

ESTUDIO SOBRE UNA MODIFICACION DE LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS CON RATAS PARA EVALUACION DE LA CALIDAD PROTEINICA

José Félix Chávez¹ y Peter L. Pellett²

Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela, Caracas, Venezuela,
y Universidad de Massachusetts, Amherst, Mass.,
Estados Unidos de América

RESUMEN

En el presente trabajo se da cuenta de una modificación que simplifica el procedimiento experimental de los ensayos biológicos sometidos a estudio, y destinados a evaluar la calidad proteínica. Esta consiste en alojar cuatro ratas en una misma jaula para cada dieta, en vez de seis u ocho animales requeridos normalmente. La evolución de peso corporal y el consumo promedio de alimento por rata, se determinó dividiendo entre cuatro el total hallado en cada caso, al final del tiempo de experimentación seleccionado. Los métodos utilizados fueron: valor nutritivo relativo (VNR); valor proteínico relativo (VPR); índice de eficiencia proteínica (PER); relación proteínica neta (RPN) y utilización proteínica neta (UPN). Estos métodos se aplicaron con la modificación descrita y sin ella, en la investigación de la calidad de las siguientes comidas: arepa + carne; arroz + caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*); arepa + caraotas negras; maíz + caraotas negras; arepa + margarina; spaghetti + queso, y

Manuscrito modificado recibido: 5-4-82.

- 1 Jefe, División de Investigaciones en Alimentos, Instituto Nacional de Nutrición, Apartado Postal 2049, Caracas, Venezuela.
- 2 Científico del Food Science and Nutrition Department, University of Massachusetts, Amherst, Mass., EUA.

carne mechada + arroz + caraotas negras + plátano maduro. Los resultados obtenidos con los métodos modificados comparan aceptablemente con los calculados a partir de los mismos métodos, pero utilizando los procedimientos convencionales. A pesar de que se encontraron discrepancias entre algunos valores de UPN, en general los índices de evaluación proteínica, en especial el PER, coinciden en la jerarquización de las dietas según su calidad. Se observó en todos los casos un consumo de alimento sistemáticamente menor en los animales alojados colectivamente.

Se presenta la composición en aminoácidos esenciales de las comidas preparadas, y se identifica el aminoácido limitante en cada una de ellas. El orden de calidad basado en el cómputo químico es igual al obtenido mediante la evaluación biológica.

La aplicación de la metodología simplificada fue, además, estudiada en la evaluación de las siguientes proteínas: caseína; caseína + metionina; gluten de trigo; gluten de trigo + lisina y proteína de soya. Los resultados evidencian una respuesta claramente diferente, de acuerdo con la calidad de la dieta, y los valores del VNR y del VPR para las proteínas sin suplementar, son similares a los notificados en la literatura.

Se concluye que la metodología simplificada de los ensayos biológicos utilizados, presenta ciertas ventajas con respecto a los procedimientos convencionales en cuanto a consumo de dieta, número de animales utilizados, tiempo dedicado a los ensayos, espacio, equipo, y costo 'global' de los experimentos.

INTRODUCCION

La revisión de la metodología para evaluar la calidad proteínica ha recibido considerable atención en los últimos años y hasta el presente no existe todavía uniformidad de criterio en cuanto al uso de un procedimiento confiable, reproducible, y cuyos resultados no sean objeto de controversia.

Excelentes reseñas crítico-comparativas sobre el tema, son las publicadas recientemente por Pellett (1), Jansen (2), Bodwell (3) y McLaughlan (4).

La información derivada de las experiencias efectuadas con las técnicas de relación de las pendientes, VNR y VPR, sobre el aprovechamiento de las proteínas, especialmente de aquellas de baja calidad, sugiere que la metodología tradicional de evaluación ha sobreestimado apreciablemente su calidad (5). En el transcurso de experiencias destinadas a establecer la veracidad de este criterio en comidas propias del área latinoamericana, particularmente de

Venezuela (6), nos pareció de interés tratar de simplificar la metodología práctica de los ensayos biológicos corrientemente utilizados en la evaluación de la calidad proteínica de dichas comidas, y en otras dietas preparadas a tal efecto. El estudio de esta modalidad y la discusión de los resultados obtenidos, constituyen el tema del presente trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Ensayos Biológicos

Los ensayos biológicos se efectuaron con ratas blancas de ambos sexos, de la cepa Sprague-Dawley, con un peso inicial comprendido entre 40 y 55 gramos. Los animales fueron suministrados por Charles River Breeding Laboratories, Wilmington, Massachusetts, EUA.

Metodología de los ensayos biológicos. Los diversos niveles de proteína de la dieta basal, de control con lactalbúmina, y de cada una de las dietas experimentales preparadas a partir de las combinaciones de alimentos, se exponen en la Tabla 1. Todas estas dietas fueron estudiadas al mismo tiempo y en igualdad de condiciones, en dos grupos de animales, distribuidos de la siguiente manera:

Grupo I, seis animales, tres hembras y tres machos, mantenidos en jaulas individuales, tipo gaveta, y de las siguientes dimensiones: ancho, 18 cm; alto 18 cm, y profundidad, 24.5 cm, de tela metálica con fondo levadizo.

Grupo II, integrado por cuatro ratas, dos hembras y dos machos, alojados todos en una misma jaula, idéntica a las usadas en el Grupo I. Las dietas indicadas en la Tabla 2 solamente se ensayaron en los animales del Grupo II. En ambas modalidades de ensayo los animales fueron seleccionados al azar y todos recibieron agua y comida *ad libitum*.

Tanto en el Grupo I (ratas alojadas en jaulas individuales) como en el Grupo II (cuatro ratas mantenidas en una misma jaula), se tomó nota de la evolución de su peso corporal y de la dieta consumida (dieta suministrada menos dieta dejada) dos veces por semana durante un período de 21 días. Para el control del Grupo II se tomó el peso de todos juntos, y se dividió entre cuatro; el consumo individual de dieta se determinó dividiendo el total de alimento consumido entre cuatro y adoptándose este cociente como la cantidad de alimento correspondiente por igual a cada animal.

TABLA 1

NIVELES PROTEINICOS CALCULADOS DE LAS DIETAS
SUMINISTRADAS A AMBOS GRUPOS (GRUPO I Y II)

Tipo de dieta	Proteína original %o	Niveles calculados de proteína en dieta %o		
Arepa + carne (10:7) ^a	22.2 ^b	3	5	7
Arepa + caraotas negras (10:8)	16.6	5	7	10
Arepa + margarina (20:1)	8.2	3	5	7
Arroz + caraotas negras (8:2)	10.2	3	5	7
Maíz + caraotas negras (17:3)	10.8	3	5	7
Spaghetti + queso + salsa (90:5:5)	15.7	3	5	7
Arroz + caraotas negras + tajás + carne (10:13:10:10)	22.0	3	5	7
Lactalbúmina	74.5	3	5	8
Dieta basal (libre de proteínas)	—	0	0	0

a Proporciones de cada uno de los alimentos listos para el consumo.

b Sobre peso seco.

