

Para la correcta ejecución del proyecto, se requiere un conjunto de recursos de software y hardware específicos. Sin tener en cuenta la aplicación web en un primer momento, a nivel de software, se necesita la instalación del programa Microsoft Excel para el análisis de datos, junto con el programa Statgraphics 19 para el análisis estadístico. Además, es requerido el uso de la herramienta de publicación y redacción Overleaf para la gestión de la memoria y el anexo.

Para llevar a cabo una correcta ejecución de la aplicación web Shiny, los requisitos son algo más específicos. Es necesario tener instalado lo siguiente:

- Visual Studio Code
- Python 3.8 o superior con las siguientes bibliotecas:
  - Shiny para Python
  - Pandas
  - NumPy
  - SciPy
  - Pingouin
  - Matplotlib
  - Seaborn

- Pathlib
- Io
- Base64

En cuanto a los requisitos de hardware, se necesita un ordenador con al menos 8GB de RAM, procesador Intel(R) Core(TM) i5 o superior, y el espacio suficiente en disco para la instalación de los programas y el manejo de los datos experimentales.

Es de vital importancia destacar que para que la aplicación web procese correctamente los archivos Excel, estos deben cumplir con una estructura específica como se ha mencionado en la memoria. Si el archivo no cumple con estos requisitos, la aplicación mostrará por pantalla un mensaje de error, no procesará los datos correctamente y no nos devolverá los análisis estadísticos. Es importante verificar la estructura del archivo Excel antes de cargarlo en la aplicación. Esta estructura específica es la siguiente (Tabla: B.1):

Característica	Descripción
Formato	Archivo Excel (.xlsx)
Primera fila y primera celda	Debe contener la unidad de concentración (Figura: B.1) del biomarcador
Columnas necesarias	RESULTADOS PRE, IDENTIFICADOR 1, TRATAMIENTO, RESULTADOS POST (Figura: B.1) del biomarcador
Columna TRATAMIENTO	Debe especificar el grupo al que pertenece cada sujeto (ej: 'CONTROL', 'PROBIÓTICO')
Columnas PRE/POST	Deben contener valores numéricos
Valores vacíos	No se permiten celdas vacías en las columnas mencionadas

Tabla B.1: Requisitos de los archivos Excel para su procesamiento en la aplicación web. Fuente propia.

## B.2. Instalación / Puesta en marcha

Para poder analizar y ejecutar el proyecto correctamente, es necesario seguir los siguientes pasos en su correspondiente orden:



	A	B	C	D
1	RESULTADOS PRE	IDENTIFICADOR 1	TRATAMIENTO	RESULTADOS POST
2	nM/mg de prot			
3	93,6891	ZSE01	PROBIOTICO	100,125
4	83,8517	LYH01	PLACEBO	109,63
5	74,5493	VTJ01	PROBIOTICO	91,2662
6	105,708	KVW01	PROBIOTICO	115,222
7	91,5763	STR01	PROBIOTICO	107,191
8	88,2543	TSO01	PLACEBO	84,2515

Figura B.1: Ejemplo del formato de archivo Excel. Fuente propia con Excel.

1. Crear una cuenta en Overleaf y configurar el entorno para la lectura de la memoria y el anexo (si se prefiere, se puede llevar a cabo la lectura mediante los archivos PDF entregados y disponibles en el [repositorio](#)).
2. Instalar Microsoft Excel y Statgraphics 19 en el ordenador desde el que se analizará el proyecto.
3. Para la instalación y ejecución de la aplicación web, los pasos a seguir son los que se detallan a continuación:
  - a) Instalar Python 3.8 o superior desde [python.org](#).
  - b) Instalar Visual Studio Code desde [code.visualstudio.com](#).
  - c) Descargar el archivo app-tfg.py del [repositorio](#) del proyecto.
  - d) Abrir el terminal y ejecutar los siguientes comandos para instalar las bibliotecas necesarias para la ejecución del archivo:
 

```
pip install shiny pandas numpy scipy pingouin matplotlib seaborn
```
  - e) Abrir el terminal en la ubicación del archivo app-tfg.py y ejecutar:
 

```
shiny run app-tfg.py
```
  - f) Una vez ejecutado el comando anterior, hacer clic en el enlace que aparece en el terminal (Figura: [B.2](#)) para abrir la aplicación web en el navegador predeterminado:

**INFO:** Uvicorn running on <http://127.0.0.1:8000> (Press CTRL+C to quit)

Figura B.2: Ejemplo de enlace local para ejecutar la aplicación. Fuente propia con VS.

### B.3. Manuales y/o Demostraciones prácticas

Como se ha explicado en la memoria, la aplicación web desarrollada ofrece un análisis estadístico con tablas y gráficos para mejorar su comprensión, ingresando los archivos Excel previamente filtrados. A continuación se van a dar unas instrucciones para su correcto uso:

1. Iniciar la aplicación siguiendo los pasos de instalación explicados en el apartado Instalación / Puesta en marcha.
2. Se observa que la interfaz web se divide en dos secciones principales:
  - Un panel de control a la izquierda (Figura: B.3) que permite seleccionar al usuario el archivo Excel (previamente filtrado) y el tipo de gráfico que desea visionar.

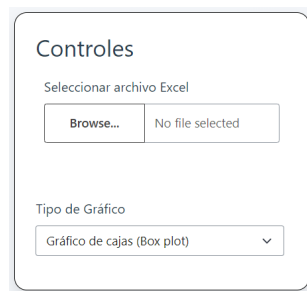


Figura B.3: Panel izquierdo de la web. Fuente propia con aplicación.

- Un panel de resultados a la derecha (Figura: B.4) que muestra al usuario las estadísticas descriptivas, los resultados del ANOVA, las pruebas T pareadas y el gráfico seleccionado.
3. Para analizar datos de un archivo Excel:
    - a) Hacer clic en 'Seleccionar archivo Excel' (Figura: B.5) y elegir el archivo con los datos a analizar.
    - b) Los resultados aparecerán de forma automática en el panel derecho de la web.
    - c) Si el usuario lo desea, puede cambiar el tipo de visualización gráfica usando el menú desplegable "Tipo de Gráfico"(Figura: B.6).

