

## COMPARACION DE CUATRO METODOS DE EVALUACION DE CALIDAD PROTEINICA EN FUENTES VEGETALES

*Ana María Muñoz de Maquiña<sup>1</sup>, Rainer Gross<sup>2</sup>,  
Hans Schoeneberger<sup>2</sup> y Luisa Villacorta<sup>1</sup>*

Instituto de Nutrición, Institutos Nacionales de Salud,  
Ministerio de Salud, Lima, Perú

### RESUMEN

Se comparó la utilidad práctica de los métodos de índice de eficiencia proteínica (PER), concentración de urea en sangre de ratas, valor nutritivo relativo (VNR) determinado a través de la bacteria *Streptococcus zymogenes*, y de predicción del valor proteínico (PPV), a fin de evaluar la calidad de la proteína de origen vegetal de 41 dietas.

Se obtuvo baja correlación entre los valores de PER y NRV ( $r = 0.66$ ), PER y PPV ( $r = 0.53$ ), NRV y PPV ( $r = 0.54$ ) en contraste con la correlación entre PER y urea, que resultó ser más alta ( $r = -0.89$ ). Los diferentes métodos

---

Manuscrito modificado recibido: 18-11-83.

- 1 Miembros del Departamento de Nutrición, Universidad Nacional Agraria La Molina, Jr. Tizón y Bueno 276, Jesús María, Lima 11, Perú.
- 2 Miembros de la Agencia Alemana de Cooperación Técnica, Proyecto Lupino, Instituto de Nutrición, Lima, Perú.

pueden ser útiles y valiosos para objetivos distintos y definidos, pero los resultados de cada procedimiento se valoran de acuerdo a los objetivos del presente estudio.

Para determinar la calidad proteínica de los alimentos, se recomienda la búsqueda de computadoras de modelos matemáticos, que abarquen el sistema cibernético del metabolismo de los aminoácidos. Ello disminuiría el empleo actual de ensayos prolongados y costosos con seres vivientes.

## INTRODUCCION

Hoy en día continúa la búsqueda de técnicas adecuadas y simples para determinar la calidad proteínica de los alimentos, porque aún no se ha encontrado la metodología que en forma satisfactoria reúna las condiciones de exactitud, simplicidad y economía (1, 2).

En la industria de alimentos se utilizan distintos métodos de evaluación proteínica con diferentes niveles de seguridad y exactitud, que varían según sus objetivos, los que pueden abarcar desde una evaluación y aprobación de nuevas fuentes de proteína hasta un simple control rutinario de calidad. Sin embargo, el principal método usado es el del índice de eficiencia proteínica (PER) (3).

Es bastante difícil evaluar la validez de las diferentes técnicas porque en ellas se determinan parámetros distintos y en diferentes especies. El trabajo de que aquí se da cuenta trata de revisar la utilidad práctica y comparar los resultados obtenidos con tres metodologías de evaluación de calidad de proteína diferentes con el método del PER. Estos son: la concentración de urea en sangre, utilizando ratas; el valor nutritivo relativo (RNV) a través del crecimiento de la bacteria *Streptococcus zymogenes*, y el procedimiento matemático de predicción del valor proteínico (PPV) que se basa en resultados de ensayos de balance de nitrógeno en seres humanos adultos.

## MATERIALES Y METODOS

Las fuentes proteínicas estudiadas corresponden a 41 dietas, todas ellas provenientes de vegetales, tanto de leguminosas (lupino, soya, frijoles, habas) como de cereales (trigo, cebada, avena, arroz, maíz), quinua, papa y microalgas.

La soya, los frijoles y las habas, así como la quinua y la papa,

fueron sometidos a cocción (1 hora a 100°C), secados y posteriormente molidos (malla 100). El *Lupinus mutabilis* fue primero desamargado (4), y la quinua se remojó y lavó previo a su cocción con el fin de eliminar las saponinas. Los métodos de obtención de la torta de *Lupinus mutabilis* y del aislado proteínico se describen en los trabajos de Hatzold y Gonzáles (5) y de Rodríguez *et al.* (6), respectivamente.

