

Tiempo mínimo para detectar calidad proteica usando indicadores del catabolismo proteico en pollos

*Patricia Vit*¹, *Anna M. Cioccia*², *Odoardo Brito*³ y *Patricio Hevia*⁴
Laboratorio de Nutrición, Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela

RESUMEN. Estudios anteriores indicaron que en pollos tanto la actividad hepática de las enzimas xantina deshidrogenasa y nucleósido fosforilasa así como la excreción de ácido úrico pueden servir como indicadores de la calidad de la proteína consumida en tiempos muy cortos. Sin embargo, en esos estudios a pesar de que el tiempo de exposición a la dieta a evaluar fue corto, los tiempos de acondicionamiento de los animales fueron largos. De acuerdo con esto, el propósito de este estudio fue establecer si la eliminación del tiempo necesario para aislar los animales afectaba la utilidad de estos parámetros bioquímicos para determinar calidad proteica. Para ello 76 pollos mantenidos en grupos de 6 pollos/jaula, se alimentaron con una dieta de soya (control) durante 5 días. Al finalizar este acondicionamiento todos los pollos se colocaron en jaulas individuales (1 pollo/jaula), la mitad de ellos permaneció en la misma dieta de soya y la otra mitad recibió una dieta con gelatina. Luego se determinó la actividad hepática de las enzimas púricas y la excreción de ácido úrico después de 1, 2, 3, 5, 7, 10 y 15 días. Los resultados indicaron que la separación repentina de los pollos (de 6 pollos/jaula a 1 pollo/jaula) estuvo asociada con una disminución temporal en el crecimiento y un aumento en la actividad de estas enzimas, así como en la excreción de ácido úrico en todos los pollos. Estos efectos iniciales se disiparon rápidamente, pero las actividades de las enzimas púricas así como la excreción de ácido úrico corregidos por el consumo proteico fueron notablemente mayores en los pollos que consumieron gelatina a partir del primer día de experimentación, indicando que la diferencia en la calidad de las proteínas usadas aquí, modificaron las actividades de estas enzimas, así como la producción de ácido úrico en un tiempo muy corto. Estos resultados señalan que esta modificación del protocolo de aislamiento reduce substancialmente el tiempo de experimentación, sin afectar la capacidad de este método en detectar diferencias de calidad proteica.

SUMMARY. Minimal time required for detecting differences between soy and gelatin using uric acid excretion and purine enzymes as indicators of protein quality in chickens. Previous studies shown that in chickens the hepatic activities of the purine enzymes Xanthine Dehydrogenase and Nucleoside Phosphorylase and the uric acid excretion can predict the quality of the protein consumed in a very short time. In these studies even though the experimental time was short, the time used for the conditioning of the chickens was long and included five days with six chickens per cage and then five to six days for progressively changing the chickens to individual cages in order to avoid the stress associated with the isolation of the animals. Thus the purpose of this study was to determine the minimal time required to detect differences in these parameters after feeding a soy-met and a gelatin diet and eliminating completely the time required for the isolation of the chickens. Thus, 76 one day old Warren male chickens were placed in groups of six on a soy-met powdered diet during five days and on day six all the chicken were placed in individual cages and one half was offered the same diet while the rest received a gelatin diet. Then on day 1, 2, 3, 5, 7, 10 and 15 after the diet change five chickens on each diet were sacrificed and the activity of the liver purine enzymes as well as the uric acid excreted were determined. The results showed that the abrupt isolation of the animals was associated with a transient reduction in growth and in an increment in the activity of both enzymes and in the excretion of uric acid which was more evident when these parameters were expressed as a function of the nitrogen consumed. These effects of the isolation dissipated in approximately three days but regardless of this effect, the activities of the enzymes and the excretion of uric acid corrected by the nitrogen consumed were substantially higher in the gelatin fed animals than in the soy-met fed animals from the first day after diet change and continued elevated throughout the experiment, indicating that the quality of the protein consumed affected both the purine enzymes and the uric acid excretion in a very short time. In general these results show that the abrupt isolation of the chickens caused a transient induction in the production of uric acid and also in the purine enzymes involved in its synthesis. This induction however did not interfere with the use of these parameters in the prediction of protein quality since it happened both in the chickens fed soy-met and also in those fed gelatin. These results confirmed that these methods are appropriated for determining protein quality in a very short time and also that the conditioning period can be substantially reduced.

1. Profesora. Facultad de Farmacia. Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
2. Profesora Asociado. Laboratorio de Nutrición. Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela.
3. Profesor Titular. Laboratorio de Nutrición. Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela.
4. Autor para correspondencia y Profesor Titular. Laboratorio de Nutrición. Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.