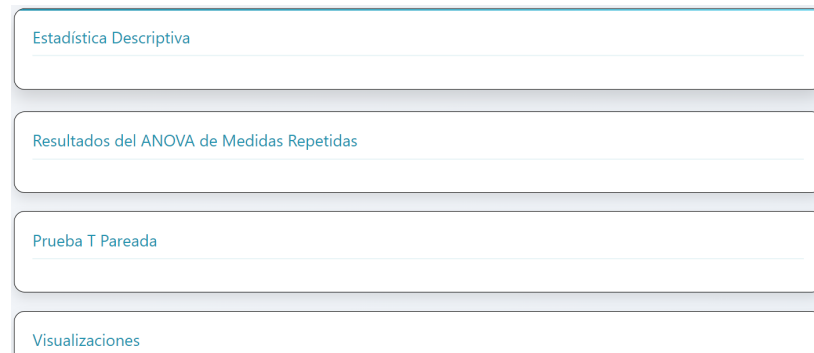


Figura B.4: Panel derecho de la web. Fuente propia con aplicación.

Seleccionar archivo Excel

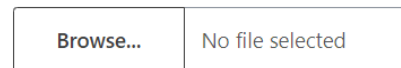


Figura B.5: Selección de archivo Excel. Fuente propia con aplicación.

Tipo de Gráfico

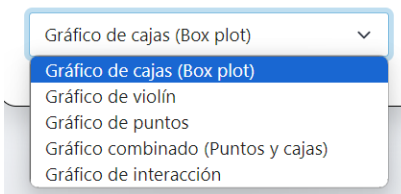


Figura B.6: Desplegable con los distintos gráficos. Fuente propia con aplicación.

#### 4. Tipos de gráficos disponibles:

- Gráfico de cajas (Box plot) (Figura: B.10)
- Gráfico de violín (Figura: B.11)
- Gráfico de puntos (Figura: B.12)
- Gráfico combinado (Puntos y cajas) (Figura: B.13)
- Gráfico de interacción (Figura: B.14)

Los resultados estadísticos se ofrecen al usuario en tablas formateadas y en gráficos seleccionables que facilitan la interpretación de los datos experimentales (Figuras: B.7, B.8, B.9, B.10, B.11, B.12, B.13, B.14):

Estadística Descriptiva

		count	mean	std	min	25%	50%	75%	max
Tratamiento	Tiempo								
PLACEBO	Post	10.000	104.304	20.439	73.606	91.215	106.451	111.853	147.233
	Pre	10.000	98.316	16.675	74.430	87.934	95.855	108.582	130.903
PROBIOTICO	Post	13.000	101.821	13.051	77.449	93.384	101.395	107.191	125.381
	Pre	13.000	95.993	15.840	72.753	88.067	93.689	110.660	117.950

Figura B.7: Ejemplo de estadística descriptiva de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.

Resultados del ANOVA de Medidas Repetidas

	Fuente	Suma de Cuadrados	GI1	GI2	Cuadrado Medio	F-razón	P-valor
0	Tratamiento	65.2736	1.0000	21.0000	65.2736	0.1949	0.6633
1	Tiempo	400.0265	1.0000	21.0000	400.0265	1.9602	0.1761
2	Interaction	0.0724	1.0000	21.0000	0.0724	0.0004	0.9852

Figura B.8: Ejemplo de ANOVA de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.

Prueba T Pareada

	Estadístico-T	P-valor	D de Cohen
PROBIOTICO	-1.1507	0.2723	-0.4016
PLACEBO	-0.8405	0.4224	-0.3211

Figura B.9: Ejemplo de pruebas T pareadas de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.

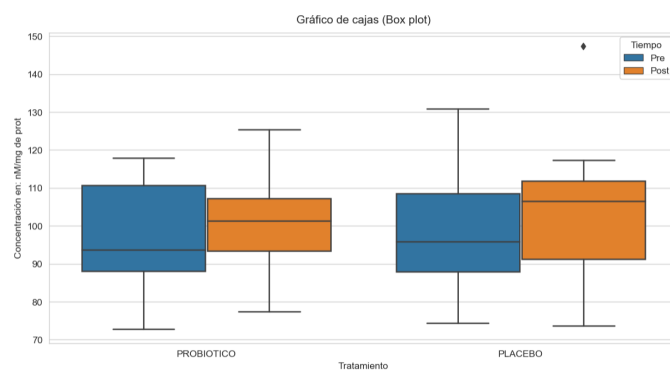


Figura B.10: Ejemplo de un gráfico de cajas de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.

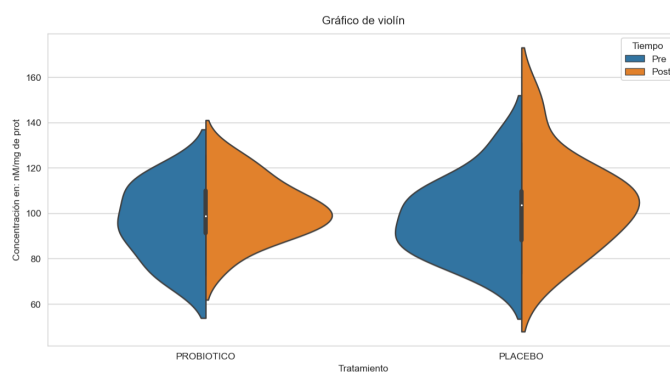


Figura B.11: Ejemplo de un gráfico de violín de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.

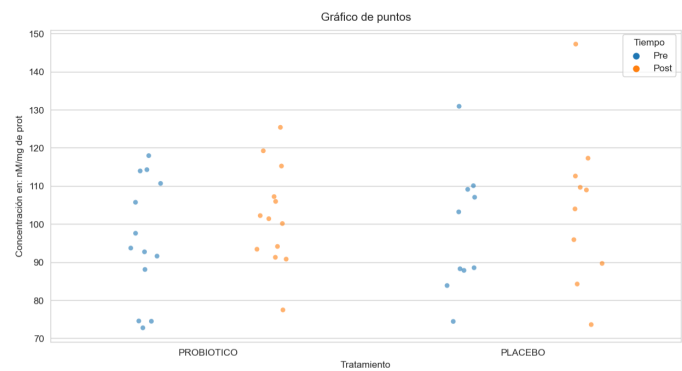


Figura B.12: Ejemplo de un gráfico de puntos de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.