Todos los análisis bromatológicos se llevaron a cabo de acuerdo con los métodos de la AOAC (7). Los análisis de aminoácidos para el cálculo matemático de la calidad proteínica fueron efectuados por Degussa, según el método de Bech *et al.* (8). La calidad de la proteína de las dietas se evaluó a través de las siguientes cuatro técnicas:

- a) Índice de eficiencia proteínica (PER) en ratas cepa Sprague-Dawley, según método de la AOAC (7), descrito por Schoeneberger *et al.* (9).
- b) Concentración de urea en sangre de ratas, también Sprague-Dawley de acuerdo al método determinado por Fawcett y Scott (10), empleado según Schoeneberger y Gross (11).
- c) Valor nutritivo relativo (RNV) según el método de Ford (12), modificado por Luescher (13), empleando la bacteria *Streptococcus zymogenes* (NCDO - 592).
- d) Predicción del valor proteínico (PPV) descrito por Gross (14). Dicho método fue sujeto a ciertos cambios por Mørup y Olesen (15), utilizando los resultados de balance de nitrógeno en humanos notificados por Kofranyi y Jekat (16). La siguiente fórmula fue desarrollada mediante un análisis de regresión.

$$1) \quad PV = 10^{2.15} \cdot gL's^{0.41} \cdot gArom^{0.6} \cdot gSulf^{0.71} \cdot gTreo^{2.4} \\ \cdot gTrip^{0.21}$$

$$2) \quad g = \frac{A_{test}}{A_{ref}} ; A_{test} \leq A_{ref}$$

$$g = \frac{A_{ref}}{A_{test}} ; A_{test} \leq A_{ref}$$

$$3) \quad A_{Ile} + A_{Leu} + A_{Lis} + A_{Arom} + A_{Sulf} + A_{Treo} + A_{Trip} + \\ A_{Val} = 1000$$

4) $A_{ref}$	mg/g Total de AA esenciales
Lis	141
Arom (Fe + Trip)	212
Sulf (Met + Cis)	89
Treo	99
Trip	30

### RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se observan los resultados de la determinación de la calidad proteínica de las 41 fuentes alimenticias evaluadas a través del PER, la concentración de urea en la sangre, el RNV y el PPV, pudiéndose apreciar un amplio rango en los hallazgos.

Los coeficientes de correlación determinados entre los diferentes métodos se exponen en la Tabla 2, y se nota que éstos, a excepción de la correlación entre el método del PER y la concentración de úrea en la sangre de ratas, en su mayoría son relativamente bajos.

La alta correlación negativa entre la concentración de urea en sangre y el PER, ya fue también informada por otros autores como Muenchow y Bergner (17, 18), Eggum (19) y Schoeneberger y Gross (11).

El hecho de que la concentración de urea sea inversamente proporcional al PER se debe a que una proteína no balanceada incrementa la eliminación de los aminoácidos no utilizados para la síntesis de proteína. El nitrógeno de los aminoácidos no utilizados se elimina en forma de urea, lo que explica que una proteína de baja calidad produzca una alta concentración de urea en el plasma.

Para comparar mejor los diferentes métodos, los resultados de las determinaciones de la calidad proteínica de mezclas de la proteína de una leguminosa con metionina se ilustran gráficamente en la Figura 1, con quinua (Figura 2) y con trigo (Figura 3). Las curvas declinan cuando la calidad proteínica es inferior, debido a:

- Carencia de un aminoácido esencial, o
- Exceso de un aminoácido esencial, como en el caso de los aminoácidos azufrados que, en exceso, disminuyen el crecimiento de la rata.

TABLA 1

## INDICES DE CALIDAD PROTEINICA DE 41 FUENTES ALIMENTICIAS

Proteínas evaluadas	PER	Urea en sangre (mg/100 ml)	PNV	PPV
0. Proteína de referencia				
Caseína	2.50	25.5	100	82
Caseína + 2% met*	2.98	20.3	—	78
1. Soya + 2% met	2.63	11.8	116	83
2. Frijol canario + 2% met	2.59	14.2	98	88
3. Frijol castilla + 2% met	2.57	11.8	106	97
4. <i>Lupinus mutabilis</i> + cebada + quinua (33% + 33% + 33%)	2.52	14.3	125	107
5. <i>Lupinus mutabilis</i> + arroz + quinua (33% + 33% + 33%)	2.51	16.6	126	89
6. Quinua	2.48	11.3	99	80
7. <i>Lupinus mutabilis</i> + avena + quinua (33% + 33% + 33%)	2.42	13.6	126	98
8. <i>Lupinus mutabilis</i> + avena + quinua (33% + 33% + 33%)	2.39	19.8	114	108
9. <i>Lupinus mutabilis</i> + quinua (33% + 66%)	2.38	13.9	124	93
10. Torta de <i>Lupinus mutabilis</i> desamargada a pH 5 + 2% met	2.32	18.3	84	95
11. <i>Lupinus mutabilis</i> + 3% met	2.24	21.4	80	87
12. <i>Lupinus mutabilis</i> + avena + maíz (33% + 33% + 33%)	2.23	21.7	121	101
13. Soya	2.23	17.8	101	116

\* Todos los porcentajes de aminoácidos agregados se expresan en base a 100 g de proteína.