INTRODUCCION

Los métodos empleados para medir la calidad de las proteínas son muy variados, sin embargo los más importantes son los métodos químicos que se basan exclusivamente en la determinación de los aminoácidos de la proteína problema y los métodos biológicos que establecen el efecto de esta proteína en el crecimiento o en la retención de nitrógeno en animales de experimentación (1). De estos, los métodos biológicos como el PER (relación de eficiencia proteica), el NPR (relación proteica neta), el NPU (utilización proteica neta) y el BV (valor biológico), tradicionalmente se han considerado como los de mayor significancia particularmente en la evaluación de la calidad de nuevas proteínas porque en contraste con los métodos químicos permiten detectar la presencia de posibles factores tóxicos, así como la digestibilidad y la disponibilidad de los aminoácidos presentes en la proteína evaluada (2). Sin embargo, a este tipo de ensayos se los critica por su larga duración, puesto que requieren de 8 a 28 días de experimentación para producir resultados y porque los requerimientos aminoacídicos de los animales de experimentación no corresponden exactamente con los del humano (3-4).

Por estas razones, recientemente la FAO/WHO (5) de acuerdo con el Codex Committee on Vegetable Proteins (6) recomendó el cómputo químico corregido por la digestibilidad como el método más apropiado para determinar la calidad proteica. Sin embargo, a pesar de estos nuevos conceptos, aún son válidos los argumentos de Andersons (7), que indican que la industria de alimentos requiere de tres tipos de métodos para evaluar calidad proteica: Un método de referencia que puede ser costoso y largo, un segundo método suficientemente corto y económico para ser utilizado en la formulación de nuevos productos y en la búsqueda de nuevas proteínas y finalmente un método que pueda ser utilizado para control de calidad en la producción diaria también de corta duración.

De acuerdo con esto, nosotros hemos estudiado una técnica rápida para evaluar calidad proteica por un método bioquímico que mide algunos indicadores del catabolismo proteico en pollos. La idea que sustenta esta proposición se basa en los trabajos de Hevia y Clifford en 1978 (8), quienes mostraron que en los pollos tanto la excreción del ácido úrico como la actividad de las enzimas púricas hepáticas aumentan cuando se incrementa la necesidad de catabolizar la proteína dietaria, como en el caso de pollos que consumen un exceso de proteína o dietas con proteínas de baja calidad (8-9).

Este método ya ha demostrado su efectividad en la predicción de la calidad de proteínas naturales o aisladas, mezclas de aminoácidos y proteínas dañadas térmicamente o fortificadas con sus aminoácidos limitantes (10-13). En todos estos casos, los resultados de este método correlacionaron alta y negativamente con la calidad de los mismos productos medidos en la forma tradicional (PER, NPR, NPU) en pollos o ratas. Sin embargo, estos resultados en su gran mayoría se han obtenido

con períodos de alimentación de 15 días (10-13) o en períodos más cortos de alimentación (10,12) pero con períodos de acondicionamiento de los animales bastantes largos.

Como el tiempo de manipulación de los animales, independientemente de si se trata del período de alimentación de la dieta problema o del acondicionamiento son críticos en la búsqueda de ensayos de corta duración para determinar calidad proteica, el propósito de este estudio fue establecer el tiempo mínimo necesario para que cambios en la calidad de la proteína consumida afecten significativamente la actividad de las enzimas xantina deshidrogenasa (EC 1.2.1.37) y nucleósido fosforilasa (EC 2.4.2.1) hepáticas, así como en la excreción de ácido úrico en pollos en crecimiento sometidos a tiempos de acondicionamiento cortos.

Para ello, pollos de un día de nacidos, mantenidos en grupos de seis por jaula se alimentaron con una dieta de soya enriquecida con metionina por cinco días. Luego todos los pollos se cambiaron a jaulas individuales y la mitad se mantuvo en la misma dieta usada durante el acondicionamiento mientras que la otra mitad recibió una dieta en que la soya se reemplazó por gelatina y se determinó la actividad enzimática y la excreción de ácido úrico después de 1,2,3,5,7,10 y 15 días del cambio de dieta. Este protocolo difiere del usado en los estudios precedentes (10, 12), en cuanto a que el cambio de dieta se realiza con la aislación total al día 1 del experimento, mientras que en los anteriores, la aislación individual se alcanzó progresivamente antes del cambio de dieta, requiriendo seis días para la aislación total.

MATERIALES Y METODOS

Se adquirieron 76 pollos machos Warren en una incubadora local, y se acondicionaron en grupos de seis pollos por jaula durante cinco días, con una dieta control a base de soya fortificada con metionina (Tabla 1). Al finalizar este período, todos los pollos, que en promedio pesaron 54.9 ± 1.8 g, se separaron y se mantuvieron aislados en jaulas individuales por el resto del experimento. Este protocolo fue diferente al usado en experimentos anteriores (10,12) en que los pollos se aislaban progresivamente con el fin de evitar el stress causado por la separación brusca en un proceso que tardaba al menos cinco o seis días adicionales. Una vez que los pollos estuvieron aislados, la mitad de ellos permaneció en la misma dieta de soya usada durante el acondicionamiento y a la otra mitad se le ofreció una dieta idéntica, pero en la que la soya se reemplazó por gelatina y se eliminó la metionina (Tabla 1). Estas dos dietas fueron ofrecidas a los pollos durante un tiempo que varió entre 1 y 15 días manteniendo un registro diario de su peso así como del alimento consumido. Durante todo el experimento el alimento y el agua se ofrecieron ad libitum.

