

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA  
INCORPORADA A LA U.N.A.M.  
ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

DETERMINACION DEL VALOR BIOLOGICO DE ALGUNAS  
PROTEINAS POR EL METODO DE BENDER Y DOELL.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
DOLORES GUERRA ALVAREZ

México, D. F.  
1963



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MI PADRE:  
EL ING. CESAR J. GUERRA R.  
A QUIEN DEBO DESPUES DE DIOS  
LO QUE SOY, ASEGURANDOLE --  
QUE NUNCA LO DEFRAUDARE .  
CON PROFUNDO AMOR Y GRATI--  
TUD.

A AQUELLA. QUE CON VERDA  
DERO AMOR, ME ENSEÑO LOS  
PRIMEROS PASOS EN LA VIDA.  
A MI MADRE,  
CON CARINO Y GRATITUD.

A MAMA GRANDE:  
LA SRA. DOLORES HERNANDEZ DE ALVAREZ  
CON PROFUNDA VENERACION.

A MIS HERMANOS:  
MA. DEL REFUGIO, LUZ MARIA  
CESAR JAVIER, MA. ESPERAN--  
ZA, MA. CAROLINA, MARGARI-  
TA Y CARLOS.

A MI NOVIO :  
EL ING. JUAN MANUEL  
HERRERA B.  
EN QUIEN HE ENCONTRADO  
APOYO Y ALIENTO,  
CON CARIÑO.

AL SR. DN. LUIS VERA S. J.  
CON AFECTO Y PROFUNDA -  
GRATITUD.

AL SR. DR.  
MARCELO IZAGUIRRE S. J.  
DIRECTOR DE LA ESCUELA DE  
CIENCIAS QUIMICAS ( U. I. A. ) .  
CON AFECTO Y PROFUNDA GRA  
TITUD.

A MIS MAESTROS:  
QUIENES CON VERDADERA VOCACION  
ME ENSEÑARON EL AMOR A LA VERDAD  
CON PROFUNDA GRATITUD.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS  
FRATERNALMENTE.

CON GRATITUD:  
AL SR. Q. F. B.  
MANUEL GARMILLA.  
POR SUS DESINTERESADOS Y  
VALIOSOS CONSEJOS EN LA -  
ELABORACION DE ESTA .

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION, (DEPARTAMENTO DE - BIOQUIMICA), GRACIAS A LAS FACILIDADES OTORGADAS POR EL DOCTOR SALVADOR ZUBIRAN, DIRECTOR DEL INSTITUTO, Y EL DOCTOR GUILLERMO SOBERON, JEFE DEL DEPARTAMENTO, A QUIENES HAGO PATENTE MI AGRADECIMIENTO, ASI COMO AL PERSONAL DEL MISMO.

## CONTENIDO

INTRODUCCION

ANTECEDENTES

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

## INTRODUCCION

Uno de los principales problemas relacionados con los estudios nutricionales es la valoración de las proteínas.

Es del conocimiento general, que una alimentación es incompleta, si en la dieta no se incluyen ciertas proteínas, pero no todas las proteínas nos sirven de la misma manera que la síntesis de las proteínas corporales. De esta manera se distinguen las proteínas de buena calidad o completas, que generalmente son proteínas de origen animal, y las proteínas incompletas o de mala calidad, que son las de origen vegetal.

Esta diferencia radica, en que las proteínas están formadas por varios aminoácidos, algunos de los cuales son esenciales para el organismo humano, -- el cual por no poder sintetizarlos necesita que le sean suministrados en la alimentación.

Si falta uno o varios aminoácidos esenciales en la dieta, los otros aminoácidos no son aprovechados, y al no poderse formar la molécula proteínica, éstos son degradados en el organismo, y el nitrógeno se elimina en forma de urea.

El aprovechamiento de las proteínas abarca también otros problemas, relacionados con la digestibilidad, como la ingestión de una dieta adecuada en calorías, para evitar que la proteína sea usada como fuente de energía.

Por esta razón, el término valor biológico, aplicado a las proteínas, comprende tanto el concepto de digestibilidad como el de la composición de aminoácidos.

La digestibilidad es la relación que existe entre la proteína ingerida y la proteína absorbida (1) (12).

