

EFFECTO DE LA LACTOSA EN LA EVALUACION DEL VALOR NUTRITIVO DE LA CASEINA

R. P. Elia,¹ D. Burman¹ y María Elena Sambucetti²

Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires,
Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

La evaluación biológica de la calidad proteínica de productos lácteos como leches normales y modificadas en polvo en los cuales interviene la lactosa, presenta dificultades. Es sabido que por su efecto osmótico, cuando este azúcar se encuentra en concentraciones considerables, produce serios trastornos intestinales en las ratas, lo que dificulta la determinación de la calidad nutricional de la proteína de la dieta.

En el trabajo objeto de esta comunicación, se trató de determinar cómo la lactosa incide sobre el valor nutritivo de la caseína, evaluado por el método de la Utilización Proteínica Neta (UPN) y el método de la Relación Proteínica Neta Relativa (RPNR).

En dichas experiencias se utilizaron ratas de 30 y 21 días de edad, respectivamente. Las dietas empleadas contenían caseína al 10^o/o y al 8^o/o para la determinación de la UPN y de la RPNR, respectivamente, y cantidades crecientes de lactosa comprendidas entre 20^o/o y 50^o/o. En ambos métodos, esas dietas fueron suministradas a los animales durante 10 días.

Los resultados obtenidos demostraron que, a pesar de los trastornos intestinales observados con mayor frecuencia y duración a medida que aumentaba la concentración de lactosa, el valor nutricional de la caseína no alcanzó una diferencia significativa, aún con concentraciones de 40^o/o de lactosa en ninguno de los dos métodos ($P > 0.05$).

INTRODUCCION

La evaluación biológica de la calidad de la proteína de fórmulas lácteas, y aún de leches normales en polvo, presenta dificultades a causa de la concentración de lactosa de estos productos. Es un hecho reconocido

Manuscrito modificado recibido: 28-11-86.

1 Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

2 Profesora Asociada del Departamento en referencia, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Junín 956 - 2o. Piso - (1113) Buenos Aires, Argentina.

que cuando este azúcar se encuentra en concentraciones considerables, por su efecto osmótico, produce serios trastornos intestinales en las ratas.

Algunos autores han demostrado que una dieta con 20^o/o de lactosa produce diarrea en ratas destetadas, mientras que en concentraciones de 5^o/o, 10^o/o y 15^o/o no inducen esta alteración (1).

En el comercio existen diferentes alimentos para lactantes que contienen una concentración proteínica de alrededor de 14^o/o y un contenido de lactosa que varía desde 25^o/o hasta 50^o/o.

Por ello, es de sumo interés conocer el nivel máximo de lactosa en la dieta que permita obtener resultados valederos con los métodos recomendados para la evaluación biológica de las proteínas alimenticias. Con este objetivo en mente, en el presente trabajo se evaluaron dietas de caseína con concentraciones de lactosa que fluctuaban entre 0^o/o y 50^o/o. Para tal propósito se empleó uno de los métodos biológicos más utilizados, que es el de la Utilización Proteínica Neta (UPN) y el de la Relación Proteínica Neta Relativa (RPNR), modificación del PER recomendado por algunos autores (2).

MATERIAL Y METODOS

Relación Proteínica Neta Relativa (RPNR)

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar, de 21 a 23 días de edad de ambos sexos, indistintamente.

Cada nivel de lactosa se sometió a ensayo con un mínimo de tres lotes de 6-8 animales. A un lote se le suministró una dieta libre de proteína (LP); a otro, una dieta control o de referencia de caseína suplementada con metionina (C), y al tercer lote, las diferentes dietas problema (I-VIII).

Para alguno de los niveles de lactosa se hicieron duplicados.

La composición de las dietas se muestra en la Tabla 1.

La duración de la experiencia fue de 10 días, período durante el cual se registró la variación de peso de los animales cada tres días. El consumo de las dietas fue registrado diariamente, observándose, además, el estado de los animales y de la materia fecal.