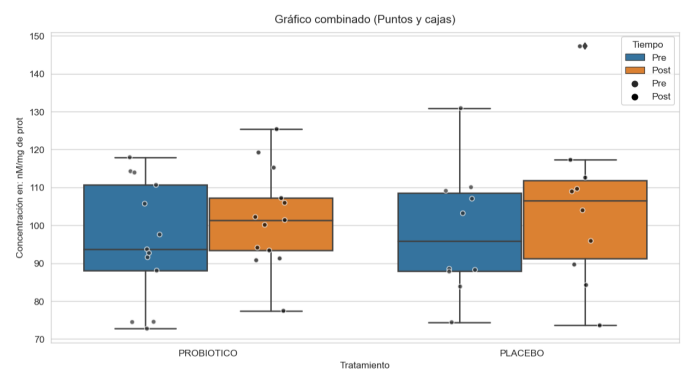


Figura B.13: Ejemplo de un gráfico combinado de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.

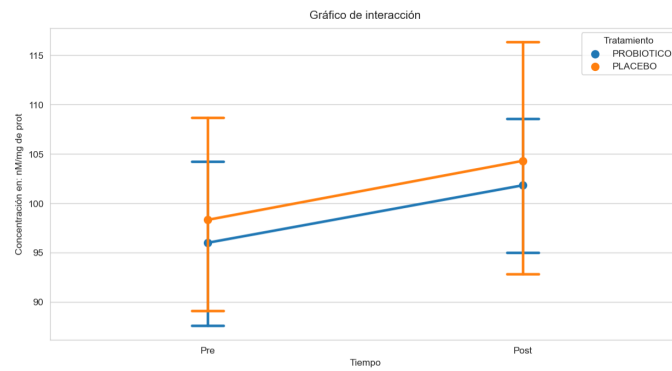


Figura B.14: Ejemplo de un gráfico de interacción de Carbonilos. Fuente propia con aplicación.





## *Apéndice C*

---

# Manual del investigador

---

### C.1. Estructura de directorios

Los documentos entregados comprenden varios elementos cruciales para entender la investigación realizada. Todos ellos se pueden encontrar tanto en el [repositorio](#) del proyecto de GitHub como en los USB entregados.

En el [repositorio](#) de este TFG se encuentran los siguientes archivos:

- En primer lugar, se entrega en formato PDF la memoria del proyecto que presenta el contexto teórico, metodológico y los hallazgos principales del estudio.
- En segundo lugar se encuentra el anexo en formato PDF que ofrece información adicional relevante para la comprensión integral de los resultados, el procedimiento experimental empleado al igual que las instrucciones para una correcta ejecución de la aplicación y su comprensión.
- En tercer lugar, se incluyen dentro de la carpeta Resultados, los archivos Excel que detallan los resultados obtenidos en cada experimento con sus respectivas curvas de calibrado (Bradford ANALIZADO DEF.xlsx, Carbonilos ANALIZADO DEF.xlsx, FRAP ANALIZADO DEF.xlsx, GSH GSSG ANALIZADO DEF.xlsx, MDA ANALIZADO DEF.xlsx y Nanodrop ANALIZADO DEF.xlsx). Los archivos Excel proporcionan datos cuantitativos clave para el posterior análisis estadístico.
- En cuarto lugar, se encuentran los archivos Statgraphics (BRADFORD DEF.SGP, CARBONILOS DEF.SGP, FRAP DEF.SGP, GSH

DEF.SGP, GSSG DEF.SGP, MDA DEF.SGP, NANODROP DEF.SGP), dentro de la carpeta Análisis estadístico, con los análisis estadísticos correspondientes a cada ensayo realizado.

- En quinto lugar, se entrega en la carpeta Aplicación, el script de la aplicación web (app-tfg.py) al igual que un archivo con los requerimientos (requirement.txt) necesarios para la ejecución de la aplicación.
- En último lugar se incluyen dentro de la carpeta Excel App, los archivos Excel (BRADFORD DEF APP, CARBONILOS DEF APP, FRAP DEF APP, GSH DEF APP, GSSG DEF APP, MDA DEF APP y NANODROP DEF APP), filtrados y organizados según las condiciones ya mencionadas, correspondientes a los resultados de cada ensayo realizado.

Todos estos materiales forman un conjunto completo que respalda de manera efectiva el estudio realizado.

## C.2. Instrucciones para la modificación o mejora del proyecto.

Para que el trabajo pueda ser mejorado en futuras ediciones, se podrían seguir una serie de pautas que se detallan a continuación:

- Ampliar las fronteras del estudio mediante la consideración de un mayor número de sujetos a evaluar para lograr unos resultados estadísticamente más significantes. Se podría también diversificar la población diana del estudio centrándose en distintas modalidades deportivas y variando la suplementación.
- Ampliar el número de biomarcadores de estrés oxidativo a analizar.
- Estudiar la relación entre los distintos biomarcadores de estrés oxidativo para la obtención de un único índice.
- Incorporar técnicas avanzadas de análisis de datos, como por ejemplo el uso de algoritmos de aprendizaje automático, para mejorar la interpretación de los biomarcadores de estrés oxidativo.
- Realizar un seguimiento longitudinal de los participantes del ensayo para poder evaluar los efectos de la suplementación con probióticos a

largo plazo, con especial atención al estudio de la composición de la microbiota intestinal.

- Evaluar los posibles efectos secundarios de la suplementación con probióticos.
- Optimizar y generalizar la herramienta web desarrollada para el análisis de datos, para que permita:
  - La lectura de datos en formatos distintos de archivos Excel con una estructura específica.
  - La incorporación de nuevas pruebas estadísticas.
  - El desarrollo de un módulo de machine learning para la predicción de resultados.
  - La generación de informes automáticos en distintos formatos que incluyan tanto resultados estadísticos como su interpretación.
- Desarrollar un sistema de control de versiones y de gestión de datos dentro de la aplicación, que permita guardar y comparar distintos análisis estadísticos.
- Desarrollar una interfaz más interactiva que permita la personalización de los tipos de análisis estadísticos según las necesidades específicas de cada usuario.



## *Apéndice D*

---

# **Descripción de adquisición y tratamiento de datos**

---

## **D.1. Descripción formal de los datos**

Los datos recibidos por la Universidad de Burgos son muestras de sangre extraídas por una enfermera cualificada desplazada al club deportivo, y que se obtienen mediante venopunción de la vena antecubital por siguiendo procedimientos estandarizados. Las muestras se embalan tras la extracción, se transportan con refrigeración de inmediato a la Universidad de Burgos donde otro miembro del grupo extrae el plasma. Se alicuotizaron para evitar los ciclos de congelación-descongelación, y se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis, para evitar la degradación de los biomarcadores que se van a analizar.