TABLA 1: continuación

Proteínas evaluadas	PER	Urea en sangre (mg/100 ml)	RNV	PPV
14. <i>Lupinus mutabilis</i> + 0.3% met + 0.1% fenil	2.21	20.5	80	85
15. Habas + 0.2% met	2.21	22.8	80	97
16. <i>Lupinus mutabilis</i> + quinua (50% + 50%)	2.19	19.3	113	97
17. <i>Lupinus mutabilis</i> + 0.2% met	2.18	30.9	74	102
18. <i>Lupinus mutabilis</i> + avena (50% + 50%)	2.16	18.7	113	119
19. Aislado proteínico de <i>Lupinus</i> <i>mutabilis</i> + 2% met	2.15	32.9	64	66
20. <i>Lupinus albus</i> + 0.2% met	2.15	30.1	83	82
21. Torta de <i>Lupinus mutabilis</i> desamargada a pH 9 + 0.2% met	2.13	23.3	87	92
22. <i>Lupinus mutabilis</i> + maíz (50% + 50%)	2.12	21.2	115	102
23. Microalgas	2.11	23.0	78	84
24. <i>Lupinus mutabilis</i> + arroz (50% + 50%)	2.08	20.8	119	120
25. <i>Lupinus mutabilis</i> + avena (33% + 66%)	2.07	21.8	84	112
26. <i>Lupinus mutabilis</i> + 0.1% met	2.03	39.3	68	102
27. <i>Lupinus mutabilis</i> + trigo (33% + 66%)	2.03	17.8	—	106
28. <i>Lupinus mutabilis</i> + trigo (50% + 50%)	2.02	24.4	107	116
29. <i>Lupinus mutabilis</i> + cebada (50% + 50%)	2.00	19.7	117	115
30. Microalgas + 0.2% met	1.97	37.6	94	68
31. Frijol castilla	1.87	32.7	105	104
32. <i>Lupinus mutabilis</i> + papa (50% + 50%)	1.59	43.4	105	94
33. <i>Lupinus albus</i>	1.50	34.6	64	103

TABLA 1: continuación

Proteínas evaluadas	PER	Urea en sangre (mg/100 mi)	RNV	PPV
34. Frijol alado	1.42	33.7	77	90
35. Frijol canario	1.39	41.1	97	70
36. Trigo	1.33	35.5	98	78
37. <i>Lupinus mutabilis</i>	1.24	47.9	64	72
38. Torta de <i>Lupinus mutabilis</i> desamargada a pH 5	0.99	45.2	75	78
39. Habas	0.96	37.5	68	75
40. Aislado proteínico de <i>Lupinus mutabilis</i>	0.46	58.9	51	55
41. Torta de <i>Lupinus mutabilis</i> desamargada a pH 9	**	73.4	79	68

\*\* = Valor negativo.

Met = Metionina.

Fenil = Fenilalanina.

TABLA 2

COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE CUATRO DIFERENTES  
METODOS DE EVALUACION DE CALIDAD PROTEINICA

	Urea	RNV	PPV
	n = 40	n = 39	n = 40
PER	-0.89	0.56	0.53
		n = 40	n = 41
Urea		-0.61	-0.62
			n = 40
RNV			0.54

La Figura 1 muestra que la calidad de la proteína de la leguminosa utilizada sigue mejorando según los valores del PER y de urea en la sangre, hasta una adición del 2% de metionina.

Mientras que la concentración de urea en la sangre disminuye en forma progresiva y recta, la curva de los valores del PER se aplana después de la suplementación con 1% de metionina. En este