TABLA 2
NIVELES PROTEINICOS CALCULADOS DE LAS DIETAS
SUMINISTRADAS SOLO AL GRUPO II^a

Tipo de dieta	Proteína original %	Niveles calculados de proteína en dieta %		
Caseína	89.1	5	7	10
Caseína + 0.56% de L-metionina ^b	89.1	5	7	10
Gluten de trigo	81.6	10	15	20
Gluten de trigo + 3.26% de L-lisina ^b	81.6	10	15	20
Proteína de soya	66.8	4	9	13

a Proteínas suministradas por The Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, EUA.

b Véase texto para la explicación del nivel de aminoácido agregado.

Estos grupos requirieron atención más frecuente y en todo momento se tuvo cuidado de mantener un suministro adecuado de agua y comida.

Metodología de la evaluación de la calidad proteínica. A partir del alimento consumido y del contenido de nitrógeno de cada dieta establecido por análisis, se calculó la ingestión de nitrógeno o proteína individualmente para todos los animales. Luego, estos valores fueron utilizados para determinar los siguientes parámetros, de acuerdo con la metodología correspondiente a la evaluación de la calidad proteínica:

Índice de eficiencia proteínica (PER), relación proteínica neta (RPN), utilización proteínica neta (UPN), valor nutritivo relativo (VNR), valor proteínico relativo (VPR) y cómputo químico o "score". En este estudio se utilizó el Patrón FAO/OMS 1973 (7), por considerarse superior a los demás para predecir el aminoácido limitante y por mostrar buena correlación con la UPN (8).

Composición de las dietas. La dieta basal libre de proteínas se elaboró de acuerdo a las especificaciones de Hegsted, Neff y Worcester (9) y tenía la siguiente composición en base a 100 g (todos los ingredientes, excepto el aceite de maíz, fueron suplidos por Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio): almidón de maíz, 84.5 g; aceite de maíz, 9.5 g; aceite de hígado de bacalao, 0.5 g; mezcla de sales USP XIV, 5 g, y mezcla de vitaminas, 0.5 g.

Todas las demás dietas experimentales se prepararon a partir de la dieta basal, sustituyendo el almidón de maíz por el alimento (proteína) o combinación a ensayar, en la cantidad necesaria para dar el nivel proteínico requerido.

Selección de los alimentos e ingredientes. La selección de los alimentos se hizo en base a la demanda y popularidad de su consumo y se adquirieron en el mercado local, con excepción de las arepas, las cuales fueron elaboradas por nosotros a partir de una marca comercial de harina de maíz precocida.

Cada uno de ellos fue preparado y cocido individualmente de acuerdo con las manipulaciones corrientemente usadas en el hogar y mezclados en las proporciones seleccionadas según la práctica culinaria usual, que se indican en la Tabla 1. Las preparaciones utilizadas fueron: arepa con carne mechada, arepa con caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*), arepa con margarina, arroz blanco y caraotas negras, maíz amarillo ("funche") y caraotas negras, spaghetti con queso y salsa sin carne y mezcla de carne mechada, arroz blanco, caraotas negras y plátano maduro frito en aceite ("pabellón criollo"); a los efectos de simplificar la redacción, nos referimos en lo sucesivo a esta última combinación como "pabellón". En la misma Tabla 1 se presenta el porcentaje de proteínas sobre peso seco de las combinaciones sometidas a ensayo y los diferentes niveles de proteínas calculados, de las dietas experimentales.

La Tabla 2 ilustra las fuentes de proteínas utilizadas en la confección de las dietas ofrecidas sólo a los animales alojados colectivamente en una misma jaula (Grupo II), su contenido proteínico original, y los diversos niveles calculados de proteína de las dietas experimentales. Se seleccionó el gluten de trigo, la caseína y la proteína de soya, con el objetivo de comparar los valores a obtener en el presente estudio, con los notificados en la literatura para la calidad de estos productos, calculada por la pendiente de la ecuación de la línea recta (10-15). Con el fin de conocer mejor la adecuación de la respuesta de estos animales, se suplementó el gluten de trigo y la caseína con L-lisina y L-metionina respectivamente, en las proporciones indicadas en la misma Tabla 2. En base a la

composición indicada por la FAO (16), las cantidades agregadas de estos aminoácidos se calcularon para nivelar su contenido de acuerdo a lo estipulado en el Patrón FAO/OMS 1973 (7). Todos los niveles de proteína utilizados en las dietas experimentales, se escogieron para satisfacer justamente las necesidades de mantenimiento de la rata joven o ligeramente sobre este nivel, pero aún por debajo del requerido para sustentar un máximo crecimiento (9).

Análisis químico. Se efectuaron determinaciones de proteínas por el método de micro Kjeldahl (17) en la caseína, lactalbúmina, gluten de trigo, y proteína de soya, así como en cada una de las combinaciones de alimentos, ya deshidratados, que se utilizaron en la confección de las dietas experimentales, empleándose en todos los cálculos el factor de conversión 6.25.

Análisis de aminoácidos. Se analizó el contenido de aminoácidos en cada una de las combinaciones de alimentos estudiadas, ya deshidratadas y homogeneizadas. La hidrólisis de las muestras se efectuó de acuerdo al procedimiento descrito por Jamalian y Pellett (18) para alimentos y se utilizó un analizador de aminoácidos Beckman/Spinco Modelo 120C, modificado para el uso de resinas esféricas de alta velocidad, y siguiendo los procedimientos usuales de laboratorio para estos análisis. Se trabajó con un sistema de dos columnas, una para los aminoácidos básicos y otra para los ácidos y neutros. El triptofano se determinó posteriormente por métodos microbiológicos (19, 20). Toda vez que la metionina y la cistina pueden ser parcialmente destruidos durante la hidrólisis ácida, estos aminoácidos azufrados se analizaron mediante un procedimiento alterno el cual comprende una preoxidación y su determinación como metionina sulfona y ácido cisteico, respectivamente (21). Para calcular los valores de los picos obtenidos en los gráficos, se utilizó un Integrador Technicon. Los resultados se expresan en mg de aminoácido por gramo de nitrógeno total (Tabla 3).

RESULTADOS

La Tabla 4 muestra los resultados experimentales, obtenidos con los animales alimentados con las comidas preparadas y alojados en jaulas individuales (Grupo I). Según se aprecia, los tres niveles proteínicos de cada dieta varían entre 3.50/o y 7.80/o, con excepción de la dieta de arepa y caraotas negras cuyos valores fueron de 5.60/o, 6.60/o y 9.50/o, en ese orden.