Las muestras plasmáticas corresponden a 33 individuos e idealmente se debería haber trabajado con 4 muestras por sujeto:

- Una muestra en estado basal sin suplementación
- Una muestra post-ejercicio sin suplementación
- Una muestra en estado basal con suplementación (probiótico o placebo)
- Una muestra post-ejercicio con suplementación (probiótico o placebo)

Esto supondría un total de 132 muestras plasmáticas a analizar. Sin embargo, debido a las dificultades propias de la investigación, se recibieron y analizaron 92 muestras (realizándose cada ensayo por duplicado). Es

importante destacar que, una vez desvelado el doble ciego, se observó que solo 24 de los 33 sujetos totales habían completado el estudio adecuadamente.

## **D.2. Descripción clínica de los datos**

Desde una perspectiva clínica, los datos recibidos son muestras biológicas de tipo sanguíneo, extraídas a deportistas de Crossfit participantes en el estudio en momentos distintos (en estado basal y post-ejercicio antes y después de la intervención). El plasma de estas muestras sanguíneas fue procesado por otro miembro del grupo de investigación. Se alicuotizaron para evitar los ciclos de congelación-descongelación, y se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis, para evitar la degradación de los biomarcadores que se van a analizar.

Concluyendo, para el correcto desarrollo de este TFG se ha partido de las muestras de plasmas de los deportistas ya extraídas, procesadas y debidamente almacenadas.

*Apéndice E*

---

## **Manual de especificación de diseño**

---

**E.1. Planos**

**E.2. Diseño arquitectónico**





## Especificación de Requisitos

### F.1. Diagrama de casos de uso

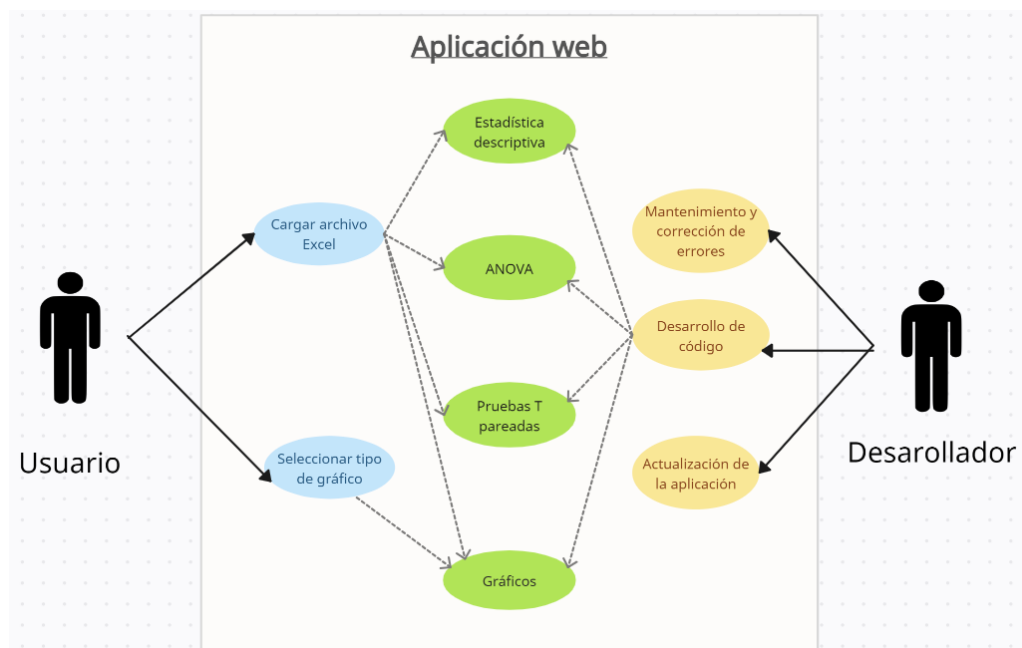


Figura F.1: Diagrama de casos de uso. Fuente propia con Creately.

En el diagrama de casos de uso (Figura: [F.1](#)) se pueden identificar dos actores. En primer lugar encontramos al usuario que puede interactuar con la aplicación web a través de dos acciones principales: cargar los archivos Excel y seleccionar el tipo de gráfico con el que desea visualizar los resultados. Por

otro lado, encontramos el desarrollador, que es responsable del desarrollo de la aplicación, del mantenimiento y corrección de errores y de la actualización de herramienta. Las acciones del usuario desencadenan automáticamente los análisis estadísticos que incluyen la estadística descriptiva, el ANOVA, las pruebas T pareadas y diferentes tipos de gráficos.

## F.2. Explicación casos de uso.

Se pueden diferenciar los siguientes casos de uso:

- **Carga del archivo Excel:** El usuario puede cargar los archivos Excel (siguiendo el formato ya indicado) que contengan los datos experimentales que desea analizar estadísticamente.
- **Seleccionar tipo de gráfico:** El usuario puede elegir entre los diferentes tipos de gráficos para representar sus datos, adaptándose así a las necesidades específicas de visualización que desee.
- **Visualizar el análisis estadísticos:** Una vez cargado el archivo, el sistema crea automáticamente una tabla de estadística descriptiva, una tabla del ANOVA, una tabla de las pruebas T pareadas y el tipo de gráfico seleccionado.

## *Apéndice G*

---

# Estudio experimental

---

## G.1. Cuaderno de trabajo.

Para un correcto desarrollo del ensayo que se ha llevado a cabo en este TFG, se han realizado distintos métodos experimentales, con las muestras de plasma de los deportistas por duplicado (para la obtención de resultados mas fiables). Los métodos experimentales realizados son los siguientes:

### Cuantificación de proteínas mediante Bradford

#### Marco teórico

Está basado en la cuantificación de proteínas mediante su unión al colorante Azul de Coomassie G-250, formando un complejo azul de distintas intensidades, en función de la concentración proteica de la muestra. La cuantificación de las proteínas se mide mediante espectrofotometría a 595 nm [Winkler, 2017].

#### Protocolo experimental

1. Mezclar el reactivo Bradford en la botella y llevarlo a temperatura ambiente.
2. Preparar los estándares de proteína en el buffer (tampón fosfato 10 mM y pH=7.4) entre 0.1-1.4 mg/mL. Utilizar el estándar de proteína BSA en otro estándar de proteína equivalente.
3. Añadir 5  $\mu$ L de los estándares de BSA en los pocillos separados de la placa de 96 pocillos. Para los pocillos blancos añadir 5  $\mu$ L del buffer.