TABLA 1
COMPOSICION DE LA DIETA BASAL 1

Ingredientes	Concentración (g/100g seco)
Proteína ²	20.00
L-Metionina ²	0.46
Aceite de maíz	5.00
Celulosa	3.00
Mezcla mineral ¹	3.50
Mezcla vitamínica ¹	2.00
CaHPO ₄ x H ₂ O	3.60
Almidón de maíz	62.44

1. Preparada de acuerdo a Peterson et al 1971. (14)
2. Aislado de soya o gelatina
3. Se incluyó sólo en la dieta con soya.

Con el fin de estudiar las variaciones en la actividad hepática de la xantina deshidrogenasa y de la nucleósido fosforilasa a media que transcurría el tiempo de experimentación, se sacrificaron cinco pollos en cada dieta a las de 1,2,3,5,7,10 y 15 días después del cambio de dieta. A estos pollos se les disectó el hígado los cuales se congelaron en nitrógeno líquido y se mantuvieron congelados (-18° C) hasta su análisis. Además se sacrificó un grupo de seis pollos antes del cambio de dieta con el fin de conocer los niveles de estas enzimas antes del aislamiento de los animales y a los resultados de este grupo se los designó como día cero del experimento. La actividad de la xantina deshidrogenasa se determinó según la técnica descrita por Tramper y Angelino (15) y la nucleósido fosforilasa según la descripción de Hevia et al (16). Con el fin de establecer las variaciones en la excreción de ácido úrico con el tiempo de experimentación y la dieta consumida, se colectaron las excretas completas de cada pollo durante las 24 horas que precedieron a cada período experimental (1,2,3,5,7,10 y 15 días) y además del grupo de pollos al que no se aisló ni se le cambió la dieta. A la excreción de ácido úrico de este último grupo se la designó como la excreción del día cero del experimento. Todas las excretas colectadas se secaron a 80°C y al momento del análisis el ácido úrico se extrajo 3 veces con carbonato de litio (68 mM) hirviendo y luego se lo determinó con el método de Liddle et al (17).

Como tanto la actividad de las dos enzimas púricas hepáticas como la concentración de ácido úrico en las excretas depende de la cantidad de nitrógeno catabolizado y este depende tanto de la calidad como de la cantidad de nitrógeno y alimento consumido (9,18), los resultados obtenidos se corrigieron por el nitrógeno consumido ya que el consumo de alimento fue muy diferente entre los pollos que consumieron soya y los que consumieron gelatina.

Los resultados se analizaron estadísticamente como sigue.

Para establecer el efecto del tiempo los resultados obtenidos con la soya o con la gelatina se sometieron a análisis de varianza de una vía y las medias se compararon usando el método de los rangos múltiples de Zunchan (19). Luego para comparar entre las dos proteínas en cada período experimental se aplicó una prueba de t student (20). En todos los casos, el nivel de confianza se fijó al 5%.

RESULTADOS

La Tabla 2 muestra que los pollos que se cambiaron de soya a gelatina perdieron peso a partir del primer día del cambio de dieta, mientras que los pollos que se mantuvieron en la dieta de soya aumentaron progresivamente de peso de manera que al final del experimento habían crecido 105.8 g o en promedio 7.05 g/día. Esta velocidad promedio de crecimiento contrasta con la velocidad de crecimiento calculada para el primer día del experimento, que alcanzó a sólo 1.8 g/día mientras que en los días siguientes los pollos en la dieta de soya crecieron entre 5.0 y 7.1 g/día. Una situación similar se detectó en el caso de los pollos que se cambiaron a gelatina ya que en este grupo, la mayor pérdida de peso se observó también al primer día del cambio (-5.0 g/día) mientras que en los días siguientes esta pérdida fue substancialmente menor y varía entre -0.54 y -1.4 g/día.

La Tabla 2 también muestra que tanto los pollos que permanecieron en la dieta de soya como los que se cambiaron a gelatina aumentaron su consumo de alimento a medida que transcurría el ensayo. Sin embargo, en el caso de los primeros el consumo aumentó 28 veces y estuvo asociado con un aumento substancial de peso, mientras que en los segundos el aumento en consumo fue de sólo 16 veces y estuvo asociado con una pérdida de peso. Además, el consumo de los pollos en la dieta con gelatina fue siempre menor que el de los que consumían soya. Así, durante los primeros tres días del ensayo estos pollos consumieron sólo la mitad del alimento que consumían los pollos en la dieta de soya mientras que en los últimos días su consumo fue solo el 32% del medido en los pollos en la dieta de soya.

