

RELACION ENTRE EL NITROGENO RETENIDO POR RATAS, DETERMINADO POR ANÁLISIS CORPORAL DE NITROGENO Y POR MEDIO DE BALANCE NITROGENADO

Ricardo Bressani¹, Lucrecia Urrutia de Valle² y Luiz G. Elías³

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala, C.A.

RESUMEN

Se utilizaron dietas de caseína para alimentar a ratas macho de 21 a 23 días de edad, las que aportaban 2.5, 5.0, 10.0 y 15.0% de proteína. Además, se incluyó un grupo control que recibió una dieta libre de proteína. En cuatro ratas se determinó el nitrógeno y el contenido de agua corporal, así como el balance de nitrógeno, lo que se hizo cada 7 días para cada nivel de proteína. Ajeno a ello, al principio del experimento se sacrificó un grupo de 22 ratas analizándolas por su contenido de agua y nitrógeno.

El peso total (vivo o seco), el incremento ponderal (vivo o seco) y el nitrógeno total del cuerpo del animal aumentaron con respecto al tiempo para cada nivel de proteína, excepto el grupo cuya ración no contenía proteína (0%). Como era de esperar, los cambios fueron más notorios cuando los niveles de proteína eran mayores. Asimismo, el balance de nitrógeno y el nitrógeno retenido, determinados por medio del balance nitrogenado o por análisis del cuerpo del animal, aumentaron en función del nivel de proteína y del tiempo. Las relaciones de las dos medidas con respecto a la ingesta fueron lineales, con una regresión de $Y = -0.070 + 0.700 X$ para el balance de nitrógeno, y de $Y = -0.036 + 0.474 X$ para el nitrógeno retenido, el cual se midió por análisis del

- 1.3 Jefe y Científico de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP, respectivamente.
2. El presente estudio se basa en el trabajo de tesis que, en su carácter de becario, realizó en los laboratorios de la citada División la Lic. de Valle, como requisito de graduación de la Escuela de Nutrición del Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos (CESNA), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia/INCAP.

Publicación INCAP E-902.

Recibido: 17-11-1975.

cuerpo del animal. A pesar de que entre el nitrógeno retenido, medido por balance, y el medido por análisis del cuerpo del animal hubo una relación lineal, los coeficientes de regresión fueron diferentes, indicando ambos la calidad de la proteína.

En consecuencia los datos señalan que las evaluaciones de calidad proteínica valiéndose del balance nitrogenado, dan valores más altos que las evaluaciones basadas en el análisis del cuerpo animal. Los datos del estudio también demuestran que —aun cuando no se pueden explicar— en la determinación del nitrógeno retenido aplicando el método de balance, y el determinado por análisis, existe una diferencia, y que ésta aumenta en base absoluta en función del tiempo y del nivel de ingestión de la proteína.

La implicación derivada de estos resultados es que el método de balance de nitrógeno sobreestima la calidad de la proteína, aun cuando se utilicen varios niveles de ingestión de ésta, y como consecuencia, se han subestimado los requerimientos proteínicos.

Por lo tanto, es necesario caracterizar la naturaleza del nitrógeno que aparentemente no se está midiendo en estudios de balance nitrogenado, y compararlo con las retenciones de nitrógeno determinado directamente.

INTRODUCCION

El método comúnmente usado para evaluar la calidad proteínica en seres humanos jóvenes o adultos, es el de balance nitrogenado. Este mide de una manera indirecta la cantidad de nitrógeno depositado en el organismo.

El método de balance de nitrógeno se usa en animales de experimentación, al igual que otros métodos que determinan directamente la cantidad de nitrógeno depositado en el cuerpo del animal¹⁻⁶. La experiencia indica que el método indirecto, o sea el de medir el nitrógeno depositado en el animal a través del balance de nitrógeno, rinde valores altos, posiblemente debido a que no mide todas las pérdidas de nitrógeno. Se ha señalado que estas pérdidas pueden ocurrir por el sudor⁷, por los gases de la respiración¹⁰, gases intestinales⁷ y tal vez también por otras vías.

El objetivo principal de este trabajo fue estudiar la relación entre el nitrógeno retenido, determinado directamente, y el nitrógeno retenido determinado indirectamente midiendo la diferencia entre el nitrógeno ingerido y el excretado, y a la vez, tratar de establecer la magnitud y las razones de la deficiencia en caso de que ésta exista. El tema es de interés, ya que en años recientes se han usado dos métodos para estimar las necesida-

des fisiológicas mínimas de proteína total: el método factorial, y la determinación de la ingestión mínima de nitrógeno necesario para sustentar una tasa de crecimiento dada en niños, o una retención de N positiva o equilibrio nitrogenado en adultos. Las implicaciones que de ello se derivan, por consiguiente, son importantes, ya que si el balance nitrogenado rinde valores más altos que el medido por análisis directo, los requerimientos se están subestimando. Además, los resultados del presente estudio proporcionan información adicional sobre nuevos métodos para evaluar las proteínas, como lo es el "slope ratio" ¹¹.