4. Añadir a cada pocillo en uso 250  $\mu\text{L}$  de Bradford y mezclar en una agitadora durante aproximadamente 30 segundos.
  5. Incubar a temperatura ambiente entre 5 y 45 minutos. Medir la absorbancia a 595 nm. Hay que recordar que el complejo proteína-colorante es estable hasta los 60 minutos.
  6. Graficar la absorbancia neta versus la concentración de BSA.
  7. Determinar la concentración de proteína en la muestra comparando los valores de absorbancia neta a 595 nm contra la curva estándar.
- Cálculos: la concentración de proteína, en  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , se calculó a partir de la recta de calibrado (Figura: G.1).

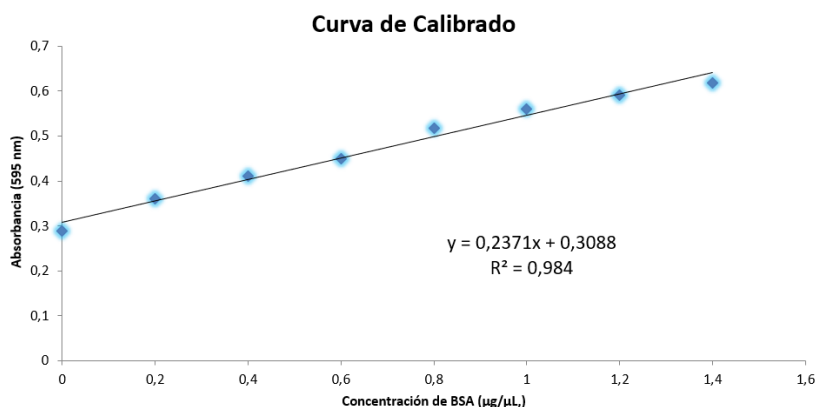


Figura G.1: Curva de calibrado de Bradford. Fuente propia con Excel.

- Reactivos:
- Reactivo de Bradford (Sigma - Aldrich)
  - Solución estándar de proteína BSA (albúmina de suero bovino)
  - Buffer (tampón fosfato 10 mM y pH=7.4)

## Cuantificación de proteínas mediante Nanodrop

### Marco teórico

La cuantificación espectrofotométrica con Nanodrop se basa en la medición de la cantidad lumínica que puede absorber la muestra a distintas

longitudes de onda, y midiendo de este modo concentración de proteínas totales sin distinguir su actividad [Scientific, 2024]. Es un método simple, económico que requiere muy poca cantidad de muestra pero de menor precisión que el método de Bradford. No obstante, es ideal para una estimación inicial del contenido proteico de las muestras.

### Protocolo experimental

1. Homogeneizar la muestra con el vórtex.
  2. Hacer una dilución de 10:1000.
  3. Pipetear 1  $\mu\text{L}$  de la disolución y depositarlo en el objetivo del Nanodrop.
  4. Medir la absorbancia de la muestra en el Nanodrop.
  5. Anotar el resultado de concentración proteica mostrada en la pantalla del Nanodrop.
- Cálculos: la concentración de proteína mostrada en la pantalla del Nanodrop es en  $\text{mg/mL}$ , se calculó convirtiéndola a  $\text{g/dL}$  y multiplicándola por la dilución.
  - Reactivos: no se requieren reactivos específicos

## Cuantificación de proteínas carboniladas

### Marco teórico

Está basado en la unión covalente de la 2,4- dinitrofenilhidracina a los grupos carbonilos de las proteínas que es cuantificada mediante espectrofotometría a 370 nm [Irazusta et al., 2008].

### Protocolo experimental

1. Mezclar 30  $\mu\text{L}$  de plasma con 30  $\mu\text{L}$  DNPH 10 mM, previamente disuelto en HCl 2.5 M.
2. Incubar la mezcla a temperatura ambiente y protegida de la luz durante 10 minutos.

3. Añadir 15  $\mu\text{L}$  de hidróxido de sodio (NaOH) 6 M y agitar para disolver la proteína.
  4. Esperar 10 minutos y medir la muestra mediante espectrofotometría con una longitud de onda de 370nm
- Cálculos: la concentración de carbonilos totales en el plasma, en nM/mg de proteína, se calculó a partir de la absorbancia obtenida y el coeficiente de extinción molar.
  - Reactivos:
    - Dinitrofenilhidracina (DNPH) 10mM (disuelto en HCl 2.5 M)
    - Hidróxido de sodio (NaOH) 6 M

## Cuantificación de peroxidación lipídica mediante Malondialdehído (MDA)-TBARs

### Marco teórico

Está basado en la reacción del ácido tiobarbitúrico por el ataque en sus grupos metilenos activos del malondialdehído que es cuantificada mediante un espectrofotómetro a 530 nm [De Leon and Borges, 2020]. Cabe destacar que lo ideal sería usar técnicas HPLC para validar las concentraciones de MDA, ya que el método TBA puede reaccionar con otros aldehídos y generar falsos positivos.

### Protocolo experimental

1. Precipitar 30  $\mu\text{L}$  de plasma con 60  $\mu\text{L}$  de TCA (8 % p/v).
2. Enfriar durante 10 minutos a 4°C.
3. Centrifugar a 2100g durante 15 minutos y a una temperatura de 4°C.
4. Lavar el pellet proteico con 140  $\mu\text{L}$  de TCA (6 % p/v).
5. Obtención del pellet proteico.
6. Añadir 200  $\mu\text{L}$  de TBA (0.67 % p/v) y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 % v/v).
7. Incubar a 60°C durante 90 minutos.
8. Enfriar en hielo.

9. Centrifugar a 2100g durante 15 minutos y a una temperatura de 4°C
  10. Medir la absorbancia de 100  $\mu$ L de sobrenadante en el espectrofotómetro a 530 nm.
- Cálculos: la concentración de peroxidación lipídica, en nM/mg de proteína, se calculó a partir de la curva de calibrado (Figura: G.2) construida en el rango de 0-0.06 nmol de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP), utilizado como estándar del MDA ya que genera malondialdehído de manera controlada durante la reacción, lo que permite realizar curvas de calibración para cuantificar MDA en muestras experimentales.