El valor de RPN y RPNR se calculó de acuerdo a las siguientes fórmulas (2):

$$\text{RPN} = \frac{\text{Ganancia de peso de los animales problema} + \text{Pérdida de peso de los animales libres de proteína}}{\text{Proteína consumida por los animales del lote problema}}$$

$$\text{RPNR} = \frac{\text{RPN de proteína problema}}{\text{RPN de proteína de referencia}}$$

Se hizo el cálculo por individuo contrastando animales de igual peso a fin de facilitar el estudio estadístico en el análisis de las diferentes dietas.

TABLA 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS EVALUADAS POR EL METODO DE RPNR

Dietas ¹	Caseína (g/100 g)	DL-metionina (g/100 g)	Lactosa (g/100 g)
LP	—	—	—
C	11.00	0.12	—
I	11.00	—	—
II	11.00	—	20.00
III	11.00	—	25.00
IV	11.00	—	30.00
V	11.00	—	35.00
VI	11.00	—	40.00
VII	11.00	—	45.00
VIII	11.00	—	50.00

- 1 Todas las dietas contenían, además de lo indicado en la Tabla: 9.50^o/o de aceite, 5.00^o/o de sales, 0.25^o/o de vitaminas hidrosolubles, 0.50^o/o de vitaminas liposolubles, 0.70^o/o de colina, y dextrina en cantidad suficiente para completar 100^o/o (3). El contenido de proteína (N x 6.38) era de 8^o/o, y el de P^o/o, de 7.72.

Utilización Proteínica Neta (UPN)

Al comienzo de la experiencia se emplearon también ratas de la cepa Wistar, con un peso de alrededor de 60 gramos y de 32 días de edad. Con ellas se formaron cuatro lotes de cuatro animales cada uno (4). Un lote se alimentó con dieta libre de proteína (LP) y los tres restantes con las dietas problema (I' - VIII'). La composición de las dietas utilizadas en las diferentes experiencias se expone en la Tabla 2.

El valor de nitrógeno corporal para el cálculo de la UPN se obtuvo por medio de la ecuación que representa la relación N/H₂O x 100 en función de la edad, y que para nuestra colonia de ratas es la siguiente (5):

$$y = 2.76 + 0.0293x$$

donde y representa la relación N/H₂O x 100 y la x la edad en días.

A partir de los valores obtenidos, se aplicó la siguiente fórmula:

$$UPN = \frac{B - (B_k - I_k)}{I}$$

donde B es el nitrógeno corporal del lote experimental; B_k el nitrógeno corporal del lote que ingirió la dieta libre de proteínas; I la ingesta nitrogenada del lote experimental, e I_k la ingesta nitrogenada del lote libre de proteínas (4).

En las dos experiencias los animales fueron alojados en jaulas indivi-

TABLA 2

COMPOSICION DE LAS DIETAS EVALUADAS POR EL METODO DE UPN

Dietas ¹	Caseína (g/100 g)	Lactosa (g/100 g)
LP'	—	—
I'	13.80	—
II'	13.80	20.00
III'	13.80	25.00
IV'	13.80	30.00
V'	13.80	35.00
VI'	13.80	40.00
VII'	13.80	45.00
VIII'	13.80	50.00

1 Todas las dietas contenían además de lo indicado en la Tabla: 14.50^o/o de aceite, 5.00^o/o de sales, 0.25^o/o de vitaminas hidrosolubles, 0.50^o/o de vitaminas liposolubles, 0.70^o/o de colina, y dextrina en cantidad suficiente para completar 100^o/o (3). El contenido de proteína (N x 6.38) era de 10^o/o y el de P^o/o de 9.17-

duales a una temperatura ambiente de 20 a 22^oC.

Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de la varianza y el test de Dunnett (6).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos con el método de RPNR.

El valor obtenido para caseína fue de 0.71 y los que corresponden a las mezclas de caseína + lactosa oscilaron entre 0.76 y 0.34. Sobre estos valores se realizó el análisis de la varianza de un factor fijo y el test de Dunnett. Se encontró que para una probabilidad del 5^o/o, existe diferencia significativa entre los valores obtenidos para caseína y mezclas de caseína con contenido de lactosa de más de 40^o/o.