MATERIALES Y METODOS

Se llevaron a cabo estudios de balance nitrogenado y determinación de nitrógeno en el carcás de un total de 110 ratas macho, cepa Wistar, de la colonia animal del INCAP, de 21 a 23 días de edad y cuyo peso inicial oscilaba entre 50 y 54 gramos.

Las ratas fueron alimentadas con dietas que contenían diferentes niveles de proteína (caseína): 2.5, 5.0, 10.0 y 15.0%, respectivamente, y con una dieta libre de nitrógeno (Cuadro 1).

CUADRO 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Ingredientes	Libre de N	Dietas con			
		2.5%	5% g/100g	10%	15%
Caseína (libre de vitaminas)	-	2.80	5.60	11.20	16.80
Minerales*	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de algodón	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Almidón de maíz	90.00	87.20	84.40	78.80	73.20
Solución de vitaminas**	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml

* Hegsted et al. (16).

** Manna & Hauge (17).

Al inicio de cada período de balance nitrogenado y determinación directa del nitrógeno retenido en los tejidos, se sacrificaron ratas de 21 días de edad: 6 del grupo alimentado con la dieta libre de nitrógeno, y 4 de cada uno de los grupos cuyas dietas contenían los diferentes niveles de proteína citados. Las 4 dietas de caseína fueron distribuidas al resto de los animales, asignando 16 ratas por nivel proteínico.

En cada grupo experimental se realizaron 4 balances continuos de 7 días de duración cada uno, terminando cada período a los 7, 14, 21, y 28 días. En cada período de balance se colectaron heces y orina, y se midió la ingesta de nitrógeno de los 7 días consecutivos.

Además, al finalizar cada período de 7 días se analizó el contenido de nitrógeno del carcás de las ratas correspondiente a ese lapso.

Los animales fueron sacrificados con cloroformo; se anotó el peso húmedo y luego se desecaron al vacío en un horno a la temperatura de 72 a 80 °C durante 72 horas. Se pesó el carcás deshidratado y se determinó la humedad. Seguidamente se molió el carcás y se tomó parte de la muestra homogeneizada para analizarla por su contenido de nitrógeno.

Durante los períodos experimentales se llevó un registro del peso de los animales, cuya ingesta de nitrógeno se controló dándoles 10 g diarios de la dieta respectiva, previamente analizada por su contenido de nitrógeno. Al final de cada período se recolectaron orina y heces; estas últimas se desecaron y se tomó su peso seco. Los análisis de nitrógeno de dietas, orina, heces y carcás se hicieron por el método de Kjeldahl¹².

Con base en los datos de aumentos de peso, consumo de proteína, balance de nitrógeno y contenido de nitrógeno de los tejidos para cada período de 7 días, se calculó la relación de aumento en peso a proteína ingerida, y de valor biológico y nitrógeno retenido, a nitrógeno ingerido.

Con miras a confirmar las relaciones que pudieran encontrarse en el experimento descrito, se efectuó un ensayo adicional con 4 ratas macho alimentadas con la dieta que contenía 10% de proteína, en las que se realizó un balance de nitrógeno semanal; al finalizar el período experimental, de 28 días los animales fueron sacrificados para análisis de nitrógeno corporal.

RESULTADOS

Contenido de nitrógeno y agua al destete

El peso seco de 22 ratas al destete (21 días) promedió 14.43 \pm 0.25 g (X \pm E.E.), con un contenido promedio de humedad de 71.4 \pm 0.31%, y uno de nitrógeno en base seca, de 9.19 \pm 0.130%. El contenido máximo de agua fue de 74.5% y el mínimo de 69.1%. En el caso del nitrógeno, la variación fue de 8.08 a 10.36% en base seca.

El contenido de nitrógeno total en el carcás dio un promedio de 1.326 \pm 0.015 g para los animales, con una variación de 1.224 a 1.462 g.

Cambios en peso, contenido de agua y de nitrógeno de ratas alimentadas con diferentes niveles proteínidos en la dieta.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de los cambios observados durante los periodos de 7, 14, 21 y 28 días en ratas alimentadas con dietas que contenían 2.5, 5.0, 10.0 y 15.0% de proteína. Para el grupo alimentado con la dieta libre de proteína, el peso de los animales disminuyó con el tiempo, de 51 g al inicio del estudio, hasta 37 g a los 28 días. La misma tendencia se observó en la cantidad de agua, en el peso seco de la rata, y en el contenido de nitrógeno total del carcás.

Los animales que consumieron la ración con 2.5% de proteína mantuvieron un peso estable durante los 28 días de estudio. El porcentaje de humedad y el nitrógeno en el carcás permanecieron relativamente constantes; sin embargo, los valores fueron menores que los que acusaron las ratas alimentadas con la dieta sin proteína. Según se determinó, el contenido total de nitrógeno en el carcás aumentó en función del tiempo, mientras que el contenido de agua en el mismo carcás se mantuvo relativamente constante.