Información similar, esta vez correspondiente a los animales

TABLA 3
CONTENIDO DE AMINOACIDOS ESENCIALES DE LAS COMIDAS PREPARADAS
 (Expresado en mg/g de nitrógeno)

Aminoácido	Arepa + carne	Arepa + caraotas	Arepa + margarina	Maíz + caraotas	"Pabellón"	Spaghetti + queso	Arroz + caraotas
Isoleucina	303	244	226	258	298	237	243
Leucina	673	623	910	814	544	450	468
Lisina	672	353	117	236	677	198	325
Cistina	109	83	115	123	75	116	78
Metionina	148	89	95	133	140	124	127
Total azufrados	257	172	210	256	215	240	205
Tirosina	261	241	283	282	236	224	238
Fenilalanina	309	338	317	367	297	315	312
Total aromáticos	570	579	600	649	533	539	550
Treonina	295	279	207	243	289	180	239
Valina	343	308	297	316	496	292	320
Triptofano	81	79	34	46	78	77	83
Total	3194	2637	2601	2818	3130	2213	2433

TABLA 4

INFORMACION EXPERIMENTAL DE LOS ANIMALES ALIMENTADOS CON LAS COMIDAS PREPARADAS
(Ratas alojadas individualmente — Grupo I)

Tipo de dieta	Niveles de proteína en las dietas %	Consumo promedio de alimento g	Ingesta de proteínas g/día	Aumento promedio de peso	
				14 días	21 días
Arepa + carne	3.48 ^a	139.2 ^b	0.23 ^b	14.1	19.4
	5.85	225.7	0.62	44.2	58.6
	7.82	246.9	0.92	66.2	89.3
"Pabellón"	3.42	111.5	0.18	9.4	12.6
	5.10	170.6	0.41	20.6	30.9
	6.45	238.6	0.73	46.2	59.9
Arroz + caraotas negras	3.34	118.2	0.19	2.3	4.3
	5.27	189.8	0.48	18.7	32.9
	7.20	227.1	0.78	31.9	49.5
Maíz + caraotas negras	3.47	129.4	0.21	3.9	5.3
	5.19	148.0	0.37	8.0	12.7
	7.13	167.2	0.57	15.1	25.9

TABLA 4 (continuación)

Tipo de dieta	Niveles de proteína en las dietas %o	Consumo promedio de alimento g	Ingesta de proteínas g/día	Aumento promedio de peso	
				14 días	21 días
Arepa + caraotas negras	5.61 ^a	146.3 ^b	0.39 ^b	14.8	19.4
	6.63	177.1	0.55	24.6	35.2
	9.53	239.3	1.08	45.6	67.5
Arepa + margarina	3.10	104.7	0.15	- 1.38	- 1.33
	5.12	109.5	0.26	0.41	2.0
	6.94	123.7	0.41	2.20	4.7
Spaghetti + queso	3.41	111.6	0.18	- 0.11	1.8
	5.24	141.3	0.35	6.1	10.7
	6.96	168.2	0.56	14.4	21.9
Lactalbúmina (control)	3.11	176.8	0.26 ^b	12.7	20.9
	5.18	199.2	0.49	24.0	41.3
	7.96	225.8	0.86	45.3	71.4
Basal (libre de proteínas)	0.31	90.3	—	- 8.8	- 11.9

a Determinados por análisis (véase texto).

b Calculado a los 21 días.

mantenidos juntos en una jaula (Grupo II), se expone en la Tabla 5. El consumo promedio de alimento a los tres niveles de proteína, es algo menor que el observado en el Grupo I (Tabla 4). Por consiguiente, la ingesta promedio de proteínas fue también más baja, variando entre 0.87 g para la dieta de arepa y caraotas negras hasta 0.33 g para la de arepa con margarina, tomando los niveles más elevados de proteína en cada caso. Es de hacer notar que tanto a los 14 como a los 21 días, el aumento ponderal de los animales que consumían la dieta de arepa con carne mechada fue mayor en las dos modalidades de ensayo (Grupos I y II) que el de la respectiva dieta control de lactalbúmina. El peso promedio inicial de las ratas utilizadas en estas experiencias estuvo comprendido entre 44 y 55 g.

El consumo promedio de alimento, en gramos por rata para ambas modalidades de ensayo, figura en la Tabla 6. Se aprecia que tanto a los 14 como a los 21 días el consumo para las nueve dietas experimentales fue mayor en el caso de los animales alojados individualmente (Grupo I) que en el de los mantenidos colectivamente en una sola jaula (Grupo II).

La Tabla 7 ilustra la respuesta obtenida con los animales que consumían las dietas confeccionadas con una sola proteína, suplementadas o no con aminoácidos y sometidas a ensayo sólo en la modalidad experimental identificada como Grupo II. En atención a la calidad del alimento, los niveles proteínicos de las dietas presentaron variaciones más amplias. Por ejemplo, los porcentajes de proteína en las dietas de caseína eran de 5.5, 7.5 y 10.3, y en las de gluten de trigo los niveles fueron de 10.2, 15.1 y 20.0. El agregado de los aminoácidos en los niveles indicados (Tabla 2), no afectó estos porcentajes. A los niveles más altos de proteína, la diferencia entre el consumo promedio de alimento y la ganancia ponderal de los animales que recibieron la dieta de gluten de trigo suplementado con lisina, y el gluten sin suplementar, fue notoriamente más elevada que entre el grupo alimentado con caseína más metionina y caseína sola. La razón es que el gluten es mucho más deficiente en lisina que la caseína en metionina; por lo tanto, al agregar la cantidad de lisina al gluten para elevar el cómputo químico de este aminoácido a 100, su calidad mejoró notablemente. En el caso de la caseína, una proteína con un balance de aminoácidos mucho mejor que el gluten, el agregado de metionina sólo provocó una leve mejoría en su calidad. La Figura 1, en la cual están representados los cómputos químicos de ambas proteínas, mediante barras verticales, al igual que el agregado de ambos aminoácidos,

TABLA 5
INFORMACION EXPERIMENTAL DE LOS ANIMALES ALIMENTADOS CON LAS COMIDAS PREPARADAS
(Cuatro ratas por jaula — Grupo II)

Tipo de dieta	Niveles de proteína en las dietas %	Consumo promedio de alimento g	Ingesta de proteínas g/día	Aumento promedio de peso	
				14 días	21 días
Arepa + carne	3.48 ^a	109.7 ^b	0.18 ^b	8.7	11.8
	5.85	173.7	0.48	30.1	46.1
	7.82	217.5	0.81	48.8	78.8
"Pabellón"	3.42	102.2	0.16	4.2	5.1
	5.10	110.0	0.26	10.7	16.6
	6.45	167.6	0.51	28.8	41.8
Arroz + caraotas negras	3.34	74.2	0.11	1.0	1.3
	5.27	133.5	0.33	10.7	17.7
	7.20	169.0	0.58	29.8	42.6
Maíz + caraotas negras	3.47	107.7	0.18	5.3	5.1
	5.19	115.8	0.28	10.1	12.7
	7.13	127.6	0.43	15.1	22.1

TABLA 5 (continuación)

Tipo de dieta	Niveles de proteína en las dietas %o	Consumo promedio de alimento g	Ingesta de proteínas g/día	Aumento promedio de peso	
				14 días	21 días
Arepa + caraotas negras	5.61 ^a	120.6 ^b	0.32 ^b	11.8	14.5
	6.63	145.6	0.46	21.3	29.3
	9.53	192.7	0.87	37.4	57.3
Arepa + margarina	3.10	88.6	0.13	- 1.3	- 1.6
	5.12	98.0	0.24	1.3	3.1
	6.94	101.2	0.33	1.3	3.6
Spaghetti + queso	3.41	93.0	0.15	- 1.0	- 1.0
	5.24	96.5	0.24	8.0	9.8
	6.96	125.1	0.41	11.7	15.8
Lactalbúmina (control)	3.11	139.7	0.21	10.2	15.5
	5.18	165.7	0.41	22.1	37.5
	7.96	182.1	0.69	38.9	64.9
Basal (libre de proteínas)	0.35	59.1	-	- 6.6	- 8.2

a Determinados por análisis (véase texto).

b Calculado a los 21 días.