La Tabla 2 también muestra que los pollos en la dieta de soya aumentaron progresivamente su nitrógeno corporal de manera que después de quince días lo había cuadruplicado, mientras que los pollos en la dieta de gelatina mantuvieron su reserva corporal constante.

La Tabla 3 muestra que al primer día del experimento la actividad de la xantina deshidrogenasa por gramo de hígado aumentó tanto en los pollos que recibieron la dieta de soya como la de gelatina, pero que este aumento fue más notable y significativo desde el punto de vista estadístico en el caso de los pollos que se cambiaron a gelatina. Luego, a partir de este día, la actividad de esta enzima no fue muy diferente a la medida antes de iniciar el experimento, ni en los pollos que recibieron soya ni en lo que recibieron gelatina.

TABLA 2
CRECIMIENTO, CONSUMO DE ALIMENTO Y NITROGENO CORPORAL EN POLLOS ALIMENTADOS CON SOYA
O GELATINA DURANTE 0, 1, 3, 5, 7, 10 Y 15 DIAS

TIEMPO (días)		0	1	2	3	5	7	10	15
CRECIMIENTO (g)	Soya	0,00	1.8±1.7 ^{ab}	11.6±0.8 ^b	15.0±0.9 ^{bc}	30.6±1.4 ^c	47.5±2.5 ^d	72.1±5.4 ^e	105.8±3.5 ^f
	Gelatina	0,00	-5.0±1.2 ^A	-2.9±0.6 ^{B*}	-2.2±0.6 ^{B*}	-5.3±0.6 ^{BC*}	-6.6±0.9 ^{BC*}	-6.9±1.6 ^{C*}	-8.1±1.3 ^{C*}
CONSUMO (g)	Soya	7.27±0.62 ^a	6.87±1.86 ^a	17.66±1.04 ^{ab}	28.08±1.15 ^b	52.67±2.46 ^c	80.18±4.45 ^d	124.55±7.27 ^e	195.50±2.09 ^f
	Gelatina	7.27±0.63 ^A	3.92±0.67 ^{A*}	8.78±0.90 ^{A*}	14.73±1.94 ^{B*}	18.52±0.62 ^{BC*}	27.53±1.88 ^{C*}	45.53±6.48 ^{D*}	63.07±9.04 ^{E*}
NITROGENO CORPORAL (g)	Soya	1.11±0.03 ^a	1.08±0.05 ^a	1.37±0.04 ^a	1.61±0.03 ^b	2.11±0.07 ^c	2.46±0.12 ^d	3.15±0.20 ^e	4.03±0.16 ^f
	Gelatina	1.11±0.03 ^A	1.04±0.05 ^A	1.19±0.03 ^{A*}	1.15±0.04 ^{A*}	1.16±0.03 ^{A*}	1.16±0.03 ^{A*}	1.11±0.05 ^{A*}	1.02±0.06 ^{A*}

La tabla muestra la media ± error standard de 5 pollos. Las medias que no comparten igual letra en la misma horizontal son significativamente diferentes al 5% y los * representan diferencias significativas entre la soya y la gelatina al 5%

TABLA 3
ACTIVIDAD HEPATICA DE LAS ENZIMAS XANTINA DESHIDROGENASA (XDH) Y NUCLEOSIDO FOSFORILASA (NP) Y EXCRECION
DE ACIDO URICO (AU) EN POLLOS ALIMENTADOS CON SOYA O GELATINA DURANTE 0, 1, 3, 5, 7, 10 Y 15 DIAS

TIEMPO (días)		0	1	2	3	5	7	10	15
XDH Hepática	Soya	30.2±2.3 ^{abc}	43.6±7.1 ^c	36.4±7.3 ^{bc}	20.3±3.2 ^a	20.0±5.7 ^a	25.6±4.1 ^{ab}	30.3±3.1 ^{abc}	38.0±3.85 ^{bc}
	Gelatina	30.2±2.3 ^{ABC}	50.1±7.8 ^D	30.7±4.2 ^C	31.4±5.8 ^C	19.4±3.5 ^A	17.3±1.6 ^A	22.0±4.1 ^{AB}	28.1±7.1 ^{BC}
NP Hepática	Soya	57.2±4.3 ^a	52.2±9.9 ^a	64.3±10.8 ^a	55.3±11.2 ^a	48.9±10.1 ^a	71.5±12.3 ^{ab}	72.1±4.4 ^{ab}	90.7±8.6 ^b
	Gelatina	57.2±4.3 ^A	65.1±10.3 ^A	66.2±6.8 ^A	79.1±13.6 ^A	76.7±7.6 ^A	79.4±7.2 ^A	92.1±12.5 ^{AB}	109.6±12.6 ^A
AU (mg/g excretas)	Soya	1.57±0.12 ^a	1.98±0.23 ^a	1.83±0.22 ^{a*}	1.99±0.33 ^a	1.92±0.16 ^a	2.02±0.21 ^a	2.12±0.24 ^a	1.65±0.15 ^a
	Gelatina	1.57±0.12 ^A	2.84±0.10 ^{CD*}	2.82±0.32 ^{CD*}	3.56±0.21 ^{E*}	2.96±0.17 ^{CD*}	2.98±0.22 ^{CD*}	2.64±0.20 ^{BC*}	2.17±0.32 ^{B*}