En el mismo Cuadro se exponen los resultados obtenidos con la dieta que contenía 5% de proteína. El peso de las ratas así como el contenido absoluto de agua, el peso seco y el nitrógeno total del carcás aumentaron directamente con respecto al tiempo experimental. En términos de porcentaje, la humedad del carcás disminuyó progresivamente con el tiempo. Asimismo, el porcentaje de nitrógeno del carcás en cada período

CUADRO 2

CAMBIOS EN PESO, Y CONTENIDO DE AGUA Y DE NITROGENO DEL CARCÁS DE
RATAS ALIMENTADAS CON NIVELES DIFERENTES DE PROTEÍNA EN LA DIETA

Días	Peso promedio	Cambio en peso g*	Humedad en el carcás, g/100g	Peso de agua g	Peso seco promedio, g	Nitrógeno en el carcás, g/100g	Nitrógeno total g
0 % de proteína							
0	51	-	71.4	36.4	14.43	9.19	1.326
7	45	-6	66.5	29.9	15.12	8.16	1.234
14	41	-10	69.2	28.4	12.56	9.52	1.196
21	39	-12	68.4	26.7	12.28	9.05	1.111
28	37	-14	69.5	25.7	11.34	9.21	1.044
2.5% de proteína							
7	49	-2	66.9	32.8	16.35	8.22	1.344
14	51	0	65.2	33.2	17.60	7.98	1.404
21	51	0	66.5	33.9	16.93	8.38	1.419
28	52	1	65.2	33.9	18.03	8.33	1.502
5% de proteína							
7	60	9	67.0	40.2	19.90	8.24	1.640
14	70	19	65.3	45.7	24.26	8.10	1.941
21	77	26	64.4	45.6	27.31	7.84	2.141
28	82	31	63.1	51.7	30.39	7.78	2.364
10% de proteína							
7	73	22	69.4	50.7	22.41	8.96	2.008
14	91	40	68.1	62.0	29.37	9.12	2.678
21	105	54	66.4	69.7	35.20	8.76	3.084
28	118	67	64.6	76.2	41.86	8.62	3.608
15% de proteína							
7	77	26	67.2	51.7	25.25	8.76	2.212
14	100	49	68.6	68.6	31.50	9.60	3.024
21	119	68	66.5	79.1	39.70	9.66	3.835
28	131	80	66.4	87.0	43.64	9.44	4.120

* Del peso a los 0 días.

do fue menor que el valor inicial y que el valor precedente.

Los hallazgos que se muestran en el Cuadro 2, revelan los cambios ocurridos durante los periodos de estudio en las ratas alimentadas con 10% de proteína en la dieta. El peso vivo, el peso seco, el contenido de agua total y el de nitrógeno total aumentaron de los 7 a los 28 días de experimentación. Al igual que con las dietas de menor contenido proteínico, el contenido de humedad y el de nitrógeno del carcás fueron más bajos que el valor promedio inicial de las ratas, y disminuyeron en función del tiempo.

Finalmente, el Cuadro muestra los resultados correspondientes a las ratas que recibieron 15% de proteína en la dieta. Según se observa, se obtuvo un mayor peso promedio, vivo o seco, lo que también aplica al agua total del carcás y al nitrógeno en cada período, que al administrárseles los otros niveles de proteína en la dieta. El porcentaje de humedad fue siempre menor que el de las ratas al inicio del estudio. El porcentaje de nitrógeno a los 7 días fue menor que el de las ratas al comienzo del experimento, y en los períodos siguientes sobrepasó ligeramente el valor inicial llegando a 9.66% a los 21 días.

Balance de nitrógeno y cambios en el nitrógeno del carcás de ratas alimentadas con diferentes niveles proteínicos en periodos de 7, 14, 21 y 28 días.

Los resultados obtenidos sobre el balance de nitrógeno y análisis de nitrógeno del carcás se presentan en el Cuadro 3, y los mismos valores, corregidos por el nitrógeno metabólico fecal y el endógeno urinario, se dan a conocer en el Cuadro 4. En las ratas alimentadas con la dieta libre de nitrógeno, el nitrógeno retenido acumulado fue relativamente constante entre una semana y otra. Los resultados concernientes a cambios del nitrógeno del carcás arrojaron cantidades negativas y cada vez mayores en función del tiempo.

Las cifras del nitrógeno retenido fueron siempre más altas al determinarse por el método de balance de nitrógeno que por análisis directo del carcás.

En el mismo Cuadro 4 se presentan los hallazgos relativos al balance de nitrógeno y al nitrógeno retenido, derivado del análisis del carcás de ratas cuyas dietas contenían 2.5% de proteína. El nitrógeno retenido acumulado fue mayor en términos del tiempo, obteniéndose una cifra de 54 mg a los 7 días, y otra de 337 mg a los 28 días.

El nitrógeno retenido en el carcás aumentó con el tiempo, y los valores obtenidos aplicando el método de balance de nitrógeno, fueron siempre mayores que los que rindió el análisis directo del carcás.