## ANTECEDENTES.

La valoración de proteínas en las dietas data de 1919 con los estudios efectuados por Osborne (2), a partir de esta fecha, se han estado haciendo numerosas investigaciones, las cuales se pueden agrupar en tres procesos generales.

### I) Métodos químicos

Basados en el análisis cualitativo y cuantitativo de los aminoácidos esenciales de que consta la proteína, comparando los resultados con una proteína tipo, que para estos casos es la proteína del huevo completo (3).

### II) Métodos biológicos

En estos métodos se usan dietas previamente establecidas para distintos animales de laboratorio. Generalmente se usan ratas, por ser animales accesibles, de metabolismo elevado, y de requerimientos de aminoácidos esenciales muy semejantes al hombre. (4)

### III) Métodos microbiológicos

En estos métodos se observa el crecimiento en hidrolisados de proteínas, de ciertos microorganismos, de los cuales se conoce su requerimiento de aminoácidos esenciales.

Como uno de los métodos biológicos constituye este trabajo, es necesario explicar el origen de los resultados aquí obtenidos.

Los métodos biológicos se pueden subdividir de la siguiente manera, según el criterio empleado.

#### A) Criterio del reabastecimiento

En estos métodos, se emplea el reabastecimiento en ratas adultas previamente agotadas por una dieta pobre o libre de proteínas. El experimento se ha--

sa en que un adulto, en condiciones normales, excreta una cantidad de nitrógeno casi igual al nitrógeno ingerido, mientras que en dietas pobres en proteínas la cantidad de nitrógeno excretado es mayor que el ingerido, por que procede del catabolismo tisular (5).

#### B) Criterio del crecimiento promovido

En este método se usan ratas jóvenes y se mide el crecimiento promovido en un tiempo determinado. Este método se basa en que la necesidad de proteína es mayor en el crecimiento, para la formación de nuevos tejidos.

El método empleado en esta tesis, se puede considerar como una combinación de los dos criterios anteriores. Se toma en cuenta, tanto el crecimiento promovido como el balance nitrogenado.

Los términos usados tienen su origen en los trabajos realizados por distintos investigadores.

La relación de eficiencia proteínica (PER) fue usado por primera vez por Mitchell en 1924. Más tarde se empleó "La utilización de proteína neta" -- (NPU) y "La relación de proteína neta" (NPR), pero fue Bender en 1955, quien en el mismo experimento comparó los términos anteriores (7).

## MATERIAL Y METODOS

Para el experimento se usaron 30 ratas machos de raza Wister de 28-30 días de edad.

Se colocaron en jaulas individuales en grupos de 6 ratas, cada uno de los grupos recibió una dieta determinada, en la cual la fuente de aminoácidos provenía únicamente de una proteína conocida.

Uno de los grupos recibió una dieta base libre de proteínas.

El aumento de peso de las ratas, así como el alimento ingerido, fueron anotados diariamente, durante 10 días que duró el experimento (8), al final de los cuales los animales fueron sacrificados para efectuar en ellos las determinaciones de agua, grasa y nitrógeno (9).

Las dietas fueron elaboradas de acuerdo con la siguiente fórmula base:

### DIETA SIN PROTEINAS

Sales IV	40 g
Yoduro de potasio	32 mg
Colina	1 g
Acete de maíz	50 g
Celulosa	40 g
Vitamina D	40 mg
Vitamina A	20 mg
Mezcla de vitaminas	1 g
Almidón	868 g

En las dietas con proteínas se procedió a suplir una parte del almidón, por el alimento proteínico en estudio de tal manera que la concentración de proteína quedará en el alimento al 10% (6).

Contenido de las sales IV para 2 Kg de sales.

Carbonato de calcio	600 g
Fosfato dipotásico	645 g
Fosfato ácido de calcio	150 g
Cloruro de sodio	334 g
Cloruro de hierro	337 g
Sulfato de magnesio	204 g
Sulfato de manganeso	9 g
Yoduro de potasio	1.6 g
Cloruro de zinc	0.5 g
Sulfato de cobre	0.6 g

Mezcla de vitaminas

( Para 10 Kg. de alimento ) ( 14 ).