TABLA 6

COMPARACION ENTRE LA INGESTA DE ALIMENTO DE LAS DOS MODALIDADES DE ENSAYOS BIOLÓGICOS.
 RATAS ALOJADAS INDIVIDUALMENTE, GRUPO I, Y CUATRO POR JAULA, GRUPO II
 (Promedio, g/rata)

Tipo de dieta	Niveles calculados de proteína en las dietas %	Alojadas individualmente		Cuatro por jaula	
		14 días	21 días	14 días	21 días
"Pabellón	3	78	111	69	102
	5	119	170	70	110
	7	172	238	105	167
Spaghetti + queso	3	75	111	66	93
	5	90	141	67	96
	7	107	168	83	125
Arroz + caraotas	3	79	118	55	74
	5	112	189	85	133
	7	136	227	105	169
Maíz + caraotas	3	85	129	74	107
	5	95	148	75	116
	7	103	167	79	127

TABLA 6 (continuación)

Tipo de dieta	Niveles calculados de proteína en las dietas %	Alojados individualmente		Cuatro por jaula	
		14 días	21 días	14 días	21 días
		g		g	
Arepa + carne	3	104	139	74	109
	5	156	225	114	173
	7	158	246	128	217
Arepa + caraoas	5	104	146	81	120
	7	121	177	93	145
	10	158	239	114	192
Arepa + margarina	3	71	104	60	88
	5	72	109	64	98
	7	81	123	64	101
Lactalbúmina	3	113	176	89	139
	5	119	199	100	167
	8	134	226	107	182
Libre de proteínas	0	—	90	—	59

TABLA 7
INFORMACION EXPERIMENTAL DE LOS ANIMALES ALIMENTADOS CON UNA SOLA PROTEINA
SUPLEMENTADA O NO CON AMINOACIDOS
(Cuatro ratas por jaula — Grupo II)

Tipo de dieta	Niveles de proteína en las dietas %	Consumo promedio de alimento g	Ingesta de proteínas g/día	Aumento promedio de peso	
				14 días	21 días
Caseína	5.49 ^a	138.3 ^b	0.36 ^b	18.2	29.2
	7.46	177.3	0.05	32.7	47.0
	10.30	176.7	0.86	47.2	63.7
Caseína + metionina	5.49	137.8	0.36	23.2	29.7
	7.46	176.0	0.62	40.2	54.2
	10.30	206.5	1.01	58.2	91.5
Gluten de trigo	10.20	124.0	0.60	7.5	11.5
	15.10	130.7	0.94	10.6	17.4
	20.00	140.5	1.34	20.0	30.0

TABLA 7 (continuación)

Tipo de dieta	Niveles de proteína en las dietas %	Consumo promedio de alimento g	Ingesta de proteínas g/día	Aumento promedio de peso	
				14 días	21 días
Gluten de trigo + lisina	10.20	139.5	0.67	21.6	28.7
	15.10	213.5	1.53	56.2	90.4
	20.00	221.3	2.10	70.7	109.0
Proteína de soya	4.51	129.0	0.28	8.5	14.1
	8.70	192.5	0.80	32.7	53.7
	12.91	257.0	1.58	65.8	101.4

a Determinados por análisis (véase texto).

b Calculado a los 21 días.

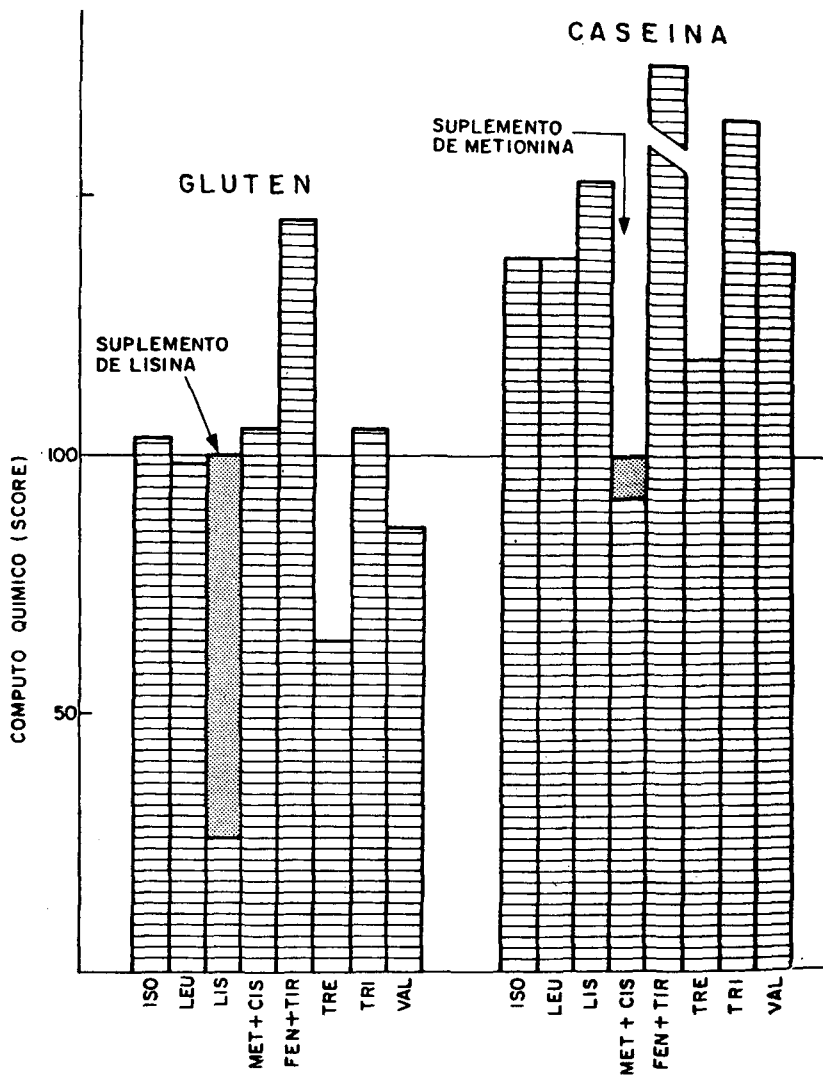


FIGURA 1

Cómputo químico del gluten de trigo
y de caseína
(Patrón FAO/OMS 1973)

ilustra la anterior explicación.

Las Tablas 8 y 9 ilustran las ecuaciones de regresión entre aumento de peso e ingesta de proteínas, ambos expresados en gramos por día y los coeficientes de correlación para todos los experimentos. Se indican también los valores de VNR y de VPR para las comidas preparadas, obtenidos con los animales del Grupo I (Tabla 8) y con los del Grupo II (Tabla 9), incluyendo ésta los correspondientes a las proteínas suplementadas o no con aminoácidos. De acuerdo a estos resultados, la combinación de arepa más carne mechada es la responsable de la respuesta más elevada para los valores de VNR y de VPR en ambos grupos, y la de arepa con margarina, la más pobre entre todas las combinaciones estudiadas.

La Tabla 10 contiene información sobre la evaluación de la calidad proteínica de las dietas experimentales, obtenida por la diferente metodología empleada. Los valores de índice de eficiencia proteínica (PER), de relación proteínica neta (RPN) y de utilización proteínica neta (UPN), se calcularon con el nivel proteínico más cercano a 10⁰/o (véase Tablas 3 y 4); para la determinación del valor nutritivo relativo (VNR) y del valor proteínico relativo (VPR), se utilizaron los niveles proteínicos indicados en las Tablas 3 y 4. A diferencia del VNR, en el cálculo del VPR no se incluye la información derivada del grupo de ratas alimentadas con la dieta libre de proteína (22).