Los resultados de la parte del estudio en la que los animales recibieron la dieta con 5% de proteína se muestran también en el Cuadro 4.

Los valores de nitrógeno ingerido, nitrógeno retenido acumu-

CUADRO 3
BALANCE DE NITROGENO DE RATAS ALIMENTADAS CON NIVELES
DIFERENTES DE PROTEINA EN LA DIETA

Días	Nitrogeno, mg/rata/semana				Retenido	Cambios en nitrogeno del carcás* mg
	Ingerido	Fecal	Urinario	Absorbido		
0% de proteína						
7	47	35	75	12	-63	-92
14	71	48	97	23	-74	-130
21	100	67	92	33	-59	-215
28	126	91	108	35	-73	-282
2.5% de proteína						
7	190	39	97	151	54	18
14	373	74	130	299	169	78
21	492	93	160	399	239	93
28	643	142	164	501	337	176
5.0% de proteína						
7	543	69	125	474	349	314
14	1102	146	209	956	747	615
21	1676	211	338	1465	1131	815
28	2141	259	420	1882	1462	1038
10.0% de proteína						
7	1063	65	210	998	788	682
14	2214	166	447	2048	1601	1352
21	3354	264	774	3090	2316	1758
28	4502	396	987	4106	3119	2282
15.0% de proteína						
7	1695	77	511	1618	1107	886
14	3479	169	922	3310	2386	1698
21	5269	269	1409	5000	3591	2509
28	6991	357	1909	6634	4725	2794

* N retenido en el carcás = N total del carcás de las ratas al final del periodo experimental (7, 14, 21, 28 días) - N total del carcás de ratas iniciales (0 días)..

lado, y nitrógeno retenido en el carcás, determinado directamente, acusaron una tendencia a elevarse en función del tiempo. Sin embargo, los valores de nitrógeno retenido fueron siempre más altos cuando se obtuvieron por balance de nitrógeno que al hacerse la determinación directa. El Cuadro 4 muestra también los resultados obtenidos al proporcionar a los animales una dieta con 10% de proteína.

En lo concerniente al nitrógeno ingerido, se observó cierta

CUADRO 4
BALANCE DE NITROGENO DE RATAS ALIMENTADAS CON NIVELES
DIFERENTES DE PROTEINA EN LA DIETA*

Días	Nitrogeno, mg/rata				Retenido	Cambios en el nitrogeno del carcás mg
	Ingerido	Fecal	Urinario	Absorbido		
2.5% de proteína						
7	190	4	22	186	164	110
14	373	26	33	347	314	208
21	492	26	68	466	398	308
28	643	51	56	592	536	458
5.0% de proteína						
7	543	34	50	509	459	406
14	1102	98	112	1004	892	745
21	1676	144	242	1532	1290	1030
28	2141	168	312	1973	1661	1320
10.0% de proteína						
7	1063	30	135	1033	898	774
14	2214	118	350	2096	1746	1482
21	3354	197	682	3157	2475	1973
28	4502	305	879	4197	3318	2564
15.0% de proteína						
7	1695	42	436	1653	1217	978
14	3479	121	825	3358	2533	1828
21	5269	202	1317	5067	3750	2724
28	6991	266	1801	6725	4924	3076

* Valores de N fecal y N urinario corregidos por N endógeno y N metabólico.

tendencia a mayores valores con respecto al tiempo, los que ascendieron a 1.063 g a los 7 días, hasta 4.502 g a los 28. El nitrógeno retenido acumulado mostró esa misma tendencia.

El nitrógeno retenido en el carcás, determinado directamente, aumentó a medida que transcurría el tiempo, siendo más altos los valores obtenidos por medio del balance de nitrógeno, que los que rindió el análisis directo del carcás.

Los resultados obtenidos con la dieta con 15% de caseína se muestran también en el Cuadro 4. De la misma manera que con otros niveles proteínicos, el nitrógeno ingerido aumentó en función del tiempo, obteniéndose una ingesta de 6.991 g de nitrógeno a los 28 días del estudio.

En este caso también se observó la misma tendencia a obtener resultados mayores en términos del tiempo tanto en lo referente al nitrógeno retenido acumulado, obtenido por el

método de balance nitrogenado, como en el determinado directamente en el carcás.

Al igual que ocurrió con los otros niveles proteínicos estudiados, los datos obtenidos mediante el balance de nitrógeno fueron mayores.

Valor biológico, relación del nitrógeno retenido en los tejidos a nitrógeno ingerido, y relación entre el aumento en peso y la proteína ingerida.

Valor biológico. Los hallazgos correspondientes al valor biológico se exponen en el Cuadro 5, habiéndose colectado datos para los diferentes niveles proteínicos en cada una de las 4 semanas que abarcó el estudio.

Los valores obtenidos con las raciones que contenían 5 y 10% de caseína mostraron una ligera tendencia a disminuir en función del tiempo; con la dieta con 15% de caseína los valores permanecieron constantes cada semana, y con la de 2.5% se obtuvieron valores variables. Con respecto al nivel de proteína, los valores definitivamente tendieron a descender.