Pantotenato de calcio	600 mg
Inositol	300 mg
Niacina	300 mg
Menadiona	120 mg
Riboflavina	90 mg
Tiamina	180 mg
Prídoxina	75 mg
Biotina	3 mg
Acido fólico	6 mg
Vitamina B <sub>12</sub>	3.3 mg
Almidón (Excipiente)	28.026 g

Una vez llegado el término de la alimentación, las ratas fueron sacrificadas, abiertas en canal y despojadas de su aparato digestivo, procurando no perder sangre.

Fueron llevadas a la estufa, en donde permanecieron hasta peso constante a temperatura de 100-110° C.

La extracción de grasa se efectuó en Soxhlet, usando éter etílico anhidro. Las ratas se colocaron, previamente desmenuzadas, en cartuchos de papel filtro. El resultado se expresa en gramos de grasa por rata.

## Nitrógeno

La determinación de nitrógeno se hizo por el método de Kjeldahl, llevando a cabo la digestión con la rata entera, usando 120 ml. de ácido sulfúrico q. p. 5g de sulfato de cobre y 20 g de sulfato de sodio anhidro.

Una vez terminada la digestión, los cristales de sulfato de amonio se disolvieron en agua destilada, agregando el contenido a 1000 ml.

La destilación se llevó a cabo sobre una parte alícuota de 250 ml. para la cual se añadieron 50 ml. de solución de hidróxido de sodio al 40% y cinc en polvo como catalizador.

Los vapores de amoníaco se recibieron en solución de ácido bórico al 4% con el cual forma un complejo, que se observa por el viraje del indicador de Tashito, del morado al verde.

El álcali presente en la solución se titula con solución de ácido sulfúrico 0.1N. El volumen gastado en la titulación en mililitros, multiplicado por la normalidad de la solución, y por el miliequivalente del nitrógeno y relacionados a 1000 ml, dan el resultado, que se expresa en gramos de nitrógeno por rata.

Para expresar el resultado en gramos de proteína por rata, se multiplican los gramos de nitrógeno presentes por el factor 6.25.

## ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE LOS ALIMENTOS PROTEINICOS USADOS EN EL EXPERIMENTO.

### LECHE I

Es una leche de vaca natural, entera y deshidratada con 24.93% de proteína.

### LECHE II

Leche desgrasada con 31% de proteínas y deshidratada.

### MEZCLA VEGETAL IX

Alimento hecho a base de harina de maíz, harina de maicillo o sorgo, harina de semilla de algodón y levadura torula enriquecida con vitaminas y minerales con un contenido de 23.37% de proteína (11).

**ZEINA**

Es la principal proteína del maíz. su contenido en lisina y triptofano se considera nulo. Contiene 89.3 % de proteína.

## RESULTADOS.

Los resultados obtenidos se encontraron de acuerdo con las fórmulas siguientes. (6)

Relación de eficiencia proteínica.

$$\text{PER} = \frac{\text{Aumento de peso en el grupo de ratas Problema}}{\text{Gramos de proteína ingerida.}}$$

Utilización de proteína neta.

$$\text{NPU} = \frac{\text{Nitrógeno de la rata problema} - \text{Nitrógeno del grupo sin proteínas} - \text{Nitrógeno de la dieta libre de proteínas.}}{\text{Nitrógeno total de la dieta ingerida.}}$$

Relación de proteína neta

$$\text{NPR} = \frac{\text{Aumento de peso en la rata problema} \div \text{pérdida de peso del grupo sin proteínas.}}{\text{Proteína ingerida}}$$

Eficiencia de retención proteínica.

$$\text{PRE} = \text{Relación de proteína neta (NPR)} \cdot 10$$

La interpretación de los datos experimentales se hizo según el siguiente método estadístico (11)

- 1.- Determinación del promedio aritmético (M) de acuerdo con la fórmula

$$M = \frac{\sum (x)}{n}$$

donde  $\sum (x)$  es la suma de los valores encontrados y  $(n)$  es el número de ratas usadas en el experimento.

- 2.- Determinación de la desviación estándar o desviación media cuadrática (D. S.) empleando la siguiente fórmula

$$D. S. = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n}}$$

en donde " $x$ " es una determinación, " $\bar{x}$ " es el promedio, " $n$ " es el número de ratas usadas en el experimento.