En la Tabla 11 se aprecian comparativamente los parámetros de la evaluación proteínica de las comidas preparadas, obtenidos con los animales alojados en jaulas individuales (Grupo I) y con los cuatro que se mantuvieron todos en una sola jaula (Grupo II).

A los fines de una apreciación más completa de la respuesta de los animales que integraron el Grupo II (alojados colectivamente en una jaula), en la Tabla 12 se presentan los valores del VNR y del VPR hallados en la literatura, con los obtenidos en este trabajo. Las proteínas evaluadas por la metodología a que se aludió, de las cuales pudo hallarse información pertinente, fueron caseína, gluten de trigo, proteína de soya y aislado proteínico de soya; esto es explicable toda vez que las combinaciones sometidas a ensayo (Tabla 1), son típicas del país y algunas de ámbito latinoamericano. No era de esperar que estas comidas hubiesen sido estudiadas desde el punto de vista de su calidad proteínica con los métodos utilizados en este trabajo.

Según se observó, el perfil de aminoácidos esenciales de las comidas preparadas, se presenta en la Tabla 3, ya citada. En la Tabla 13 se muestra el cómputo químico o "score" calculado para

TABLA 8

ECUACIONES DE REGRESION DE LAS VARIABLES AUMENTO DE PESO (g/día, y) E INGESTA DE PROTEINAS (g/día, x) Y VALORES DE VNR Y VPR PARA TODOS LOS ANIMALES DEL GRUPO I (Ratas alojadas individualmente)

Tipo de dieta	Coefficiente de correlación	Ecuación	VNR
Arepa + carne	0.9907	$y = 5.03x - 0.35$	104
Arepa + caraotas	0.9933	$y = 3.36x - 0.36$	69
Arepa + margarina	0.9111	$y = 1.95x - 0.48$	42
Maíz + caraotas	0.9863	$y = 3.19x - 0.54$	70
"Pabellón"	0.9825	$y = 3.87x - 0.60$	85
Spaghetti + queso	0.9807	$y = 2.92x - 0.54$	64
Arroz + caraotas	0.9847	$y = 3.88x - 0.52$	85
Lactalbúmina	0.9687	$y = 4.56x - 0.34$	100
			VPR
Arepa + carne	0.9814	$y = 4.86x - 0.22$	114
Arepa + caraotas	0.9865	$y = 3.23x - 0.25$	76
Arepa + margarina	0.8063	$y = 1.10x - 0.21$	28
Maíz + caraotas	0.9739	$y = 2.84x - 0.39$	74
"Pabellón"	0.9657	$y = 3.79x - 0.56$	99
Spaghetti + queso	0.9647	$y = 2.60x - 0.40$	68
Arroz + caraotas	0.9730	$y = 3.63x - 0.37$	95
Lactalbúmina	0.9502	$y = 3.82x - 0.14$	100

TABLA 9

ECUACIONES DE REGRESION DE LAS VARIABLES AUMENTO DE PESO (g/día, y) E INGESTA DE PROTEINAS (g/día, x) Y VALORES DE VNR Y VPR PARA TODOS LOS ANIMALES DEL GRUPO II (Cuatro ratas por jaula)

Tipo de dieta	Coefficiente de correlación	Ecuación	VNR
Caseína	0.9929	$y = 3.95x - 0.27$	78
Caseína + metionina	0.9994	$y = 4.69x - 0.36$	92
Gluten	0.9952	$y = 1.34x - 0.36$	26
Gluten + lisina	0.9931	$y = 2.77x - 0.38$	55
Proteína de soya	0.9976	$y = 3.30x - 0.28$	65
Arepa + carne	0.9994	$y = 5.17x - 0.38$	102
Arepa + caraotas	0.9977	$y = 3.63x - 0.40$	71
Arepa + margarina	0.9630	$y = 1.77x - 0.35$	35
Maíz + caraotas	0.9987	$y = 3.39x - 0.38$	67
"Pabellón"	0.9985	$y = 4.76x - 0.48$	94
Spahetti + queso	0.9753	$y = 2.92x - 0.40$	57
Arroz + caraotas	0.9976	$y = 4.18x - 0.45$	82
Lactalbúmina	0.9988	$y = 5.08x - 0.36$	100
			VPR
Caseína	0.9998	$y = 3.25x + 0.21$	67
Caseína + metionina	0.9999	$y = 4.51x - 0.22$	93
Gluten	0.9864	$y = 1.23x - 0.24$	25
Gluten + lisina	0.9828	$y = 2.73x - 0.31$	56
Proteína de soya	0.9980	$y = 3.16x - 0.12$	65
Arepa + carne	0.9994	$y = 5.08x - 0.32$	105
Arepa + caraotas	0.9944	$y = 3.58x - 0.37$	74
Arepa + margarina	0.9228	$y = 1.25x - 0.21$	26
Maíz + caraotas	0.9996	$y = 3.16x - 0.31$	65
"Pabellón"	0.9996	$y = 5.01x - 0.57$	103
Spaghetti + queso	0.9310	$y = 2.84x - 0.37$	58
Arroz + caraotas	0.9965	$y = 4.28x - 0.49$	88
Lactalbúmina	0.9995	$y = 4.85x - 0.24$	100

TABLA 10

**EVALUACION DE LA CALIDAD PROTEINICA DE LAS DIETAS
ENSAYADAS MEDIANTE DIFERENTE METODOLOGIA
AL CABO DE 21 DIAS. GRUPO II
(Cuatro ratas por jaula)**

Dieta	PER	RPN	VPR	VNR	UPN
Caseína	3.5	3.9	67	78	84
Caseína + metionina	4.2	4.7	93	92	88
Gluten de trigo	0.9	1.4	25	26	45
Gluten de trigo + Lisina	2.0	2.6	56	55	60
Proteína de soya	3.2	3.3	65	65	80
Arepa + carne	3.8	4.2	105	102	105
"Pabellón"	3.8	4.6	103	94	99
Spaghetti + queso	1.8	2.7	58	57	45
Arroz + caraotas	3.5	4.2	88	82	74
Arepa + caraotas	3.1	3.5	74	71	67
Maíz + caraotas	2.4	3.3	65	67	67
Arepa + margarina	0.52	1.7	26	35	62
Lactalbúmina	4.5	5.0	100	100	98

Los valores de PER, NPR y UPN se calcularon con el nivel proteínico más cercano a 10%. El RNV y el RPV a partir de la pendiente de la recta de acuerdo a los niveles proteínicos señalados en la Tabla 4.

TABLA 11

COMPARACION ENTRE LOS VALORES OBTENIDOS
AL UTILIZAR RATAS ALOJADAS INDIVIDUALMENTE
(GRUPO I) Y CUATRO EN UNA SOLA JAULA (GRUPO II)

Dieta	PER		VNR		VPR		UPN	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Arepa + carne	4.6	3.8	104	102	114	105	93	105
"Pabellón"	3.9	3.8	80	94	96	103	62	99
Arroz + caraotas	3.0	3.5	85	82	95	88	75	74
Arepa + caraotas	2.9	3.1	69	71	76	74	57	67
Maíz + caraotas	2.1	2.4	70	67	74	65	42	67
Spaghetti + queso	1.8	1.8	64	57	68	59	43	45
Arepa + margarina	0.55	0.52	42	35	28	26	30	62
Lactalbúmina	4.5	4.5	—	—	—	—	91	98

A = Alojadas en jaulas individuales (Grupo I). Tabla 8.