Relación del nitrógeno retenido en los tejidos a nitrógeno ingerido. Los datos sobre NPU se presentan en el mismo Cuadro 5. Como puede verse, los valores disminuyeron a medida que transcurría el tiempo en todos los niveles de proteína estudiados, con excepción del 2.5%. También se observó que a mayor nivel de proteína en la dieta, menor era el valor de la utilización proteínica neta.

Relación entre el aumento en peso y la proteína ingerida. En el Cuadro 5 se detallan también los resultados del índice de eficiencia proteínica (PER) de ratas alimentadas con distintos niveles de proteína en la dieta.

Según se aprecia, en todos los grupos los valores tendieron a disminuir con respecto al tiempo. Las cifras más elevadas corresponden a los grupos cuyas dietas contenían 10% de proteína. También se puede observar que a mayor nivel de proteína en la dieta corresponde un menor valor del índice de eficiencia proteínica.

CUADRO 5

RELACION DEL NITROGENO RETENIDO EN LOS TEJIDOS A
NITROGENO INGERIDO, Y RELACION ENTRE EL AUMENTO
EN PESO Y LA PROTEINA INGERIDA

Nivel proteínico en dieta %	Semana			
	1	2	3	4
Valor biológico, %				
2.5	88.2	90.5	85.4	90.5
5.0	90.2	88.8	84.2	84.2
10.0	86.9	83.3	78.4	79.0
15.0	73.6	75.4	74.0	73.2
Relación del nitrógeno retenido en los tejidos, a nitrógeno ingerido				
2.5	83	75	83	91
5.0	83	74	67	68
10.0	77	70	62	60
15.0	60	54	54	46
Relación entre el aumento de peso y la proteína ingerida				
2.5	-	-	-	0.25
5.0	2.65	2.76	2.48	2.32
10.0	3.31	2.58	2.58	2.38
15.0	2.45	2.25	2.06	1.83

DISCUSION

En estudios relacionados con la calidad proteínica, la cantidad de nitrógeno retenido por el organismo animal se puede obtener ya sea a través de la diferencia constatada entre el nitrógeno ingerido y el total excretado en heces y orina, o mediante el análisis de nitrógeno efectuado directamente en el cuerpo del animal.

Puesto que, obviamente los dos métodos deberían rendir la misma cantidad, el propósito del estudio fue tratar de determinar las diferencias que pueden existir entre los dos métodos que frecuentemente se utilizan para obtener la cantidad de nitrógeno retenido de proteínas de diferente calidad nutritiva. Se sabe que el método de balance nitrogenado da valores más altos que el método de análisis directo. Sin embargo, las razones de esa diferencia no se han establecido y, lo que es peor aún, los valores se utilizan con mucha frecuencia para estimar requerimientos proteínicos.

Los resultados del presente estudio pueden ser analizados,

ya sea considerando la edad del animal como variable independiente, o usando la ingesta de proteína a través del tiempo experimental. Las estimaciones que caracterizan estas asociaciones son muy semejantes con los dos tipos de variable independiente; por lo tanto, los datos se pueden analizar de acuerdo a la ingesta proteínica, que para los propósitos del estudio es más importante que la edad del animal. Además, la ingestión proteínica fue una condición experimental que se introdujo al diseño a través de dietas que contenían concentraciones de proteína de 2.5 a 15%, derivadas de caseína.

Con respecto a peso e ingestión de proteína, los datos se resumen en la Figura 1, donde las 4 líneas representan las ecuaciones de regresión entre el nitrógeno ingerido y el peso total,

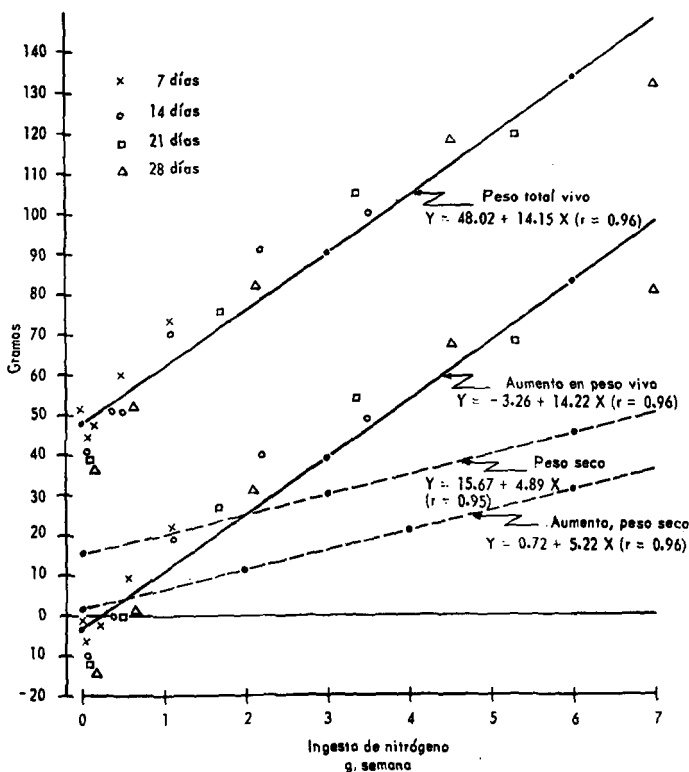


Figura 1

Regresiones entre el nitrógeno ingerido y los cambios en peso de las ratas.

y entre el aumento en peso vivo y peso seco. Muestra también los ecuaciones de regresión y los datos obtenidos según la edad, identificados por diferentes signos.