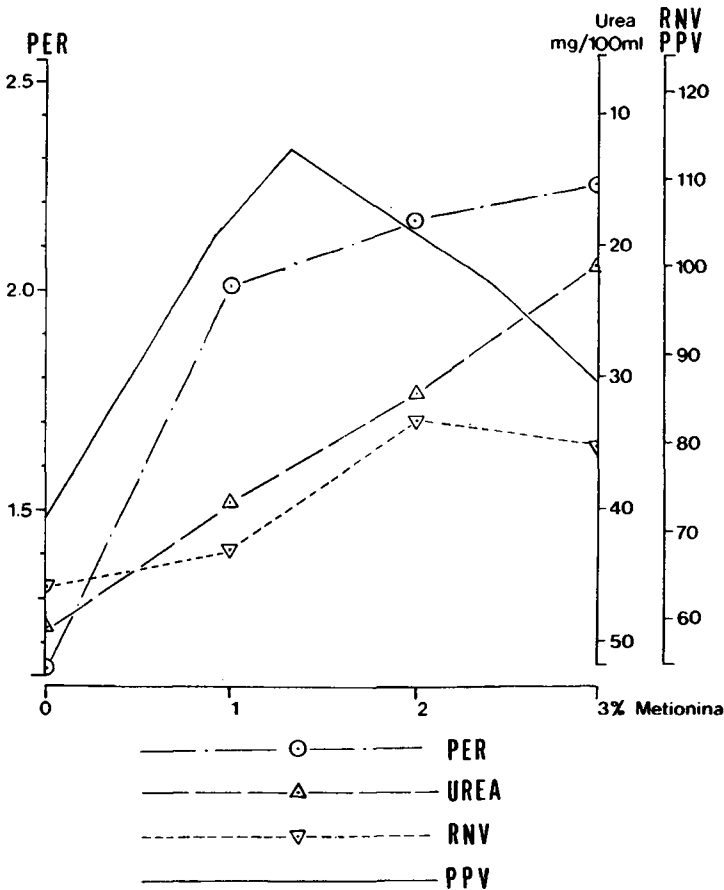


FIGURA 1

PER, urea, RNV y PPV de la proteína de *Lupinus mutabilis* con diferentes porcentajes de suplementación con metionina

caso, cabe considerar que el PER mide la influencia de la calidad proteínica sobre el crecimiento de la rata, mientras que la concentración de urea en la sangre refleja directamente la influencia de la metionina sobre la transformación de la proteína de la dieta en proteína corporal.

Como lo revela la curva graficada, los dos parámetros son muy parecidos pero no idénticos, lo que permite concluir que los requerimientos fisiológicos son distintos. Parece ser que para la transformación inmediata de la proteína de la dieta en proteína corporal, el requerimiento de aminoácidos azufrados es un poco más alto que para el crecimiento medido a largo plazo.

El crecimiento óptimo de *Streptococcus zymogenes* se obtiene con una suplementación de 2 g de metionina a 100 g de proteína. Este resultado confirma las observaciones de Ford (12), quien manifiesta que el *Streptococcus zymogenes* tiene un requerimiento de aminoácidos azufrados inferior que la rata.

Si se observa el gráfico de la curva del PPV —que refleja los requerimientos de aminoácidos del ser humano adulto obtenidos según cálculos matemáticos— apreciamos un suministro óptimo de aminoácidos azufrados, con una suplementación de 1.30/o de metionina, lo que equivale a un contenido total de 3.3 g de aminoácidos azufrados/100 g de proteína de la dieta. Mayores cantidades de metionina resultan en un declive de la calidad proteínica. Por la misma razón, el valor del PPV de la proteína de referencia (caseína) suplementada con 20/o de metionina (Tabla 1) es inferior (PPV = 78) que cuando carece de suplementación (PPV = 82). La mejor calidad proteínica de la caseína se obtiene según los cálculos, agregando 1.10/o de metionina a la caseína (PPV = 93).

La Figura 2 muestra una mezcla de dos fuentes proteínicas vegetales, de mayor importancia práctica: lupino y quinua. El incremento del porcentaje de proteína de quinua en la mezcla tiene como consecuencia un aumento paralelo del PER y de la urea sanguínea. En este caso, el agregado de la proteína de la quinua también compensa el déficit de aminoácidos azufrados de la proteína del lupino. El valor del PPV declina después de una relación de proteína de lupino/proteína de quinua de 54:46, lo que de nuevo indica que el requerimiento de aminoácidos azufrados del ser humano adulto es inferior.

Finalmente, la Figura 3 representa gráficamente los valores de la calidad proteínica de una mezcla de leguminosa con un cereal, según los cuatro métodos de evaluación empleados.