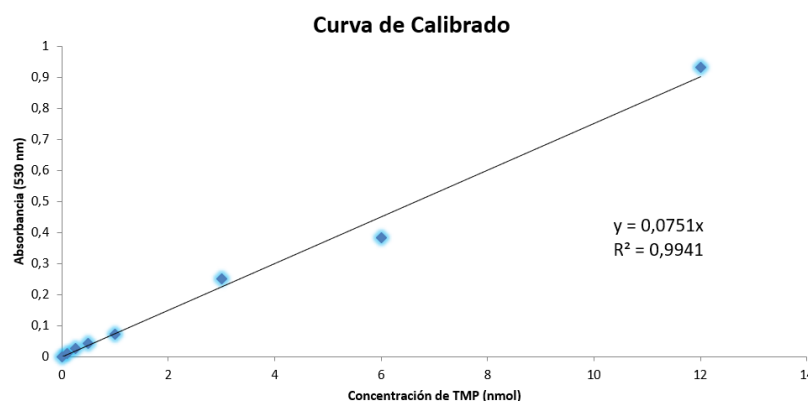


Figura G.2: Curva de calibrado de MDA. Fuente propia con Excel.

■ Reactivos:

- Ácido tricloroacético TCA (8 % p/v)
- Ácido tricloroacético TCA (6 % p/v)
- $H_2SO_4$  (1 % v/v)
- Ácido tiobarbitúrico TBA (0,67 % p/v)

## Cuantificación de la capacidad antioxidante total mediante Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

### Marco teórico

Está basado en la cuantificación del nivel de reducción del ion férrico (localizado en el reactivo FRAP), a ion ferroso causado por la presencia de

antioxidantes en la muestra. La reducción provoca un compuesto azulado, cuya intensidad depende del poder antioxidante, que es medido mediante espectrofotometría a 593 nm [Benítez-Estrada et al., 2020].

### Protocolo experimental

1. Preparar la solución de TPTZ (10 mM) en HCl (40 mM) con cloruro férrico (20 mM) y tampón acetato (pH 3.6).
  2. Preparar el patrón de Trolox (10 mM en etanol) con 6 diluciones seriadas.
  3. Incubar la muestra de plasma con la solución de TPTZ durante 30 minutos a temperatura ambiente.
  4. Medir la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro a 593 nm.
- Cálculos: la concentración de capacidad antioxidante total, en equivalente de Trolox  $\mu\text{M}$ , se calculó a partir de la curva de calibrado (Figura: G.3).

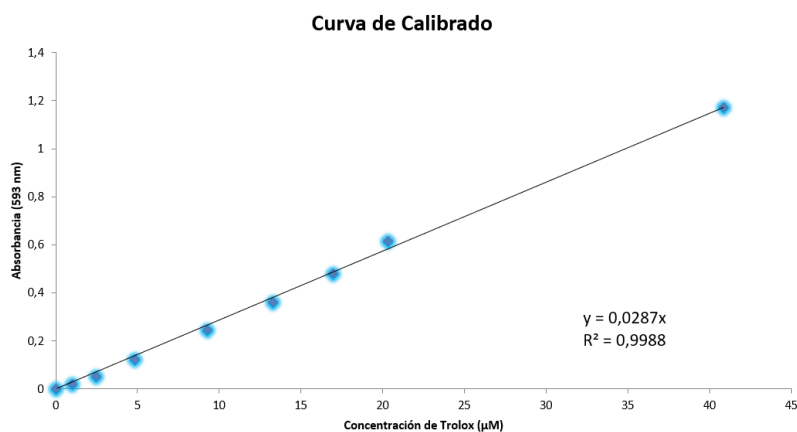


Figura G.3: Curva de calibrado de FRAP. Fuente propia con Excel.

■ Reactivos:

- TPTZ (10 mM)
- HCl (40 mM)
- Cloruro férrico (20 mM)



- Tampón acetato (pH 3.6)
- Trolox (10 mM en etanol)
- Etanol

## Cuantificación del glutatión reducido (GSH)

### Marco teórico

Método basado en la fluorescencia que se produce por la reacción específica entre el glutatión reducido y el o-ftalaldehído (OPA). La fluorescencia es excitada a 360 nm y medida la emisión a 460nm [Denzoin Vulcano et al., 2013].

### Protocolo experimental

1. Mezclar 10  $\mu\text{L}$  de plasma con 12,5  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (25 %) y 37  $\mu\text{L}$  de tampón fosfato (100 mM, 5 mM EDTA, pH=8.0).
  2. Incubar a 4°C durante 10 minutos.
  3. Centrifugar a 2100g durante 20 minutos a 4°C.
  4. Tomar 10  $\mu\text{L}$  del sobrenadante y mezclar con 10  $\mu\text{L}$  de OPA (0,1 % en metanol) y 180  $\mu\text{L}$  de tampón fosfato.
  5. Tras 15 minutos de reacción se excita la fluorescencia a 360 nm y se mide a 460 nm.
- Cálculos: la concentración glutatión reducido, en nanogramos de proteína, se calculó a partir de la curva de calibrado (Figura: G.4) construida en el rango de 0-40 ng/ $\mu\text{L}$ .
  - Reactivos:
    - Orto-Ftalaldehído (OPA) (0,1 % p/v en metanol)
    - $\text{H}_3\text{PO}_4$  (25 % p/v)
    - Tampón fosfato (100 mM, 5 mM EDTA, pH=8.0)

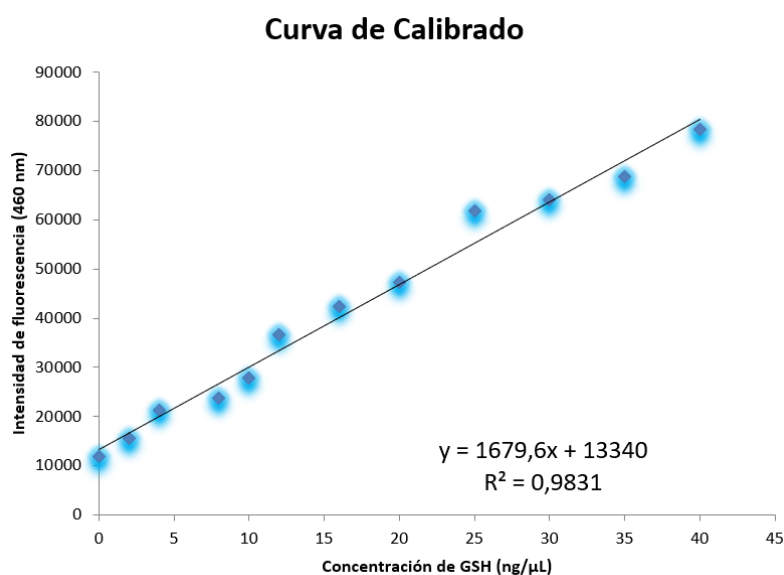


Figura G.4: Curva de calibrado de GSH. Fuente propia con Excel.