La relación entre ingestión y peso es lineal y de significado estadístico, como ya lo han informado varios investigadores^{13,14}. En cuanto a las relaciones entre ingestión de nitrógeno o peso total y aumento en peso vivo, se nota que son prácticamente paralelas, con un coeficiente de regresión de 14.15 para la de peso total, y de 14.22 para la de aumento en peso. El intercepto de la ecuación a una ingestión de nitrógeno fue de 48 g, que es similar al peso inicial de los animales de 51 g.

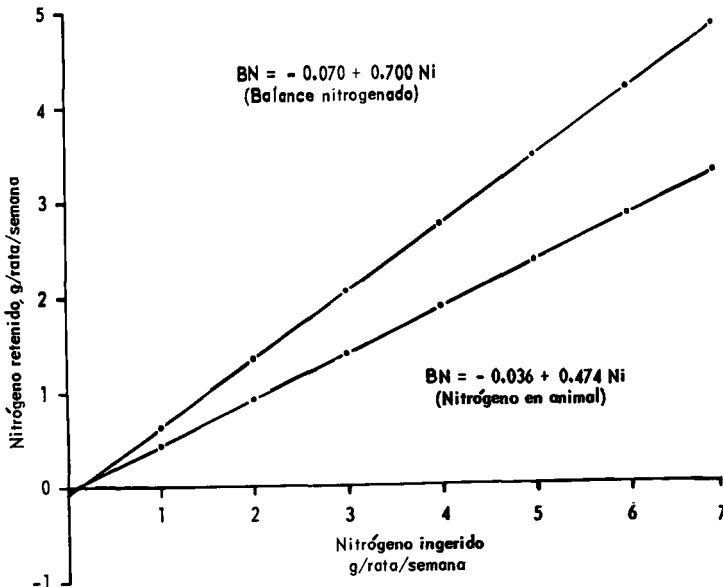
Con respecto al peso o al aumento en peso seco, las regresiones son casi paralelas entre sí, pero no con las de peso vivo. Las correlaciones son altamente significativas, y el intercepto a una ingestión de cero de N para un peso seco de 15.7 g es similar al peso inicial seco de 14.4 g.

Ahora bien, lo que llama la atención es la diferencia en el coeficiente de regresión entre las ecuaciones de peso vivo y las de peso seco. No obstante, las ecuaciones significan lo mismo e indican que la tasa de deposición de materia seca en el periodo experimental es constante, siendo de 34.5% del peso húmedo cuando se usan los coeficientes de peso total, y de 36.7% al usar el aumento en peso. Durante todo el periodo de 28 días el porcentaje de agua en el cuerpo se mantuvo constante, pero en base absoluta aumentó hasta 3.5 veces a los 28 días cuando la dieta contenía 15% de proteína. Las ecuaciones aplicadas a un grupo de ratas alimentadas por 28 días con una dieta con 10% de proteína de caseína, dieron predicciones de 93, 88, 86 y 83% del peso vivo total, aumento en peso, peso seco total y aumento en peso seco, respectivamente, medido directamente.

A partir de los datos del Cuadro 2, también se estableció una relación directa y altamente significativa entre el nitrógeno ingerido y el nitrógeno total en el cuerpo del animal, lo cual se esperaba, con una regresión de ingesta a nitrógeno total de $Y = 1.293 + 0.474 X$ ($r = 0.98$). Esta relación es igual si se analizan los datos según la edad del animal. La tasa de deposición de nitrógeno para todos los niveles de proteína fue de 0.47 g por gramo de N ingerido.

La ecuación, aplicada a un grupo de ratas alimentadas por 28 días con 10% de proteína de caseína dio 87.2% del contenido de nitrógeno del cuerpo de las ratas determinado directamente

(3.4 g vs 3.9 g de N): Usando el contenido de agua y nitrógeno total y la edad de las ratas, se calculó la ecuación de regresión de la relación N/H_2O a tiempo, la cual resultó ser, $N/H_2O: 3.09 + 0.032 X$, que es similar a la notificada por otros grupos de investigadores ^{5 15}



Incap 76-307

Figura 2

Relación entre el nitrógeno ingerido y la retención de nitrógeno obtenido por balance nitrogenado o por análisis de nitrógeno del animal.