Estos resultados se reflejan en los diferentes parámetros analizados. Así, en la Figura 1 se observa la variación de peso de los diferentes lotes alimentados con las dietas en estudio. En ella se destaca el mayor incremento de peso del lote alimentado con la proteína de referencia (caseína + metionina). Los lotes que recibieron 20^o/o a 40^o/o de lactosa demostraron un aumento de peso, menor y similar. En cambio, las ratas alimentadas con caseína + lactosa al 45^o/o y 50^o/o acusaron en un primer momento una caída de peso, y luego una lenta recuperación llegando a un valor levemente superior al inicial. Algunos animales no se recuperaron y continuaron descendiendo de peso.

En la Tabla 4 se detalla el aumento de peso, el consumo y la incidencia de diarrea. En el consumo no hubo diferencia en los lotes alimentados

TABLA 3

DETERMINACION DE NPR Y RPNR DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Dietas	NPR	NPR de dieta control corresp.	RPNR
I	$3.71 \pm 0.13^{*(8)}$	$5.20 \pm 0.24^{(8)}$	0.71 ± 0.04
II	$2.19 \pm 0.22^{(6)}$	$3.22 \pm 0.15^{(6)}$	0.68 ± 0.11
III	$3.56 \pm 0.36^{(8)}$	$4.59 \pm 0.12^{(8)}$	0.76 ± 0.06
IV	$3.08 \pm 0.11^{(14)}$	$4.73 \pm 0.08^{(14)}$	0.66 ± 0.04
V	$2.98 \pm 0.24^{(12)}$	$4.83 \pm 0.06^{(12)}$	0.62 ± 0.04
VI	$2.71 \pm 0.16^{(6)}$	$4.22 \pm 0.19^{(6)}$	0.65 ± 0.05
VII	$2.19 \pm 0.25^{(12)}$	$4.37 \pm 0.11^{(12)}$	0.51 ± 0.06
VIII	$1.40 \pm 0.46^{(6)}$	$4.19 \pm 0.16^{(6)}$	0.34 ± 0.10

* Promedio \pm error estándar.

() Las cifras entre paréntesis representan el número de ratas por lote.

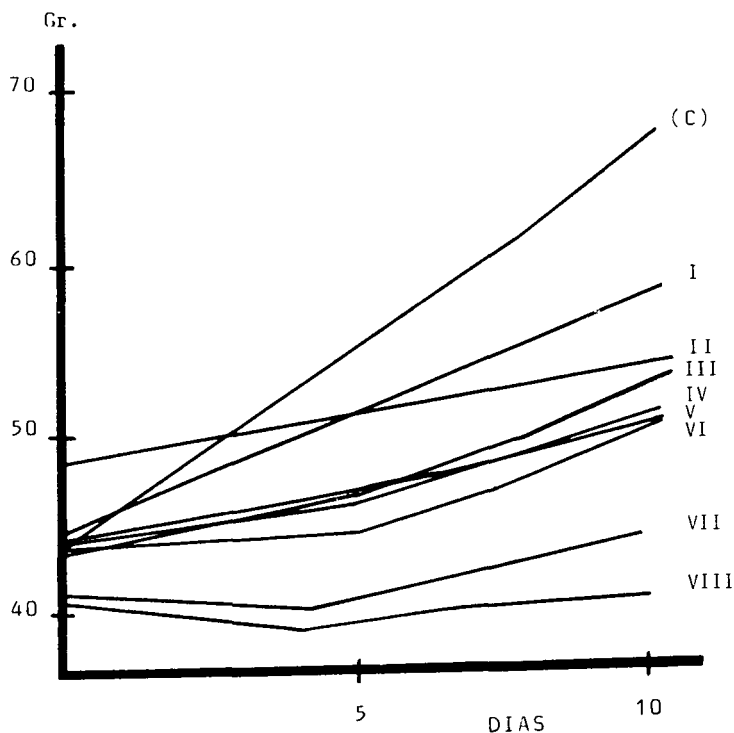


FIGURA 1

Variación de peso de los diferentes lotes en la determinación de RPNR. Dietas: (C) = Control; I = Caseína, II, III, IV, V, VI, VII, VIII = Caseína + Lactosa, 20^o/o, 25^o/o, 30^o/o, 35^o/o, 40^o/o, 45^o/o y 50^o/o, respectivamente.