B = Alojadas cuatro en una jaula (Grupo II). Tablas 9 y 10.

cada una de las comidas, tomando como referencia el patrón FAO/OMS 1973 (7). Se indica además el aminoácido que se encuentra en menor cantidad y que, por consiguiente, limita su valor biológico (aminoácido limitante).

DISCUSION

La Tabla 4 informa los resultados experimentales obtenidos con los animales del Grupo I. Al aumentar el nivel proteínico de las dietas, se observó un incremento en el consumo de alimentos en todos los casos, siendo mayor mientras mejor es la calidad. La ingesta promedio de proteínas a los 21 días, comprendida entre 0.15 y 1.1 g, se relaciona aceptablemente con el aumento de peso al final del mismo período. En general, a mayor contenido proteínico, la ganancia ponderal guarda relación con la calidad a prever de la respectiva combinación de alimento. A los niveles más elevados

TABLA 12

COMPARACION ENTRE VALORES DE VNR Y VPR
TOMADOS DE LA LITERATURA Y LOS OBTENIDOS
EN EL PRESENTE TRABAJO CON EL GRUPO II

Proteína	VNR	VPR	Referencia
Caseína	69	—	
Gluten de trigo	17	—	Hegsted y Chang (10)
Proteína de soya	43	—	
Caseína	76	—	
Gluten de trigo	19	—	Hegsted y Chang (11)
Proteína de soya	34	—	
Caseína	81	—	Hegsted y Neff (13)
Aislado proteínico de soya	51	—	
Caseína	65	58	Framke (14)
Gluten de trigo	21	18	
Caseína	—	84	
Proteína de soya	—	69	McLaughlan (12)
Gluten de trigo	—	23	
Caseína	80	92	
Proteína de soya No. 1	—	67	McLaughlan (4)
Proteína de soya No. 2	—	72	
Gluten de trigo	—	20	
Proteína de soya	67	—	Staub (32)
Gluten de trigo	21	—	
Caseína	78	67	
Proteína de soya	65	65	Este trabajo
Gluten de trigo	26	25	

TABLA 13

COMPUTO QUIMICO ("SCORE") Y AMINOACIDO
LIMITANTE DE LAS COMIDAS PREPARADAS
SEGUN EL PATRON FAO/OMS 1973 (7)

Preparación	Cómputo químico ("score") ^a	Aminoácido limitante
Arepa + carne	100 +	—
"Pabellón"	97	Total AA azufrados
Arroz + caraotas	93	Total AA azufrados
Arepa + caraotas	78	Total AA azufrados
Maíz + caraotas	69	Lisina
Spaghetti + queso	58	Lisina
Arepa + margarina	34	Lisina

a Calculado a partir de la información presentada en la Tabla 3.

de proteína, el valor más alto calculado a los 21 días corresponde a la combinación de arepa y carne mechada con un valor de 89 g, superior a 71 g para la dieta control de lactalbúmina, también a los 21 días. El valor más bajo de aumento de peso, de 4.5 g, correspondió a la combinación de arepa con margarina, al mayor nivel proteínico.

La respuesta experimental de los animales alimentados con las mismas dietas y a los mismos niveles de proteína, pero bajo la modalidad de ensayo identificada como Grupo II, se ilustra en la Tabla 5. El aumento promedio de peso de estos animales a los 14 y 21 días es, en todos los casos, más bajo que los obtenidos con los animales alojados en jaulas individuales (Grupo I, Tabla 4). El valor promedio de ganancia ponderal más elevado es de 79 g para la dieta de arepa con carne mechada y el menor corresponde a la de arepa con margarina con 4 g, ambos tomados al mayor nivel proteínico.

La Tabla 6 compara el consumo promedio de dieta entre ambos grupos (Tablas 3 y 4) a los 14 y a los 21 días. Este consumo es siempre mayor en el caso de los animales alojados individualmente (Grupo I), lo cual se relaciona satisfactoriamente con una ganancia ponderal también más alta para este grupo. El consumo más bajo de dieta de las cuatro ratas alojadas colectivamente puede tener su

explicación en el hecho de que, debido al espacio reducido, no pudieron desarrollar suficiente actividad, lo cual, al ser el factor responsable de una menor necesidad de energía, se tradujo en un consumo de dieta más bajo. En ningún momento se observaron manifestaciones de agresividad entre estos animales. Las dimensiones de los comederos usados en ambos ensayos fueron idénticas y el desperdicio de dieta fue mínimo o al menos nunca mayor del correspondiente a las ratas alojadas individualmente. En todo caso, no es necesario señalar que los animales del Grupo II, por ser el objetivo básico de este estudio, fueron observados diariamente, teniendo siempre el cuidado de reponer a tiempo el alimento ingerido.

El menor consumo representa una apreciable economía en la cantidad de alimento a utilizar en la preparación de dietas experimentales. Si se toma como ejemplo la dieta de 70% de proteínas, a base de carne mechada y arepa, se aprecia de la información derivada de los protocolos de ensayo, que al cabo de 21 días el total de dieta suministrada a los Grupos I y II fue de 1,620 g y 870 g, respectivamente, es decir casi el doble para los animales mantenidos en jaulas individuales.

Con el objeto de estudiar mejor la respuesta de las cuatro ratas a las variaciones de la calidad del alimento, se confeccionaron las dietas de acuerdo a lo indicado en la Tabla 2, cuyos resultados experimentales se comentan en la Tabla 7. Como era de esperar, los animales alimentados con las dietas de caseína y gluten de trigo suplementadas con aminoácidos, crecieron mejor que los de las respectivas proteínas no suplementadas. Los incrementos de ganancia ponderal entre el gluten de trigo más lisina y el gluten solo, fueron mucho más elevados que los hallados entre caseína y caseína suplementada con metionina, tanto a los 14 como a los 21 días. Los valores de consumo de alimento e ingesta de proteína concuerdan bien con dicho comportamiento.

En las Tablas 8 y 9 se ofrecen los resultados del VNR y VPR obtenidos con ambos Grupos, y las correspondientes ecuaciones de regresión para cada una de las dietas con las diversas preparaciones. Entre los resultados del VNR y del VPR se encuentran valores ligeramente superiores a 100 para la dieta de arepa con carne hasta la cifra de 26, correspondiente a la de la arepa con margarina. No fue posible hacer comparación entre esta información y lo publicado en la literatura, toda vez que las diversas comidas preparadas, que se estudiaron en el presente trabajo, no es de presumir que hallan sido evaluadas por la técnica de la pendiente de la línea recta (9). El valor de 37 para el maíz amarillo, obtenido por Hegsted (5), sin

embargo, es bastante cercano al encontrado en nuestro estudio para la arepa con margarina. En la Tabla 9 se incluye también la misma información para las dietas de caseína, gluten de trigo y proteína de soya. La metodología de usar cuatro animales en una jaula ofrece una respuesta claramente diferente entre las proteínas solas y las mismas suplementadas con aminoácidos, tanto en el caso del VNR como en el del VPR.