La Figura 2 representa la relación que se encontró entre el nitrógeno ingerido y el nitrógeno retenido, medido por balance de nitrógeno, y el nitrógeno retenido, medido por análisis del contenido de N del animal. La primera relación, o sea entre el nitrógeno ingerido y el nitrógeno retenido, obtenido por balance, se conoce como el índice de balance nitrogenado ¹³, siendo el coeficiente de regresión el índice del valor biológico de la proteína. Para la caseína, en este estudio fue de 0.70, cifra que compara favorablemente con los valores en la literatura ¹³. Ahora bien, lo mismo significa

la relación entre el nitrógeno ingerido y el retenido, pero obtenido por medio del análisis de nitrógeno en el cuerpo del animal. En otras palabras, el índice de valor biológico para la caseína es de 0.47 o 67.7% del primer valor. Estos datos indican, pues, que el método de balance da valores más altos que los determinados por análisis corporal de nitrógeno, ya que de cada gramo ingerido, 0.70 g se retienen cuando se determina por balance de nitrógeno, y sólo 0.47 g cuando se determina directamente. En base absoluta, la magnitud de la diferencia aumenta a medida que la ingestión de nitrógeno es mayor, y también aumenta con respecto al tiempo. Existe, por consiguiente, una diferencia acumulativa en cuanto a la ingestión de proteína y el tiempo, a pesar de que la relación entre el nitrógeno retenido —medido por balance— a nitrógeno retenido —medido por análisis— se mantiene relativamente constante, en particular con dietas que contienen más de 2.5% de proteína. Esta relación es de 1.3 con una variación del 1.1 a 1.6. Las dos ecuaciones de la Figura 2 se usaron para predecir los valores que se obtendrían usando la dieta con 10% de proteína. La predicción para el nitrógeno retenido, determinado por balance, fue de 93.8% (3.00 vs 3.21) y 80.7% para la retención por análisis, que fue de 2.05 vs 2.54. Se calcularon las regresiones de nitrógeno retenido por balance y aumento en peso ($Y = 0.158 + 0.046 X$, $r = 0.97$) y de nitrógeno retenido por análisis del animal y aumento en peso ($Y = 0.087 + 0.033 X$, $r = 0.99$). Con estas ecuaciones se pudo predecir los valores correspondientes a las ratas que, en otro experimento, fueron alimentadas con 10% de proteína. Así, para la predicción de nitrógeno retenido por análisis se obtuvo un valor de 3.242 vs el experimental de 3.211, y para la predicción de nitrógeno retenido por análisis corporal, de 3.624 vs el experimental, de 3.862 g. Estas predicciones son bastante adecuadas.

En el transcurso de los últimos años el método de eficiencia proteínica ha sido objeto de crítica, fundada en el hecho de que éste es un método cuyos resultados provienen de un punto, o sea 9% de proteína en la dieta. Este criterio es apropiado, ya que dicho valor no puede proyectarse a situaciones en las que la dieta contiene mayor o menor cantidad de proteína. El método clásico de valor biológico y el de balance de nitrógeno determinados con base en un punto fijo de ingestión, ha sido objeto de la misma crítica. Tampoco existe ninguna razón para que el

mismo punto de vista no sea aplicado al NPU, ya que todos estos métodos son afectados por el nivel proteínico usado, hecho que varios investigadores han demostrado¹⁵ y que también se indica en el presente estudio. Por consiguiente, los valores para caseína que aquí se informan, se derivan de varios puntos, y caen dentro de los valores que se señalan en el Cuadro 5, correspondientes a valor biológico, relación entre retención de nitrógeno e ingesta de N, y relación entre el aumento en peso y la proteína ingerida.

Los coeficientes de regresión entre nitrógeno ingerido y aumento en peso (Fig. 1), entre nitrógeno ingerido y balance de nitrógeno, y entre nitrógeno ingerido y nitrógeno en el cuerpo del animal, son índices del PER, del valor biológico y del NPU, respectivamente.

Los datos del estudio demuestran, aunque no lo explican, que en la determinación del nitrógeno retenido, establecido por balance y el determinado por análisis, existe una diferencia, y que ésta aumenta en base absoluta en función del tiempo y de nivel de ingesta de proteína.

Bien puede ser que la diferencia entre las dos estimaciones de retención de nitrógeno se deba a que el método de balance mide principalmente el nitrógeno de mantenimiento más bien que el nitrógeno realmente depositado en los tejidos, o sea que la diferencia radica más bien en el nitrógeno depositado en el cuerpo del animal. Esta suposición la sustentan las diferencias observadas, que al principio son mínimas, ya que al inicio del crecimiento las necesidades para mantenimiento son pequeñas. Desde luego, este aspecto debe ser confirmado por nuevas investigaciones al respecto, pues indudablemente debe haber una alta correlación entre la calidad de la proteína requerida para propósitos de mantenimiento, y la depositada en los tejidos.

Es probable que la misma situación ocurre en el hombre, en quien el nitrógeno retenido se estima por medio de balances de nitrógeno de larga duración, calculándose a partir de estos datos los requerimientos de proteína. En vista de los resultados del presente estudio, parece ser que los requerimientos se subestiman debido a la mejor utilización aparente del N determinado por balance. Si en realidad éste es el caso, sería necesario explicar las razones de la diferencia observada entre el N retenido, determinado por balance, y el establecido por análisis.