Cuando el número de ratas es menor de 30, como en este caso, la fórmula queda

$$D. S. = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

- 3.- La determinación del error estándar (E. S.) de acuerdo con la siguiente fórmula

$$E. S. = \frac{\text{Desviación estándar}}{\sqrt{n - 1}}$$

Alimento ingerido por cada uno de los grupos de ratas.

Grupo

1  
2

Alimento ingerido

Dieta sin proteínas  
Dieta de leche 1

3	Dieta de leche II
4	Dieta de mezcla vegetal IX
5	Dieta de zeína

T A B L A No. 1

Resultados obtenidos al finalizar los diez días de alimentación.

Grupo	Aumento de peso. g	Alimento ingerido. g	Nitrógeno ingerido. g	Proteína ingerida. g
1	14	76.5	0	0
2	20	100.0	1.62	10.15
3	21	96.5	1.73	10.85
4	30	128.4	2.33	14.59
5	9	71.6	1.18	7.42

T A B L A No. 2

Grupo	Agua. g	Grasa. g	Nitrógeno. g	Proteína. g
1	24.1	1.6	1.103	6.89
2	46.0	5.0	2.064	12.88
3	45.6	6.2	2.006	12.53
4	45.8	10.3	1.915	12.21
5	27.8	3.1	1.253	7.83

T A B L A No. 3

Resultados obtenidos tomando en cuenta el peso corporal con toda la grasa formada.

Grupo	Relación de proteína neta N. P. R.	Desviación estándar D. S.	Error estándar E. S.
2	3.34	± 0.397	± 0.228
3	3.22	± 0.327	± 0.187
4	3.01	± 0.495	± 0.247
5	0.67	± 0.794	± 0.397

Ver Cuadro No. 5

T A B L A No. 4

Resultados obtenidos tomando en cuenta el peso corporal con toda la grasa formada.

Grupo	Relación de eficiencia proteínica	Desviación estándar	Error estándar
	P. E. R.	D. S.	E. S.
2	1.97	± 0.442	± 0.254
3	1.93	± 0.460	± 0.264
4	2.05	± 0.550	± 0.275
5	- 1.21	± 0.644	± 0.322

Ver Cuadro No. 6

T A B L A NO. 5

Resultados obtenidos restando los gramos de grasa formados del peso corporal de cada rata.

Grupo	Relación de proteína neta.	Desviación	Error estándar
	N. P. R.	D. S.	E. S.
2	2.76	± 0.52	± 0.303
3	2.66	± 0.81	± 0.465
4	2.309	± 0.68	± 0.343
5	0.229	± 0.48	± 0.24

Ver Cuadro No. 4

T A B L A No. 6

Resultados restando los gramos de grasa del peso corporal.

Grupo	Relación de eficiencia Proteínica.	Desviación estándar	Error estándar
	P. E. R.	D. S.	E. S.
2	1.487	± 0.35	± 0.201
3	1.334	± 0.35	± 0.205
4	1.350	± 0.36	± 0.183
5	- 1.687	± 0.37	± 0.188

Ver Cuadro No. 7

T A B L A No. 7

Resultados de utilización de proteína neta. Como en este resultado no interviene el criterio de aumento de peso, no se hace corrección a la grasa formada.

Grupo	Utilización de	Desviación	Error Estándar.
	Proteína neta	estándar	
	N. P. U.	D. S.	E. S.
2	0.591	± 0.117	± 0.067
3	0.526	± 0.137	± 0.078
4	0.348	± 0.426	± 0.213
5	0.127	± 0.106	± 0.053

Ver Cuadro No. 1

T A B L A No. 8

Resultados de % de retención proteínica tomando en cuenta el peso corporal con toda la grasa formada.

Grupo	Eficiencia de re-	Desviación	Error Estándar
	tención proteínica	estándar	
	P. R. E.	D. S.	E. S.
2	51.44	± 5.75	± 3.3
3	51.52	± 6.55	± 3.76
4	48.16	± 5.29	± 2.64
5	10.72	± 10.92	± 5.46

Ver Cuadro No. 3

T A B L A No. 9

Resultados obtenidos restando los gramos de grasa formados del peso corporal de cada rata.