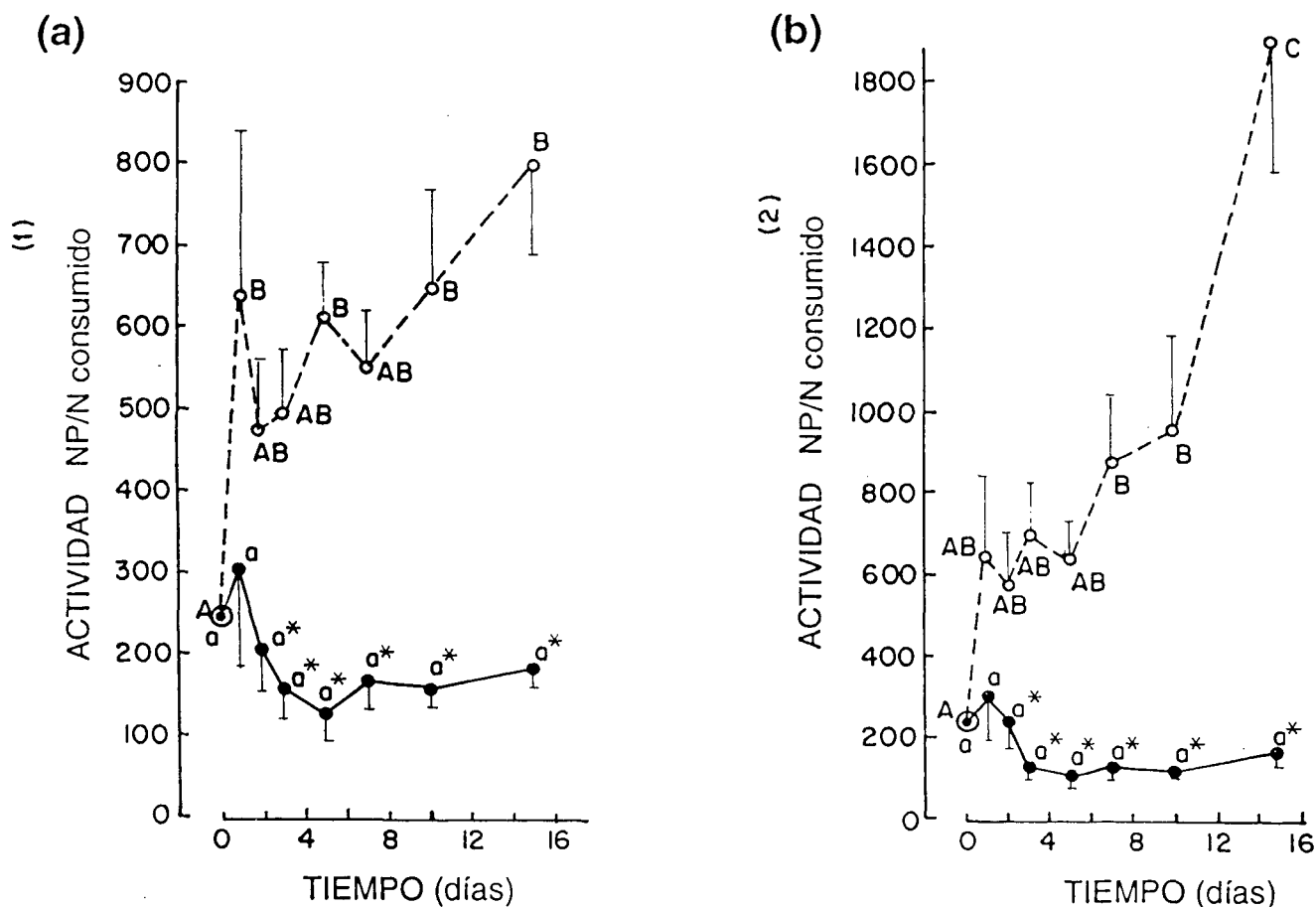
La tabla muestra la media ± error standard de 5 pollos. La actividad de la xantina deshidrogenasa (XDH) está expresada en μ moles NADH/g hígado-hora y la actividad de la nucleósido fosforilasa (NP) está expresada en μ moles ácido úrico/g hígado-hora. Las medias que no comparten igual letra en la misma horizontal son significativamente diferentes al 5% y los * representan diferencias entre la soya y la gelatina al 5%.