TABLA 4

**AUMENTO DE PESO, CONSUMO Y TRASTORNOS INTESTINALES
DE LOS ANIMALES SUJETOS A ESTUDIO**

Dietas	Peso (g)	Consumo (g)	o/o de animales con diarrea	
			t ₀	t _f
I	13.5 ± 0.4 ¹	69.2 ± 3.6 ¹	25.0	0.0
II	5.7 ± 3.4	88.7 ± 2.4	87.5	25.0
III	10.0 ± 1.4	64.6 ± 4.8	100.0	37.5
IV	7.8 ± 1.0	62.8 ± 3.2	100.0	62.5
V	7.2 ± 1.6	61.3 ± 2.9	100.0	33.0
VI	6.8 ± 1.6	65.1 ± 5.3	100.0	66.7
VII	3.8 ± 1.6	56.5 ± 2.6	83.3	83.3
VIII	0.6 ± 2.9	62.7 ± 5.1	83.3	83.3

1 = Promedio ± error estándar. t₀ = Comienzo de la experiencia.

t_f = Final de la experiencia.

con lactosa, a excepción de la dieta que contenía lactosa al 20^oo, donde hubo una gran ingesta pero un pequeño aumento de peso. Este comportamiento anormal podría haberse debido a que esas ratas provenían de un bioterio con una temperatura superior a la de la experiencia. Por lo tanto, el mayor consumo habría sido utilizado en la regulación de la temperatura corporal, en detrimento del crecimiento (7, 8).

Los bajos valores obtenidos para la NPR de esta dieta y su correspondiente control de caseína suplementada, reflejarían este hecho. De ello se desprende que es condición indispensable incluir en cada experiencia simultáneamente un lote con dieta control además del lote libre de proteínas y dieta en ensayo, para anular los efectos que podrían causar diferentes condiciones ambientales.

Con respecto a la incidencia de diarrea, el número de animales afectados al principio del ensayo, y el de normales al final guardó relación con la concentración de lactosa. Es de señalar que con altas concentraciones de lactosa (40^oo en adelante), la normalización fue mínima o nula.

Los hallazgos resultantes de aplicar el método de la UPN se exponen en la Tabla 5. El valor de la caseína, según se aprecia, fue de 0.60, y las demás dietas con lactosa variaron entre 0.65 y 0.52; no se encontraron diferencias significativas entre ellos (P > 0.05).

Debido a que en las ratas alimentadas con lactosa se presentó diarrea, no fue posible realizar el cálculo de digestibilidad necesario para determinar el valor biológico de la proteína.

Si bien el método de la RPN es una modificación del método oficial del PER, al introducir el lote libre de proteínas, la RPN equivale a la UPN, en la que en lugar de medir el nitrógeno corporal, se mide el peso (2).

De ahí la ventaja que ofrece este método especialmente para laboratorios donde no se dispone de la ecuación que expresa la relación N/H₂O en función de la edad.

Por otra parte, el referir el valor de RPN de la dieta problema a una

TABLA 5

DETERMINACION DE UPN₁₀ DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Dietas	UPN ₁₀
I'	0.60 ± 0.02 ¹
II'	0.59 ± 0.02
III'	0.65 ± 0.05
IV'	0.62 ± 0.03
V'	0.63 ± 0.03
VI'	0.59 ± 0.01
VII'	0.64 ± 0.04
VIII'	0.52 ± 0.03

1 = Promedio ± error estándar.

proteína de referencia disminuye la variabilidad de los resultados entre distintos laboratorios (9).

Es de señalar que los valores de NPR de caseína + metionina son algo más bajos que los obtenidos por otros autores (10), lo que hace suponer que la suplementación con metionina fue insuficiente. Esto explicaría también el hecho de que el valor nutricional de la caseína, obtenido por el método de RPNR, haya resultado más alto que el obtenido con la UPN.

En el caso de alimentos con elevada concentración de lactosa, el procedimiento de RPNR sería un método de elección, ya que la UPN por cálculo indirecto, mediante la relación N/H₂O, daría resultados poco exactos a medida que aumenta la deshidratación por diarrea.