El valor máximo del PER se encuentra en una relación de

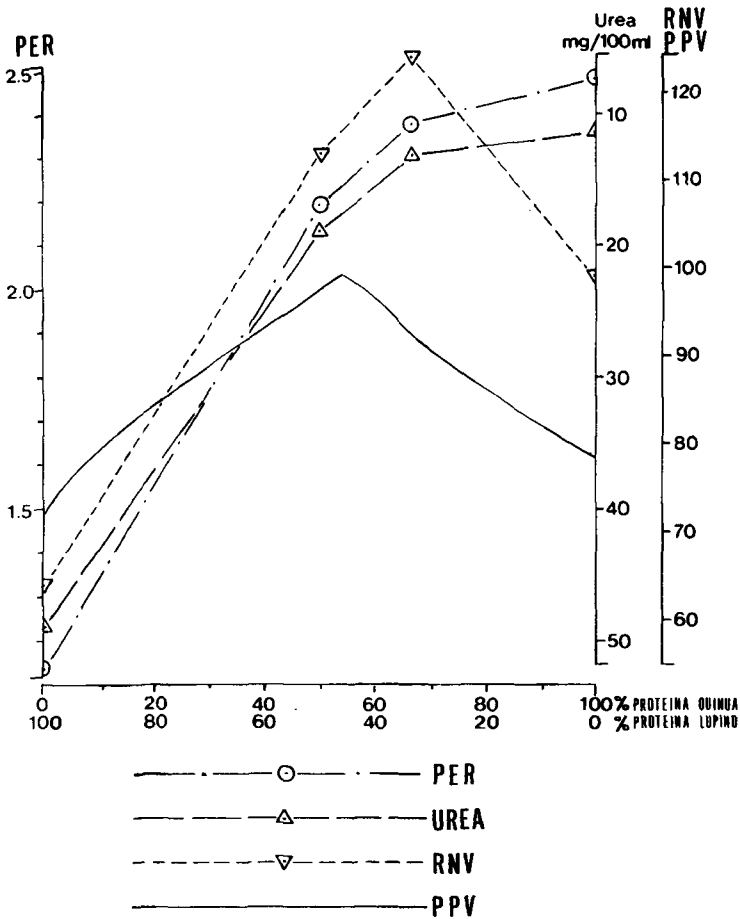


FIGURA 2

PER, urea, RNV y PPV de diferentes mezclas de proteína de lupino con proteína de quinua

proteína de lupino/trigo que oscila entre 1:1 y 1:2. El declive de las curvas hacia la izquierda (mayor porcentaje de proteína de lupino) es causado por la carencia de aminoácidos azufrados, mientras que el descenso hacia la derecha (mayor porcentaje de proteína de trigo) se debe al déficit de lisina.

Los niveles de urea reflejan las mismas tendencias, pero

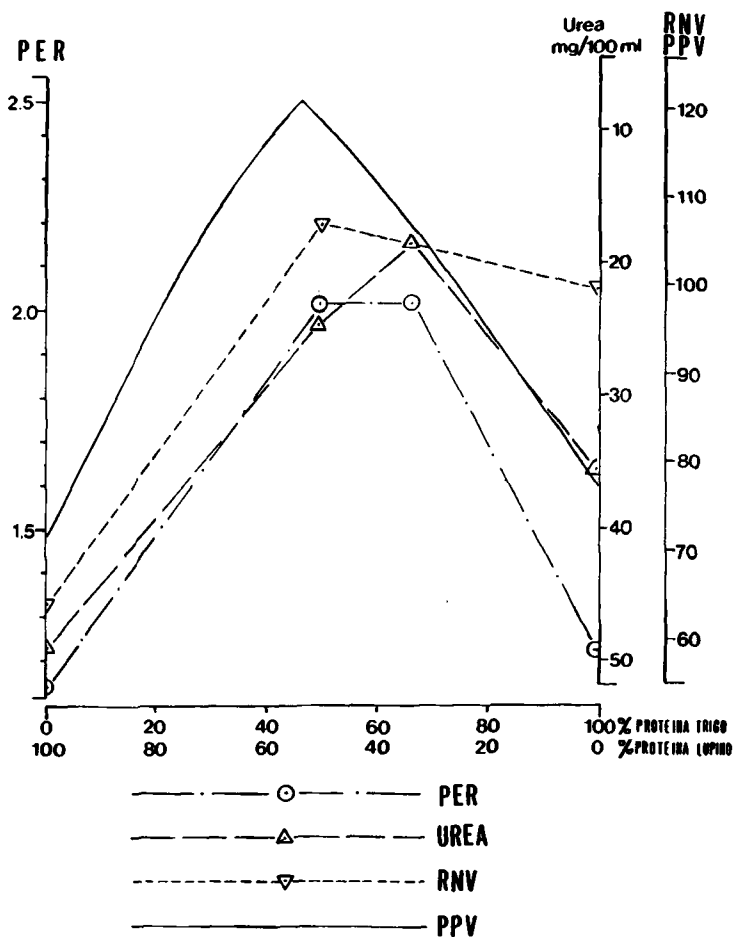


FIGURA 3

PER, urea, RNV y PPV de diferentes mezclas de proteína de trigo con proteína de lupino

también aquí, como en la Figura 1, la rata muestra en la sangre un requerimiento mayor de aminoácidos azufrados en relación a la concentración de urea, porque la mejor calidad proteínica de la mezcla se alcanza con un mayor porcentaje de proteína de trigo, comparado con el PER.