La Figura 2a, muestra los cambios registrados en la actividad de la nucleósido fosforilasa corregida por el consumo de nitrógeno en los mismos pollos e indica que la situación fue muy similar a la descrita en el caso de la xantina deshidrogenasa. Así, se detectó un aumento en esta actividad tanto en los pollos que recibieron soya como en los que recibieron gelatina, pero este aumento fue mucho más notable en los últimos. Además, la actividad medida en los grupos que recibieron gelatina fue

siempre mucho mayor que en los grupos que recibieron soya y esta diferencia fue de 2.12, 2.34, 3.11, 4.8, 3.26, 4.11 y 4.35 veces en los días 1, 2, 3, 7, 10 y 15 del estudio respectivamente. En el caso de esta enzima tal como se indicó por la anterior, esta diferencia entre la soya y la gelatina también se observó si en lugar del consumo promedio de los 15 días se usa el consumo de nitrógeno registrado el día anterior a la determinación de la actividad enzimática (Figura 2b).

FIGURA 2

El gráfico de la izquierda (a) muestra la actividad de la nucleósido fosforilasa hepática NP (μ moles ácido úrico/g hígado-hr/g nitrógeno consumido) corregida por el consumo de nitrógeno promedio de los 15 días que duró el experimento. El gráfico de la derecha (b) muestra la actividad de la misma enzima pero corregida por el consumo de nitrógeno correspondiente al día anterior al indicado en el eje x. En ambas figuras los símbolos representan la media de cinco pollos que consumieron soya (\bullet — \bullet) o gelatina (\circ — \circ) durante 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10 y 15 días. Para detalles sobre las anotaciones sobre la figura referirse a la figura 1.

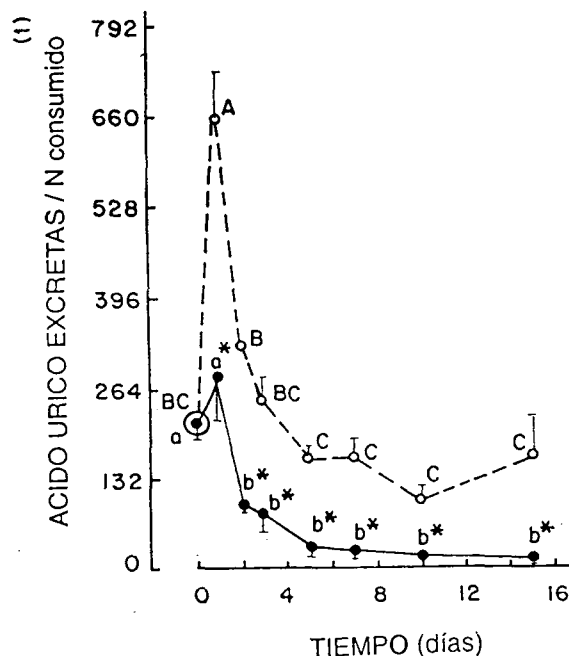


La Figura 3, de acuerdo con los resultados recién descritos, indica que la concentración de ácido úrico en las excretas, corregida por el nitrógeno consumido, aumentó inicialmente para luego disminuir, pero los pollos que recibieron gelatina excretaron siempre más ácido úrico que los que recibieron soya. Esta diferencia en todos los casos fue significativa y notable en magnitud, así, la concentración de este ácido en las excretas de los pollos que recibieron gelatina corregida por el

nitrógeno consumido el mismo día de la colección, fue 2.37, 4.0, 2.97, 4.91, 5.62, 4.75 y 9.02 veces la medida en los pollos que recibieron soya después de 1, 2, 3, 5, 7, 10 y 15 días del cambio de dieta respectivamente. La Figura 3 también indica que las variaciones en la concentración de ácido úrico en la excreta se parecen más a las variaciones en la actividad de la xantina deshidrogenasa que es la enzima que lo genera que las observadas en la nucleósido fosforilasa.

FIGURA 3

Concentración de ácido úrico en las excretas (mg/g excretas/g nitrógeno consumido) en pollos que consumieron soya (•—•) o gelatina (°—°) durante 0, 1, 3, 5, 7, 10 y 15 días. Los valores de ácido úrico se muestran corregidos por el consumo del día inmediatamente anterior al indicado en el eje X. Para detalles sobre las anotaciones sobre la figura referirse a la figura 1.



DISCUSION

El objetivo de este estudio fue determinar el tiempo mínimo necesario para que cambios en la calidad de la proteína dietaria ofrecida a pollos en crecimiento acondicionados por tiempos cortos, produjera alteraciones detectables en la actividad hepática de las enzimas xantina deshidrogenasa, nucleósido fosforilasa y en la producción de ácido úrico.

Lo original de este estudio con relación a otros (10, 12) que demostraron que estas alteraciones se producían muy rápidamente, fue la disminución del período de acondicionamiento de los pollos antes de iniciar el experimento. Así, en este estudio, los pollos se mantuvieron en el laboratorio durante cinco días en grupos de seis pollos por jaula y luego se distribuyeron en jaulas individuales el mismo día en que se inició el estudio. En cambio, en los estudios anteriores, el proceso de aislamiento de los pollos fue gradual, demoró al menos cinco días adicionales y tuvo como objetivo reducir al máximo el trauma que produce en los pollos el aislamiento, ya que se sabe que la actividad de la xantina deshidrogenasa aumenta con el stress (21).