Los resultados de la determinación de calidad proteínica, obtenidos con el procedimiento simplificado de alojar cuatro ratas en una jaula y luego de un período de 21 días, se agrupan en la Tabla 10. En general, el índice de eficiencia proteínica (PER), se relaciona satisfactoriamente con la calidad esperada de la dieta, lo cual se aprecia tanto en las comidas preparadas como entre la caseína y el gluten de trigo con y sin el agregado de aminoácidos. El PER para la caseína sola es un poco elevado en comparación con otros valores de la literatura (16). La dieta a base de spaghetti muestra un PER de 1.80, algo mayor que el valor de 1.10 citado en la literatura para spaghetti solo (16); es probable que ello se deba al nivel de proteína empleado y a la pequeña cantidad de queso añadida en la preparación de este alimento (Tabla 1).

La Tabla 11 compara los resultados obtenidos en este trabajo, al utilizar las dos metodologías experimentales. Las diferencias más notables pueden hallarse entre los valores de la UPN en las dietas de "pabellón", maíz, caraotas y arepa con margarina; las cifras más bajas —derivadas de los animales alojados en jaulas individuales— fueron doblemente comprobadas, encontrándose que eran correctas. No se ofrece una razón específica para explicar estas discrepancias. Es de interés notar el valor de 30 calculado para la dieta de arepa con margarina, aunque se han comunicado valores de 20 y 21 en algunos alimentos africanos (23).

A diferencia de la utilización proteínica neta (UPN), los resultados del índice de eficiencia proteínica (PER) obtenidos por el método convencional, utilizando ratas alojadas individualmente (Tabla 4), comparan aceptablemente con los calculados a partir de los datos del Grupo II (Tabla 5). Asimismo, si se calcula el PER del Grupo II a los 14 días en vez de a los 21 días, con igual información experimental, se mantienen las mismas diferencias en calidad, aunque con valores más altos. Ello era de esperar ya que el PER y cualquier otro índice de calidad da valores más altos mientras menor es el tiempo de experimentación (24). A la luz de estos resultados preliminares, el uso de cuatro animales en una jaula podría servir como una modificación válida y funcional de la técnica usual

del PER, en procedimientos rutinarios de selección.

En la misma Tabla 11 se han ordenado las dietas experimentales de acuerdo a su calidad proteínica, tomando como base los diversos índices de evaluación utilizados. A este respecto cabe destacar que, con excepción de las discrepancias ya comentadas en cuanto a los resultados de la UPN, puede llegarse a una jerarquización sobre la base de la calidad proteínica, prácticamente con iguales resultados; empleando tanto los procedimientos convencionales como la metodología simplificada (Grupo II). Las combinaciones de alimentos estudiadas en el presente trabajo responden al siguiente orden de calidad: 1) arepa + carne; 2) "pabellón"; 3) arroz + caraotas; 4) arepa + caraotas; 5) maíz + caraotas; 6) spaghetti + queso, y 7) arepa + margarina.

La Tabla 12 se refiere a los resultados de VNR y VPR obtenidos en estas experiencias con proteínas solas (Tablas 2 y 9), en comparación con los informados en la literatura. Los valores de VNR de caseína y gluten de trigo obtenidos en este estudio, son comparables a los indicados por Hegsted y Chang (10, 11) y Hegsted y Neff (13), por McLaughlan (4) y por Staub (15). El VNR de 65 para la proteína de soya encontrado por nosotros, es prácticamente igual al que indica Staub (15) y algo más alto que los valores de 43 y 34 suministrados por Hegsted y Chang (10, 11), debido probablemente a diferencias en la calidad de la proteína utilizada. Los resultados de VPR para gluten de trigo y caseína, de este estudio, son un poco más altos que los de Framke (14). Los valores informados por McLaughlan (4, 12) para este índice, correspondiente al gluten y a la proteína de soya, son muy similares a los calculados por nosotros para esas proteínas.

La Tabla 3 informa sobre el contenido de aminoácidos esenciales de las comidas preparadas. Todas las combinaciones con arepa, y la de maíz con caraotas, acusaron el mayor contenido de leucina, lo cual era de esperar debido al alto nivel de este aminoácido en el maíz. La arepa con carne y el "pabellón" presentan el mayor contenido de lisina, 672 y 677 mg por g de nitrógeno, respectivamente; esta última combinación que integra cuatro renglones de amplio consumo en la dieta popular, tiene un apreciable contenido de triptofano y de aminoácidos aromáticos (tirosina y fenilalanina) pero se encuentra limitada por el total de azufrados (metionina y cistina). La arepa con carne en las proporciones utilizadas, presenta un balance de aminoácidos esenciales que excede las cantidades estipuladas para cada uno de ellos en el patrón FAO/OMS (7), empleado como referencia; de ahí que su cómputo químico o "score"

sea de 100 (Tabla 13). Su excelente balance de aminoácidos confirma la alta calidad de esta mezcla, lo cual se evidencia a partir de los resultados obtenidos en los ensayos biológicos. El perfil de aminoácidos de la arepa con margarina es comparable, aunque ligeramente más alto que el informado por Chávez (25) para la arepa sola.

La cantidad de lisina en la combinación de arroz y caraotas fue más alta que en la de maíz y caraotas, probablemente a causa de la mayor cantidad de este aminoácido que contiene el arroz, comparado con el maíz (16); sin embargo, no se apreció gran diferencia entre el total de aminoácidos azufrados de estas mezclas, a pesar de los altos niveles de metionina y de cistina encontrados en el maíz (16). Es interesante destacar que después de la arepa con carne y de la combinación de maíz y caraotas, el valor más elevado para el total de aminoácidos azufrados correspondió a la de spaghetti y queso, lo cual es también explicable debido al contenido de ellos en el trigo (16). El aminoácido limitante de esta última comida es lisina (198 mg/g de nitrógeno), lo cual es responsable por su cómputo de 58 (Tabla 13). Este hecho sugiere que una suplementación con lisina puede ser efectiva para mejorar su calidad proteínica.

Por otra parte, debe tenerse en cuenta que si el spaghetti es preparado con suficiente queso o cantidades adecuadas de una salsa a base de carne, el contenido total de lisina en la mezcla aumenta y, en consecuencia, mejora la calidad de la proteína consumida.

El cómputo químico y el aminoácido esencial que se encuentra en menor cantidad y por lo tanto limita el valor biológico de cada una de las mezclas estudiadas, se detalla en la misma Tabla 13. Tres de las combinaciones, la arepa con caraotas, el arroz con caraotas, y el "pabellón", tienen como aminoácido limitante, el total de azufrados, metionina y cistina. Ello concuerda con el criterio de que son estos aminoácidos los más limitantes en la mayoría de las comidas preparadas (26). La mezcla de maíz con caraotas, los spaghetti con queso y la arepa con margarina, acusaron los cómputos más bajos, responsabilizándose de ello al aminoácido lisina. A esta última combinación le correspondió una calificación o puntaje químico de 34, lo cual no es de extrañar, toda vez que sólo se usó margarina como relleno. Es interesante destacar que la jerarquización de estas preparaciones sobre la base de su cómputo químico o de aminoácidos, tal y como se ha ordenado en la Tabla 13, es idéntica a la que se presenta en la Tabla 10, derivada ésta de la información experimental obtenida tanto con el Grupo I como

con el Grupo II. La uniformidad de esta apreciación final, alcanzada mediante un procedimiento analítico puramente químico y basado en un patrón ideal de aminoácidos con la respuesta derivada de los ensayos biológicos usados en la metodología para la evaluación de la calidad proteínica aplicada en este trabajo, respalda la factibilidad del método simplificado descrito por nosotros.