## Cuantificación del glutatión oxidado (GSSG)

### Marco teórico

Método basado en la fluorescencia que se produce por la reacción específica entre el glutatión disulfuro y el oftalaldehído (OPA) pero eliminando el glutatión oxidado mediante N-etilmaleimida (forma un compuesto que no reacciona con OPA). La fluorescencia es excitada a 360 nm y medida la emisión a 460nm [Denzoin Vulcano et al., 2013].

### Protocolo experimental

1. Mezclar 10  $\mu\text{L}$  de plasma con 12,5  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (25 %) y 37  $\mu\text{L}$  de tampón fosfato (100 mM, 5 mM EDTA, pH=8.0).
2. Incubar a 4°C durante 10 minutos.
3. Centrifugar a 2100g durante 20 minutos a 4°C.
4. Tomar 10  $\mu\text{L}$  del sobrenadante y mezclar con 4  $\mu\text{L}$  de NEM.
5. Dejar reaccionar durante 40 minutos.
6. Tomar 10  $\mu\text{L}$  del sobrenadante de la reacción anterior y mezclar con 10  $\mu\text{L}$  de OPA (0,1 % en metanol) y 180  $\mu\text{L}$  de tampón NaOH.

7. Tras 15 minutos de reacción se excita la fluorescencia a 360 nm y se mide a 460 nm.
- Cálculos: la concentración glutatión oxidado, en nanogramos de proteína, se calculó a partir de la curva de calibrado (Figura: G.5) construida en el rango de 0-40 ng/mL.

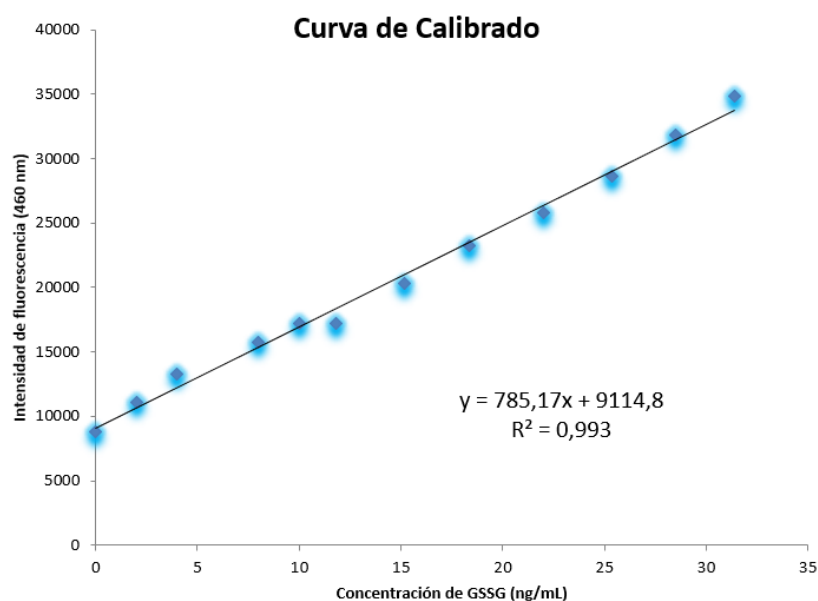


Figura G.5: Curva de calibrado de GSSG. Fuente propia con Excel.

- Reactivos:
  - Orto-Ftaldehído (OPA) (0,1 % p/v en metanol)
  - $H_3PO_4$  (25 % p/v)
  - Tampón fosfato (100 mM, 5 mM EDTA, pH=8.0)
  - NEM (N-Etilamida 0,0088g/mL)
  - NaOH (0,1N)

## G.2. Configuración y parametrización de las técnicas

Los equipos necesarios para el correcto desarrollo de este ensayo son los siguientes:

- pH-metro PH50 VioLab
- Incubador IKA KS 4000 I control
- Incubador INDELAB
- Balanza analítica RADWAG AS 220.R2 PLUS
- Lector de placas BioTek Cytation 5 Cell Imaging Multimode Reader
- Centrifuga Thermo Scientific Megafuge 16R Centrifuge
- Microcentrífuga Biocen 22R orto Alresa
- Congelador Whirlpool
- NanoDrop DeNovix DS-11
- Mezclador Vortical Fisherbrand
- Agitador magnético digital con calefacción H03D series lbx instruments
- Sistema de agua desionizada Milli-Q Direct 8
- Ultracongelador vertical INNOVA U101 New Brunswick

Los reactivos necesarios para llevar a cabo la totalidad de los experimentos son los siguientes:

- Reactivo de Bradford
- Solución estándar de proteína BSA (albúmina de suero bovino)
- Dinitrofenilhidracina (DNPH) 10mM (disuelto en HCl 2.5 M)
- Hidróxido de sodio (NaOH) 6 M
- Acido tricloroacético TCA (8 % p/v)
- Acido tricloroacético TCA (6 % p/v)
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1 % v/v)
- Ácido tiobarbitúrico TBA (0,67 % p/v)
- TPTZ (10 mM)
- TPTZ (10 mM)

- HCl (40 mM)
- Cloruro férrico (20 mM)
- Tampón acetato (300mM pH 3.6)
- Trolox (10 mM en etanol)
- Etanol
- Orto-Ftaldehído (OPA) (0,1 % p/v en metanol)
- $\text{H}_3\text{PO}_4$  (25 % p/v)
- Tampón fosfato (100 mM, 5 mM EDTA, pH=8.0)
- NEM (N-Etilamida 0,0088g/mL)
- NaOH (0,1N)

### **G.3. Detalle de resultados.**

Los resultados de cada método probado se encuentran analizados en la memoria y de forma detallada en cada anexo entregado en formato de Excel, junto con sus respectivos análisis estadísticos en formato Statgraphics.



## *Apéndice H*

---

# **Anexo de sostenibilización curricular**

---

## **H.1. Introducción**

Este Trabajo de Fin de Grado sobre el efecto de la suplementación con probióticos en deportistas de Crossfit abarca diversos campos en relación con la sostenibilidad y la responsabilidad social, los cuales son explicados a continuación.