Este cambio en el protocolo experimental orientado a reducir el tiempo de acondicionamiento tuvo como consecuencia que el primer día del experimento, todos los pollos fueron sometidos al trauma del aislamiento y la mitad que

recibió gelatina en lugar de soya, al trauma adicional del cambio de dieta. El impacto de esta situación, se detectó en prácticamente todas las variables que se estudiaron. Así, al primer día del experimento los pollos que recibieron soya, crecieron menos que durante todo el resto del estudio mientras que los que recibieron gelatina, ese día exhibieron la más alta pérdida de peso. Esta situación, también afectó la actividad de las enzimas estudiadas y la excreción de ácido úrico. Así en este experimento a diferencia de los citados (10, 12) durante el primer día se detectó un aumento brusco en la actividad de las dos enzimas estudiadas, así como la excreción de ácido úrico tanto en los pollos que consumían soya como en los que consumían gelatina y que fue más notable cuando se expresaron en función del nitrógeno consumido.

Adicionalmente al efecto del trauma del aislamiento sobre las variables estudiadas, que se visualiza más fácilmente en los pollos que se mantuvieron en la dieta de soya y del cual los animales se recuperaron al cabo de dos o tres días (Figura 1-3) tanto la actividad de las dos enzimas estudiadas corregidas por el nitrógeno consumido como el ácido úrico excretado aumentaron notablemente cuando los pollos consumían gelatina en lugar de soya. Estas diferencias fueron significativas y sustanciales a partir del primer día del experimento y se mantuvieron así durante todo el estudio, indicando que independientemente al efecto del aislamiento tanto la actividad hepática de las enzimas xantina deshidrogenasa, nucleósido fosforilasa o la excreción de ácido úrico resultaron útiles en detectar diferencias en la calidad de la proteína dietaria en un tiempo muy corto (1 día).

Vale la pena destacar que las proteínas que se utilizaron en este estudio son muy diferentes en calidad, ya que la proteína de soya enriquecida con metionina satisface todos los requerimientos de aminoácidos del pollo, mientras que la gelatina carece de triptofano y contiene muy bajas concentraciones de isoleucina, aminoácidos azufrados y aromáticos (22). Por esta razón en el primer caso, una fracción importante de la proteína se usó para sintetizar nuevo tejido (Tabla 2) sin embargo, en el segundo esto no ocurrió, por lo que la proteína consumida fue mayoritariamente catabolizada. Esto explica que las actividades en las enzimas púricas aquí estudiadas fueran mayores y que la excreción de ácido úrico fuera más abundante en los pollos que consumieron gelatina particularmente después de corregir por el nitrógeno consumido. Esta corrección es importante aplicarla ya que estudios anteriores (9) indicaron que tanto las actividades de estas enzimas púricas como la excreción de ácido úrico dependen de la cantidad de proteína catabolizada que en este experimento estuvo asociada por una parte con la calidad de la proteína ofrecida y por otra con el consumo proteico. Este compromiso entre estos dos factores hace que la proteína catabolizada no sea necesariamente mayor en magnitud en los pollos que consumen la proteína de mala calidad, ya que por ejemplo en este estudio los pollos que recibieron la dieta de gelatina a pesar de que no la utilizaron para síntesis la consumieron en una proporción mucho menor que la soya.

Así, para evitar este problema vale la pena calcular la actividad enzimática disponible en el hígado o la cantidad de ácido úrico que se excreta por cada gramo de proteína que se consuma.

Correcciones similares se aplican en los métodos tradicionales para determinar calidad proteica como son la Razón de Eficiencia Proteica o la Utilización Proteica Neta que calculan el crecimiento obtenido o el nitrógeno retenido por unidad de proteína consumida respectivamente, lo que permite uniformar los resultados y aumentar la sensibilidad del método. Esto último se observó en este experimento, ya que el único parámetro que fue diferente sin la corrección por consumo fue la concentración de ácido úrico en la excreta. Es importante indicar que esta corrección tiene un límite tanto en los métodos tradicionales para determinar calidad proteica como en los métodos estudiados aquí, ya que su aplicación pierde vigencia cuando las reducciones de consumo son mayores al 60% (18). Estas consideraciones son particularmente importantes cuando se comparan proteínas de calidades más similares a las que se usaron en este estudio y en cuyo caso una salida para evitar el efecto de las diferencias de consumo que ocurren invariablemente cuando se ofrecen proteínas de mala calidad puede ser la alimentación forzada (23).

Considerados globalmente estos resultados indican que el método estudiado aquí ofrece la posibilidad de detectar diferencias de calidad proteica *in vivo* en un tiempo muy corto de exposición de la proteína problema y con un tiempo de acondicionamiento de duración razonable. Esto es importante porque ofrece una alternativa práctica para la evaluación de nuevas fuentes proteicas en que una de las principales limitaciones es el tamaño de la muestra disponible y para las cuales una evaluación sistemática de su calidad proteica exige la inclusión de ensayos *in vivo* (24).