El gráfico de la curva del PPV se caracteriza igualmente por el

déficit de aminoácidos azufrados en la proteína del lupino y de lisina en la proteína del cereal. Consecuentemente, el valor máximo del PPV se encuentra más próximo a la mayor proporción de la proteína de la leguminosa, comparándolo con el PER. Ello se debe a que el requerimiento calculado de aminoácidos azufrados del ser humano adulto es inferior, como ya se mencionó antes.

El *Streptococcus zymogenes* también crece más cuando se mezcla la proteína del lupino con la del trigo, lo que indica que su requerimiento de aminoácidos azufrados es mayor de lo que contiene esta leguminosa.

Sustituyendo progresivamente la proteína del lupino por la del trigo la calidad proteínica, medida como RNV disminuye en forma menos notoria, en comparación con los otros métodos. El crecimiento de *Streptococcus zymogenes*, por lo tanto, apenas varía (hacia una falta de lisina), observación también descrita por Haenel (20).

De los resultados de los ensayos se puede deducir las siguientes conclusiones con respecto a los cuatro métodos:

### 1. *PER*

Este método usa como parámetro de la calidad proteínica de una dieta el crecimiento de la rata. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el metabolismo de la rata no es idéntico al del hombre, por lo que sus requerimientos de aminoácidos son diferentes (21). A pesar de ello, el PER es el método más usado en la actualidad.

### 2. *Urea en la Sangre de Ratas*

Este método se deduce de la relación en que la proteína de la dieta es transformada en proteína corporal a la calidad proteínica de la misma. Aunque dicho procedimiento tiene una alta correlación con el PER, los resultados de los dos métodos no son idénticos, por un lado, porque este procedimiento no abarca la digestibilidad de la proteína, y por otro lado, porque con este método rige un requerimiento de aminoácidos ligeramente distinto, como ya se explicó. La ventaja de esta técnica es que requiere menos tiempo, trabajo y costo, por lo que se presta para ensayos con gran número de muestras, por ejemplo, en el fitomejoramiento y en el control de calidad de alimentos.

Sería interesante comprobar si también puede ser aplicado en

seres humanos y, así reemplazar parcialmente los sofisticados métodos de balance de nitrógeno.

### 3. *RNV*

Los requerimientos de aminoácidos de la bacteria *Streptococcus zymogenes* se distinguen considerablemente de los de la rata. Es probable que también los mecanismos de digestión de un organismo monocelular no sean completamente comparables con los de un organismo multicelular. En consecuencia, este método podría recomendarse como un test no muy fino pero rápido para clasificar ("screening") un gran número de proteínas y solamente para aquellas cuyo valor no es limitado por su contenido de lisina, por ejemplo, para leguminosas.

### 4. *PPV*

Se admite, por un lado, que el requerimiento de aminoácidos del hombre es diferente al de la rata (21) y, por el otro, que este método matemático no considera la digestibilidad de las proteínas. Además, esta diferencia se explica porque se ha comparado el requerimiento de un organismo en crecimiento (rata), con el de un adulto (humano). No obstante, se sabe que tanto a causa de este estado fisiológico como por características propias de su especie, el requerimiento de metionina de la rata es mayor en relación al humano (22, 23).

A diferencia del puntaje químico (24), sin embargo, el PPV tiene la ventaja de que no sólo considera los aminoácidos limitantes sino que también tiene en cuenta el exceso de un aminoácido en la dieta, lo que podría ser, asimismo, el factor responsable de una disminución en la calidad de la proteína.

Al parecer, es necesario desarrollar mejor este método matemático a fin de poder aplicarlo también a los requerimientos de los niños, siendo ellos el grupo que merece mayor atención.

En base a lo expuesto, se puede afirmar que existen tres razones que ocasionan dificultad en la determinación del valor proteínico de un alimento, con respecto a los cuatro métodos:

1. Las diferentes especies utilizadas en los ensayos difieren no sólo en los requerimientos específicos de aminoácidos esenciales, sino también en la naturaleza morfológica y fisiológica de los sistemas digestivos y absorptivos.