## **H.2. Derechos Humanos y Valores Democráticos**

Esta investigación se enmarca dentro de los principios éticos y de respeto a los derechos humanos fundamentales. Al tratarse de una investigación que involucra muestras biológicas humanas, se han seguido una serie de protocolos establecidos para garantizar la protección de los participantes, su autonomía y el consentimiento informado. Además, el proyecto ha sido aprobado por la Comisión de Bioética de la Universidad del País Vasco, velando por el cumplimiento de los valores democráticos, la equidad y la no discriminación durante el desarrollo de la investigación, como ya se ha mencionado anteriormente.

### **H.3. Igualdad de Género y No Discriminación**

En el marco de este estudio, se ha respetado la igualdad de oportunidades y la no discriminación por razón de género, ya que se ha involucrado deportistas de Crossfit independientemente de su sexo. Como ya se ha visto, los criterios de inclusión de los participantes no establecen diferencias en función del sexo, permitiendo una distribución equitativa de hombres y mujeres en los grupos de intervención. Igualmente, el reclutamiento de los sujetos y la recopilación de datos se han realizado de forma imparcial, sin sesgos ni preferencias de género establecidas. De esta forma, se asegura que los resultados obtenidos reflejen de manera justa y representativa a la población de deportistas de Crossfit, sin ningún sesgo por razón de género.

### **H.4. Accesibilidad Universal**

Aunque es cierto que este Trabajo de Fin de Grado no aborda directamente aspectos relacionados con la accesibilidad universal, cabe destacar que los futuros desarrollos y aplicaciones derivados de esta investigación deberán considerar la inclusión y la accesibilidad como principios fundamentales a tener en cuenta. En el contexto de la práctica deportiva y la suplementación nutricional, es de vital importancia garantizar que las intervenciones y recomendaciones sean accesibles y adaptables a las necesidades de todos los individuos, sin tener en cuenta por ejemplo sus capacidades cognitivas, sensoriales o físicas.

### **H.5. Sostenibilidad y Cambio Climático**

Con respecto a la sostenibilidad, este estudio presenta implicaciones relevantes. La práctica del Crossfit, al ser una disciplina que combina ejercicios de alta intensidad y corta duración, se caracteriza por un elevado gasto energético y, en consecuencia, un mayor consumo de recursos. Con este enfoque, la investigación de estrategias nutricionales como en este caso, la suplementación con probióticos, puede contribuir a mejorar la eficiencia y la recuperación de los atletas, mejorando de este modo el uso de recursos y reduciendo en cierto modo el impacto ambiental que puede conllevar la práctica deportiva. De igual modo, este ensayo puede aportar conocimientos para comprender de mejor manera los mecanismos fisiológicos implicados en la adaptación al ejercicio físico intenso, lo que a su vez, permite desarrollar



estrategias de entrenamiento y recuperación más sostenibles, que permitan a los atletas alcanzar un alto rendimiento sin comprometer su salud a largo plazo.

## **H.6. Reflexión Personal**

A lo largo de todo el desarrollo de este Trabajo de Fin de Grado, he tenido la oportunidad de adquirir y aplicar competencias variadas en relación con la sostenibilidad y la responsabilidad social.

En primer lugar, he considerado los aspectos éticos y de derechos humanos en el diseño y ejecución de la investigación, puesto que utiliza seres humanos como sujetos.

Asimismo, me he concienciado de la necesidad de promover la igualdad de género y la no discriminación en todos los ámbitos, como es en este caso en el de la investigación científica. La inclusión independientemente del sexo y la adopción de un enfoque imparcial en la recopilación y análisis de datos, me han servido para conocer como todas estas cuestiones afectan en el desarrollo de una ciencia más justa e inclusiva.

Aunque este trabajo no aborda directamente la accesibilidad universal como ya se ha comentado, he reflexionado sobre la importancia de considerarla para futuras aplicaciones y desarrollos basados en la investigación.

Por último, en relación con la sostenibilidad y el cambio climático, este estudio me ha concienciado acerca de la necesidad de buscar soluciones que puedan optimizar el uso de recursos y puedan reducir el impacto ambiental que conlleva la práctica deportiva. Las investigaciones de estrategias nutricionales, como este Trabajo de Fin de Grado, pueden contribuir a este fin, mejorando la eficiencia y recuperación de los atletas.



---

## Bibliografía

---

- [Agilent, 2024] Agilent (2024). Microplate data analysis software, biotek plate readers | agilent. (Accessed on 06/13/2024).
- [Benítez-Estrada et al., 2020] Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., and Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determination of the total antioxidant capacity of food and human plasma by photochemiluminescence: Correlation with spectrophotometric (frap) and fluorometric (orac) assays. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23(1):1–9.
- [De Leon and Borges, 2020] De Leon, J. A. D. and Borges, C. R. (2020). Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (159):e61122.
- [del Estado, 2002] del Estado, B. O. (2002). Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. *BOE de*, 15(11):2002.
- [del Estado, 2018] del Estado, B. O. (2018). Ley orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de protección de datos personales y garantía de los derechos digitales. *BOE de*, 15(11):70.
- [DeNovix, 2024] DeNovix (2024). Espectrofotómetro denovix ds-11 frente a thermo fisher nanodrop™ one. (Accessed on 06/14/2024).
- [Denzoin Vulcano et al., 2013] Denzoin Vulcano, L. A., Soraci, A. L., and Tapia, M. O. (2013). Homeostasis del glutatión. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 47(3):0–0.

- [Irazusta et al., 2008] Irazusta, V., Moreno-Cermeño, A., Ros, J., and Tamarit, J. (2008). Estrategias proteómicas para el análisis de grupos carbonilo como marcadores de daño oxidativo en proteínas.
- [Microsoft, 2023] Microsoft (2023). Especificaciones y límites de excel - soporte técnico de microsoft. (Accessed on 06/07/2024).
- [Scientific, 2024] Scientific, T. (2024). 3091-nanodrop-one-user-guide-v1.3-sw-spanish.pdf (protegido). (Accessed on 06/14/2024).
- [Statgraphics, 2024] Statgraphics (2024). Download statgraphics centurion 19. (Accessed on 06/13/2024).
- [Talent, 2024] Talent (2024). Salario para biólogo en españa - salario medio. (Accessed on 06/13/2024).
- [Winkler, 2017] Winkler (2017). kit-proteinas-bradfor.pdf. (Accessed on 06/05/2024).