Esto explicaría los distintos niveles críticos de lactosa encontrados con ambas técnicas.

En el método de RPNR se constató una notable disminución en los resultados con concentraciones mayores de 40^o/o, mientras que con el método de UPN no apareció una deficiencia significativa aún con el nivel de 50^o/o, a pesar de que ya con 45^o/o el estado de los animales era desfavorable.

Por lo tanto, se puede concluir que la concentración límite de lactosa que permite evaluar correctamente el valor nutricional de la caseína, es del 40^o/o.

Además, los resultados obtenidos aseguran la determinación del valor biológico de las fórmulas comerciales para lactantes a pesar de que en ellas se sobrepasa el límite de concentración de lactosa antes señalado. Debido a que para la preparación de la dieta experimental se realiza una dilución para ajustar la concentración de proteína al nivel requerido por el método, la concentración de lactosa también disminuye a niveles que pueden entrar dentro de los recomendados.

SUMMARY

EFFECT OF LACTOSE ON THE EVALUATION OF CASEIN'S
NUTRITIVE VALUE

The biological evaluation of protein from dairy products such as normal and modified powdered milks where lactose is present, poses difficulties. It is known that when this sugar is contained in high concentrations, and due to its osmotic effect, it causes serious intestinal disorders in rats, thus obstaculizing the determination of the protein nutritional quality. In the study described herein, efforts were made to determine how lactose affects determination of the nutritional value of casein when this is evaluated by the Net Protein Utilization (NPU) procedure, and by the Relative Net Protein Ratio (RNPR) method.

Thirty, and 21-day-old rats were fed with diets containing 10% and 8% of casein respectively, and lactose concentrations varying from 20% to 50%. All experiments lasted 10 days.

The results demonstrated that casein's nutritional value did not differ significantly ($p > 0.05$) with lactose concentrations up to 40% in any of both methods, even though intestinal disorders were observed with more frequency and duration as lactose concentration increased.

BIBLIOGRAFIA

1. Riggs, L.K. & A. Beaty. Some unique properties of lactose as a dietary carbohydrate. *J. Dairy Sci.*, **30**: 939, 1947.
2. Comisión FAO/OMS del Codex Alimentarius. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. **Comité del Codex en Proteínas Vegetales, 2a. Reunión.** Ottawa, 1 a 5 de marzo de 1982. (Informe del grupo especial de trabajo sobre medición de la calidad de las proteínas).
3. Harper, A.E. Amino acid imbalance. I. Dietary level of protein and amino acid imbalance. *J. Nutr.*, **68**: 605, 1959.
4. Miller, D.S. & A.E. Bender. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. *Brit. J. Nutr.*, **9**: 382-388, 1955.
5. Sambucetti, M.E. & J.C. Sanahuja. El valor nutritivo de las harinas de pescado y su relación con el contenido de lisina y metionina disponibles. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **20**: 119-133, 1970.
6. Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. **Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research.** San Francisco, California, W.H. Freeman & Company, 1981, 859 p.
7. Klain, G.J., D.A. Vaughan & L.N. Vaughan. Interrelationships of cold exposition and amino acid imbalances. *J. Nutr.*, **78**: 359-364, 1962.
8. Hamilton, C.L. Food & temperature. In: **Handbook of Physiology. A Critical Comprehensive Presentation of Physiological Knowledge and Concepts.** Section 6: Alimentary Canal. Vol. I, Chapter 23. Control of Food and Water Intake. Washington, D.C., American Physiological Society, 1967, p. 303-317.
9. McLaughlan, J.M., G.H. Anderson, L.R. Hackler, D.C. Hill, G.R. Jansen, M.O. Keith, G. Sarwar & F.W. Sosulski. Vitamins and other nutrients. Assessment of rat - growth methods for estimating protein quality: Interlaboratory study. *JAOAC*, **63**(3): 462-467, 1980.
10. Sawar G. & J.M. McLaughlan. Relative net protein ratio method for evaluating protein quality. *Nutr. Reps. Internat.*, **23**(6): 1157-1166, 1981.