2. El hombre vive en un medio ecológico diferente a las condiciones estériles de un laboratorio, y sus requerimientos, además, varían mucho en función a su estado físico y fisiológico.
3. El metabolismo de la proteína en el cuerpo está integrado a un sistema biológico sumamente complejo y sometido a la interacción de muchos factores que interfieren en la utilización adecuada de la misma (25).

Las razones mencionadas dificultan juzgar el requerimiento general de un organismo haciendo uso de un sólo parámetro, situación que hace casi imposible encontrar *una sola* técnica para satisfacer en forma simultánea las diferentes tareas impuestas. Se hace, pues, necesario definir un método funcional para cada objetivo de la evaluación.

El método más difundido a la fecha es el PER (peso ganado por gramo de proteína consumida bajo condiciones experimentales estandarizadas). A pesar de su larga trayectoria (26), su amplio uso y de su status oficial (7), se le atribuyen limitaciones debidas, por una parte, al costo y duración del ensayo, particularmente en relación a los procedimientos rápidos que exige la floreciente industria de alimentos (27), y por la otra, a la validez estadística y precisión, ya que los requerimientos no concuerdan exactamente con los de los humanos (21, 23). No obstante, hasta el momento dicho método continúa siendo el que proporciona los resultados de mayor aproximación para el humano.

El método de cuantificación de la concentración de urea en sangre de ratas fue recomendado originalmente por Eggum (19). Gross *et al.* (28) proponen una modificación del mismo, reduciendo considerablemente su costo y su duración, sin por ello disminuir su exactitud.

El método del RNV podría ser una herramienta muy útil en casos de una selección rápida para evaluar diferentes variedades de una misma especie de plantas para fines de mejoramiento genético, siempre y cuando la técnica esté debidamente desarrollada, dado que ésta demanda mucha laboriosidad y dominio previo.

Para el establecimiento de un modelo matemático en la evaluación de la calidad proteínica de un alimento, hoy día es una ventaja disponer de computadores para interpretar las bases obtenidas con la experimentación biológica en seres humanos. Esto permite reducir los ensayos experimentales con animales de laboratorio.

## SUMMARY

FOUR METHODS FOR THE EVALUATION OF PROTEIN QUALITY  
OF VEGETABLE SOURCES

This study compares the practical value of the following methods: protein efficiency ratio (PER), blood urea concentration in rats (BUC), relative nutritive value (RNV), and predicted protein value (PPV) to evaluate the protein quality of 41 diets of plant origin.

Results demonstrated low correlations between PER and RNV ( $r = 0.66$ ), PER and PPV ( $r = 0.53$ ), RNV and PPV ( $r = 0.54$ ), whereas there was a high negative correlation between PER and BUC ( $r = -0.89$ ).

These different procedures can be useful and valid for distinct and well-defined objectives, but the evaluation of results must be made in accordance with the purpose of the experiment.

In assessing the protein quality of foodstuffs, it is therefore recommended that mathematical computer models be developed which take into account the cybernetic system of the amino acid metabolism. This would definitely reduce the actual need of expensive long-term biological assays.

## BIBLIOGRAFIA

1. Harper, A. E. Objective of protein evaluation. In: **Protein in Human Nutrition**. J. B. G. Porter and B. A. Rolls (Eds.). New York, N. Y., Academic Press, 1973, p. 349-352.
2. Bodwell, C. E. Problems in the development and application of rapid methods of assessing protein quality. **Food Technol.**, 31: 73-77, 84, 1977.
3. Staub, H. W. Problems in evaluating the protein nutritive quality of complex foods. **Food Technol.**, 12: 57-61, 1978.
4. Bleitgen, R., R. Gross & U. Gross. Die Lupine — ein Beitrag zur Nahrungsversorgungen in den Anden. 5. **Z. Ernaehrungsw.**, 18: 104-111, 1979.
5. Hatzold, T. & J. Gonzáles. Extracción de grasa de alcaloides de la semilla de *Lupinus mutabilis*. En: **Proyecto Lupino, Instituto de Nutrición**, 1981, p. 112-118 (Informe No. 6).
6. Rodríguez, T., T. Aliaga, H. Schoeneberger & R. Gross. Establecimiento de las condiciones óptimas a nivel de planta piloto para la preparación de un aislado proteínico de *Lupinus mutabilis*. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, 31: 782-795, 1981.
7. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of**