SUMMARY

Relationship between nitrogen retained in rats as determined by body chemical analysis, and by nitrogen balance.

Male rats 21-23 days of age were fed with casein diets containing 2.5, 5.0, 10.0 and 15.0% protein. A control group fed protein-free diets was also included. The water and nitrogen content of the body as well as the nitrogen balance were determined in 4 rats every 7 days for each level of dietary protein. At the start of the study, a total of 22 rats were analyzed also for their water and nitrogen content.

Natural or dried total body weight, weight gain and total body nitrogen increased with respect to time for each protein level, except for the group fed the nitrogen-free diet (0%). As was to be expected, the changes were greater with the higher levels of dietary proteins. Similarly, nitrogen balance or nitrogen retained, determined either by the nitrogen balance method or by analysis of the body of the animal, increased with respect, to the level of dietary protein and of time.

The relations of either measurement with respect to nitrogen intake were linear, with a regression of $Y = -0.070 + 0.700 X$ for nitrogen balance, and of $Y = -0.036 + 0.474 X$ for nitrogen retained measured by body nitrogen analysis. Even though there is a linear relation between nitrogen retention determined by nitrogen balance and by body nitrogen analysis, both regression coefficients are different; however, both represent protein quality. The data indicate, therefore, that protein quality evaluations measured by nitrogen balance give higher values than evaluations based on body nitrogen analysis. The information collected from this study further demonstrates that, although it cannot explain it, there is a difference between the two methods of measuring nitrogen retention, and that this difference increases on an absolute basis, in function of both time and level of protein intake.

The implication derived from these results is that nitrogen retention, measured by nitrogen balance, overestimates protein quality even when various levels of nitrogen intake are used; as a consequence, protein requirements are underestimated.

It is necessary, therefore, to characterize the nature of the nitrogen which apparently is not measured by the nitrogen balance technique, comparing it with nitrogen retention, measured by body nitrogen analysis.

BIBLIOGRAFIA

1. Bender A.E. Relation between protein efficiency and net protein utilization. *Brit. J. Nutr.*, 10: 135-143, 1956.
2. Bender, A.E. & B.H. Doell. Biological evaluation of proteins: a new aspect. *Brit. J. Nutr.*, 11: 140-148, 1957.
3. Bender, A.E. & B.H. Doell. Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. *Brit. J. Nutr.*, 11: 138-139, 1957.

4. Bender, A.E. & D.S. Miller. A new brief method of estimating net protein value. *Biochem. J.*, **53**: vii, 1953.
5. Bender, A.E. & D.S. Miller. Constancy of the N/H₂O ratio of the rat and its use in the determination of the net protein value. *Biochem. J.*, **53**: vii-viii, 1953.
6. Bressani, R., J.E. Braham, L.G. Elías & S. de Zaghi. Relationship between net protein utilization (NPU) and nitrogen efficiency ratio (NER). *Nutr. Dieta*, **7**: 161-174, 1965.
7. Calloway, D.H., A.C.F. Odell & S. Margen. Sweat and miscellaneous nitrogen losses in human balance studies. *J. Nutrition*, **101**: 775-786, 1971.
8. Cuthberston, D.P. & W.S.W. Guthrie. The effect of variations in protein and salt intake on the nitrogen and chloride content of sweat. *Biochem. J.*, **28**: 1444, 1934.
9. Mitchell, H.H. & T.S. Hamilton (with W.T. Haines). The dermal excretion under controlled environmental conditions of nitrogen and minerals in human subjects with particular reference to calcium and iron. *J. Biol. Chem.*, **178**: 345-361, 1949.
10. Costa, G. Hypothetical pathway of nitrogen metabolism. *Nature*, **188**: 549-552, 1960.
11. Hegsted, D.M. & R. Neff. Efficiency of protein utilization in young rats at various levels of intake. *J. Nutrition*, **100**: 1173-1180, 1970.
12. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 9th ed. Washington, D.C., The Association, 1960, p. 12.
13. Allison, J.B. Biological evaluation of proteins. *Physiol. Rev.*, **35**: 664-700, 1955.
14. Bosshardt, D.K., L.C. Ydse, M.M. Ayres & R.H. Barnes. The use of mice for the measurement of the growth promoting quality of proteins. *J. Nutrition*, **31**: 23-33, 1946.
15. Pellett, P.L. Methods of protein evaluation with rats. I. (Chapter 15). En: *Proteins in Human Nutrition*. J.W.G. Porter and B.A. Rolls (Eds.). New York, N.Y., Academic Press, 1973.
16. Hegsted, D.M., R.C. Mills, C.A. Elvehjem & E.B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.*, **138**: 459-466, 1941.
17. Manna, L. & S.M. Hauge. A possible relationship of vitamin B₁₃ to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, **202**: 91-96, 1953.