Las ventajas prácticas que este método ofrece son diversas: 1) economía en el número total de ratas usadas en cada dieta experimental; 2) menor tiempo dedicado a la manipulación de los animales; es más rápido pesar cuatro ratas por vez que seis u ocho individualmente por cada ración bajo estudio, incluidas las dietas control; 3) ahorro de espacio y de material utilizado; 4) mucho menor consumo de dieta —lo cual puede ser importante cuando no se dispone de abundante material— y 5) menor costo global.

SUMMARY

A PROPOSED SIMPLIFIED PROCEDURE OF THE RAT BIOASSAY FOR THE EVALUATION OF FOOD PROTEIN QUALITY

A simplified methodology of the usual rat bioassay procedure for protein quality evaluation is described. Four rats, two females and two males, were housed together in a single cage per each experimental diet, instead of six or eight animals usually required. The change in weight and average food consumption were recorded per group rather than per single animal and divided by four to obtain the individual figure. Relative nutritive value (RNV); relative protein value (RPV); protein efficiency ratio (PER); net protein ratio (NPR); and net protein utilization (NPU), were applied with and without the above modification, in the protein quality evaluation of the following food mixtures: arepa + shredded meat; rice + black beans; arepa + black beans; yellow corn flour + black beans; arepa + margarine; spaghetti + cheese and meatless sauce; shredded meat + rice + black beans + fried plantain ("pabellón").

The modified bioassays gave values comparable with those obtained from the same methods but using standard procedures. Despite slight differences in the NPU values, the meals could be ranked in the same order based on protein quality, with the results from either the conventional or modified methods. Food intake of the single housed rats was higher in all cases.

Essential amino acid profile of the mixed meals was given and the limiting amino acid was identified. Ranking of the meals based on chemical score coincide with the one derived from biological evaluation.

Other proteins were also assayed by the modified procedures only: casein; casein + methionine; wheat gluten; wheat gluten + lysine; and soy protein. Results showed a clear different answer according to diet quality. RNV and RPV values of the unsupplemented proteins were similar to those found in the literature.

The proposed modification of the rat bioassays used in this study, represent practical advantages with respect to the standard procedures: a smaller total number of rats; a shortening of the time dedicated to the manipulation of the animals; reduction in food consumption, and lower total cost.

BIBLIOGRAFIA

1. Pellet, P. L. Protein quality evaluation revisited. **Food Technol.**, **32**: 60, 1978.
2. Jansen, G. R. Biological evaluation of protein quality. **Food Technol.**, **32**: 52, 1978.
3. Bodwell, C. E. Problems associated with the development and application of rapid methods of assessing protein quality. **Nutr. Reps. Internat.**, **16**: 163, 1977.
4. McLaughlan, J. M. Critique of methods for evaluation of protein quality. En: **Soy Proteins and Human Nutrition**. New York, N.Y., Academic Press, 1979.
5. Hegsted, D. M. Nutritional research on the value of amino acid fortification - Experimental studies in animals. En: **Amino Acid Fortification of Protein Foods**. N. S. Scrimshaw and A. M. Altschul (Eds.). Cambridge, Mass., The MIT Press, 1971.
6. Chávez, J. F. **Protein Quality of Some Representative Latin American Diets**. M. Sc. Thesis. Food Science and Nutrition Department, University of Massachusetts, 1974.
7. **Necesidades de Energía y de Proteínas**. Informe de un Comité Especial Mixto FAO/OMS de Expertos. Roma, FAO, 1973. (OMS, Serie de Informes Técnicos No. 522; FAO, Reuniones sobre Nutrición No. 52).
8. Kaba, H. & P. L. Pellett. Prediction of true limiting amino acids using available protein scoring systems. **Ecol. Food Nutr.** **4**: 109, 1975.
9. Hegsted, D. M., R. Neff & J. Worcester. Determination of the relative nutritive value of proteins. Factors affecting precision and validity. **J. Agr. Food Chem.** **16**: 190, 1968.
10. Hegsted, D. M. & Y. Chang. Protein utilization in growing rats. I. Relative growth index as a bioassay procedure. **J. Nutrition**, **85**: 159, 1965.
11. Hegsted, D. M. & Y. Chang. Protein utilization in growing rats at different levels of intake. **J. Nutrition**, **87**: 19, 1965.

12. McLaughlan, J. M. The relative nitrogen utilization method for evaluating protein quality. *J. Assn. Offic. Anal. Chem.*, **59**: 42, 1976.
13. Hegsted, D. M. & R. Neff. Efficiency of protein utilization in young rats at various levels of intake. *J. Nutrition*, **100**: 1173, 1970.
14. Framke, K. L. **Theoretical and Methodological Considerations of Net Protein Utilization and the Slope-Ratio Technique as Protein Quality Assays.** M. Sc. Thesis, Food Science and Nutrition Department, University of Massachusetts. 1973.
15. Staub, H. W. Problems in evaluating the protein nutritive quality of complex foods. *Food Technol.*, **32** (12): 57, 1978.
16. **Contenido en Aminoácidos de los Alimentos y Datos Biológicos sobre las Proteínas.** Roma, FAO, 1970 (FAO, Estudios sobre Nutrición No. 24).
17. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC.** 12th ed. Washington, D. C., The Association, 1975, p. 857.
18. Jamalian, J. & P. L. Pellett. Nutritive value of Middle Eastern foodstuffs. IV. Amino acid composition. *J. Sci. Food. Agr.*, **19**: 378, 1968.
19. Barton-Wright, E. C. **Microbiological Assay of the Vitamin B Complex and Amino Acids.** London, Pitman Publishing Co., 1952.
20. Block, R. J. & D. Bolling. **The Amino Acid Composition of Protein and Foods.** Springfield, Illinois, Charles C. Thomas Publisher, 1951.
21. Moore, S. On the determination of cystine as cysteic acid. *J. Biol. Chem.*, **238**: 235, 1963.
22. **Nutritional Evaluation of Protein Foods.** P. L. Pellett and V. R. Young (Eds.). The United Nations University, Food and Nutrition Bulletin. Supplement No. 4. 1980.
23. Fetuga, B. L., G. M. Babatunde & V. A. Dyenuga. Protein quality of some unusual protein foodstuffs. Studies on the African locust-bean seed (*Parkia filicoidea*, W.) *Brit. J. Nutr.*, **32**: 27, 1974.
24. Braham, J. E., L. G. Elías, S. Zaghi & R. Bressani. Effect of protein level and duration of test on carcass composition, NPU and PER. *Nutr. Dieta.*, **9**: 99, 1967.
25. Chávez, J. F. Composición del maíz opaco-2 venezolano. Análisis y calidad biológica de la arepa de opaco-2 y de maíz corriente. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **22**: 147, 1972.
26. Payne, P. R. Effect on quantity and quality of proteins on the protein value of diets. *Overdruk uit Voeding, Jaargang 30*, No. 4, April 1969.