- Analysis of the AOAC**, 13th ed. Washington, D. C., The Association, 1980.
8. Bech, A., H. Schmidtboom, M. Spindler & H. Tanner. Bestimmung von gebundenen und supplementierten Aminosäuren in Futtermitteln und Mischfuttern und Hilfe der Ionenaustauschchromatographie. **Kraftfutter**, 3: 118-124, 1978.
  9. Schoeneberger, H., O. Sam, R. Gross, H. D. Cremer & I. Elmadfa. Die Proteinqualitaet von *Lupinus albus* und *Lupinus mutabilis*. **Die Nahrung**, 25: 667-674; 1981.
  10. Fawcett, J. K. & Y. E. Scott. A rapid and precise method for the determination of urea. **J. Clin. Pathol.**, 13: 156-159, 1960.
  11. Schoeneberger, H. & R. Gross. Comparison of protein efficiency ratios and serum urea concentrations in the assessment of dietary protein quality in growing rats. **Nutr. Repts. Internat.**, 25: 897-906, 1982.
  12. Ford, J. E. A microbiological method for assessing the nutritional value of proteins. **J. Nutrition**, 14: 485-497, 1960.
  13. Luescher, R. **Evaluation Method to Determine the Sulphur-Containing Amino Acid in Potatoes**. M. S. Thesis. Michigan State University, 1971, 68 p.
  14. Gross, R. Predicted protein value: Some considerations to a new mathematical method for the evaluation of the biological value of food protein. **Nutr. Repts. Internat.**, 22(1): 29-40, 1980.
  15. Mørup, I. L. K. & E. S. Olesen. New method for prediction of protein value from essential amino acid pattern. **Nutr. Repts. Internat.**, 13: 355-365, 1974.
  16. Kofranyi, E. & F. Jekat. Zur Bestimmung der biologischen Wertigkeit von Nahrungsproteinen. VIII. Die Wertigkeit gemischter Proteine. **Hoppe-Seyler's. Z. Physio. Chem.**, 335: 174-179, 1964.
  17. Muenchow, H. & H. Bergner. Untersuchungen zur Proteinbewertung von Futtermitteln. **Arch. Tierernaehrung**, 17: 141-150, 1967.
  18. Muenchow, H. & H. Bergner. Empfehlung zur Proteinbewertung von Eiweissfuttermitteln anhand der Bestimmung der Harnstoffkonzentration im Blut von Ratte oder Schwein. **Arch. Tierernaehrung**, 18: 222-228, 1968.
  19. Eggum, B. O. Blood urea measurement as a technique for assessing protein quality. **Brit. J. Nutr.**, 24: 983-988, 1970.
  20. Haenel, H. Some observations on the use of microbiological techniques for the determination of protein quality. En: **Protein in Human Nutrition**. J. B. G. Porter and B. A. Rolls (Eds.). New York, N. Y., Academic Press, 1973, p. 195-206.
  21. Mitchell, H. H. (Ed.). Amino acid requirements for the replacement of endogenous nitrogen losses, in mature monogastric mammals. En:

- Comparative Nutrition of Man and Domestic Animals.** Vol. I. New York, N. Y., Academic Press, 1967, p. 163-166.
22. Said, A. K. & D. M. Hegsted. Response of adult rats to low dietary levels of essential amino acids. **J. Nutrition**, **100**: 1363-1376, 1970.
  23. Mitchell, H. H. Some species and age differences in amino acid requirements. In: **Protein and Amino Acid Requirements of Mammals.** A. A. Albanese (Ed.). New York, N. Y., Academic Press, 1950, p. 1-30.
  24. Oser, B. L. Method for integrating essential amino acid content in the nutritional evaluation of protein. **J. Am. Dietet. Assoc.**, **27**: 396-402, 1951.
  25. Bender, A. E. Chemical scores and availability of amino acids. En: **Protein in Human Nutrition.** J. B. G. Porter and B. A. Rolls (Eds.). New York, N. Y., Academic Press, 1973, p. 167-178.
  26. Osborne, T. B., L. B. Mendel & E. L. Ferry. A method of expressing numerically the growth promoting value of proteins. **J. Biol. Chem.**, **37**: 223-224, 1919.
  27. Pellett, P. L. Protein quality evaluation revisited. **Food Technol.**, **5**: 60-79, 1978.
  28. Gross, R., H. Schoeneberger & I. Málaga. A short-term urea assay (STUA) to evaluate the protein quality of food. **Nutr. Reps. Internat.**, **26**: 629-634, 1982.