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado en parte por el Proyecto CONICIT SI-1242. Los autores agradecen a la Magister Diamela Carías por su colaboración en la preparación del manuscrito

REFERENCIAS

1. Sarwar G & F McDonough. Review of quality evaluation methods. Evaluation of protein digestibility corrected amino acid score method for assessing protein quality of foods. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73:347-356, 1990.
2. Estevez A.M, E. Castillo, F. Figuerola & E. Yanez. Effect of processing on some chemical and nutritional characteristics of pre-cooked and dehydrated legumes. Plant Foods Hum. Nutr. 41:193-201, 1991.
3. Sarwar G., R. Blair, M. Friedman, M.R. Gumbmann, L. Hackler P. Pellet & T.K. Smith. Inter and intra-laboratory variability in rat growth assays for estimating protein quality of foods. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67:976-981, 1984.
4. Sarwar G., R. Blair, M. Friedman, M.R. Gumbmann, L. Hackler P. Pellet & T.K. Smith. Comparison of inter-laboratory variation in amino acid analysis and rat growth assays for evaluating protein quality. J. Assoc. Off. Anal. Chem 68:52-56, 1985.
5. FAO/WHO Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation Committee on Protein Quality Evaluation . Bethesda, M.D. 1989.
6. Codex Committee of Vegetable Protein. Working Groups Report for the 5th Session on protein quality measurement. Codex Alimentarius Commission Document Alinor 89/30. FAO Rome Italy 1989.
7. Anderson R.H. Protein quality: Industry needs. Food Technol. 32:65, 1978.
8. Hevia P. & A.J. Clifford. Protein intake, hepatic purine enzymes levels and uric acid production in growing chicks. J. Nutr. 108: 46, 1978.
9. Hevia P. & A.J. Clifford. Protein intake, uric acid metabolism and protein efficiency ratio in growing chicks. J. Nutr. 107:1959, 1977.
10. Millán N., O. Brito & P. Hevia. Purine enzymes and uric acid excretion as indicators of protein quality in chickens fed soy-gelatin mixtures. Nutr. Rep. Int. 30: 1637, 1984.
11. Millán N., O. Brito & P. Hevia. Calidad nutricional de las proteínas de soya y caseína dañadas térmicamente, por un método enzimático. Arch. Lat. Nutr. 34: 708, 1984.
12. Casas C.E., N. Millán, O. Brito & P. Hevia. Oxypurines and purine enzymes as fast markers of dietary protein quality in growing chickens. Nutr. Rep. Int. 30:1637, 1987.
13. Hevia P., O. Brito, A.M. Cioccia & P. Vit. A fast biochemical method for determining protein quality. Italian J. Food Sci. (Especial Issue): 242-245, 1990.
14. Peterson D.W., W.H. Hamilton & A.L. Lilyblade. Hereditary susceptibility of dietary induction of gout in selected lines of chickens. J. Nutr. 101:347, 1971.
15. Trampler J. & S. Angelino. Kinetics and stability of immobilized chicken liver xanthine oxidase. Biotech. Bioeng. 21:1767, 1979.
16. Hevia P., R.H. Shaeffer, D.W. Peterson & A.J. Clifford. Hepatic purine enzyme profiles and uric acid overproduction in muscular dystrophy and in inherited tophaceous gout. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 158:32, 1978.
17. Liddle L., J.E. Seegmiller & L. Laster. The enzymatic spectrophotometric method for the determination of uric acid J. Lab. Clin. Med. 187:605, 1959.
18. Pereira M. A.M. Cioccia, O. Brito & P. Hevia. Protein quality determined at reduced food intakes. Italian J. Food Sci. (Special issue): 264-267, 1990.
19. Duncan D.B. Multiple range and multiple F. Test. Biometric 11:1, 1955.
20. Steel R.G.D. & J.H. Torrie. Principles and Procedures of Statistics. Mc Graw-Hill, New York, NY, 1980.
21. Fisher J.R., W.D. Woodward, D.C. Lee & J. Wu. Regulation of xanthine dehydrogenase and purine nucleoside phosphorylase levels in chicks liver. Adv. Exp. Med. Biol. 41A:65-74, 1971.
22. Orr M.L. & B.K. Watt. Amino acid content of foods. U.S. Department of Agriculture. Home Economics Research Report Nº 4. Washington DC. 1968.
23. Carías D., P. Hevia & A.M. Cioccia. Efecto del consumo de alimento en la predicción de la calidad proteica por un método enzimático. Memorias 1er. Congreso Nacional de Nutriología. Mérida, México. p.64, 1992.
24. Young V.R. & P.L. Pellet. Protein evaluation amino acid scoring and the Food and Drug Administration's proposed food labeling regulations. J. Nutr. 121:145, 1991.

Recibido: 16-12-1992

Aceptado: 18-11-1993