Grupo	Eficiencia de retención proteínica.	Desviación estándar.	Error estándar.
	P. R. E.	D. S.	E. S.
2	44.16	± 18.6	± 10.6
3	42.56	± 12.9	± 7.4
4	36.94	± 11	± 5.5
5	33.36	± 18.9	± 9.2

Ver Cuadro No. 2

## CONCLUSIONES.

Al verificar el experimento se vio que un alimento que tienda a aumentar la producción de grasa en el organismo, daría valores falsos en las relaciones proteínicas ya mencionadas ya que en ellas interviene el criterio de aumento de peso.

Esto se ve en el caso de la mezcla vegetal IX, en la cual la grasa producida es bastante notable, obteniéndose un valor igual al de la leche, sin embargo al restar la grasa formada del aumento de peso, se nota la diferencia en la calidad de la proteína.

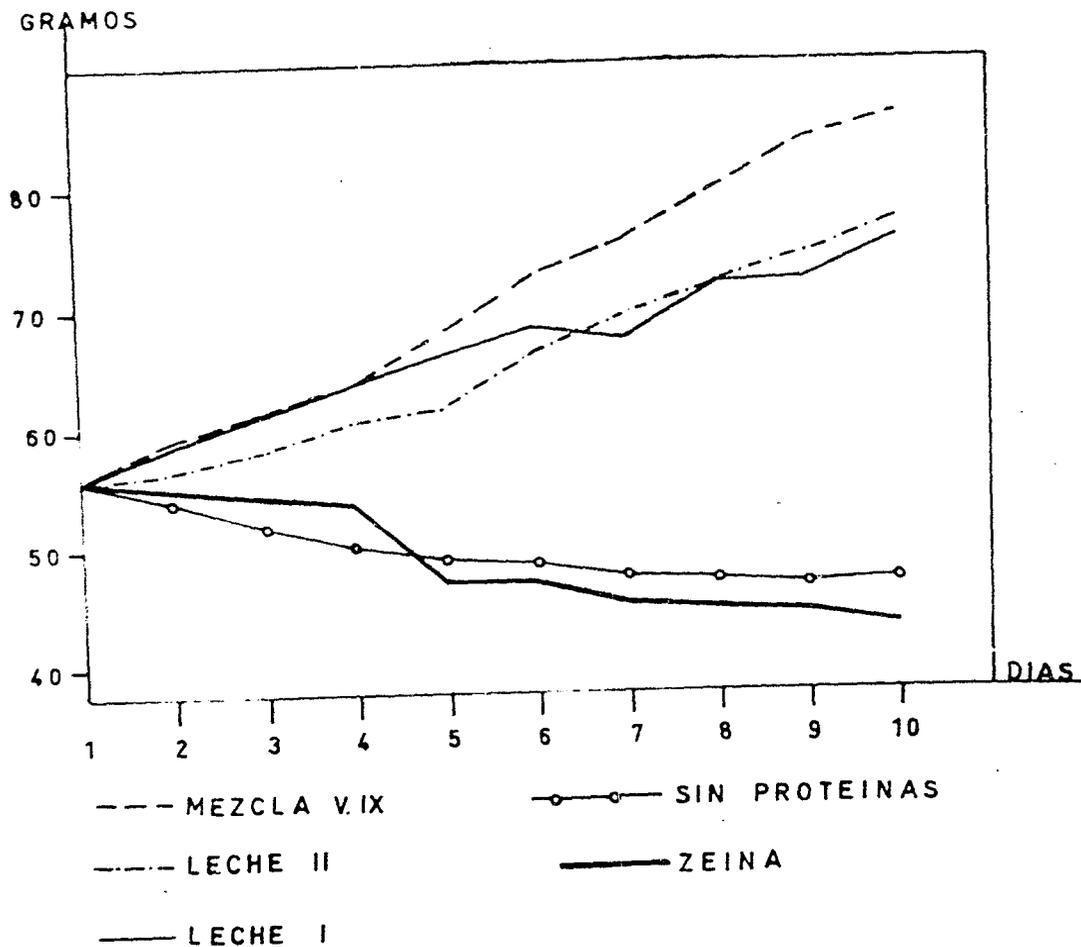
Por esta razón se sugiere que siempre se corrija la cantidad de grasa para obtener un valor más cercano a la realidad.

El método usado es bastante rápido y se eliminan las dificultades de algunos otros, como en los métodos de balance nitrogenado.

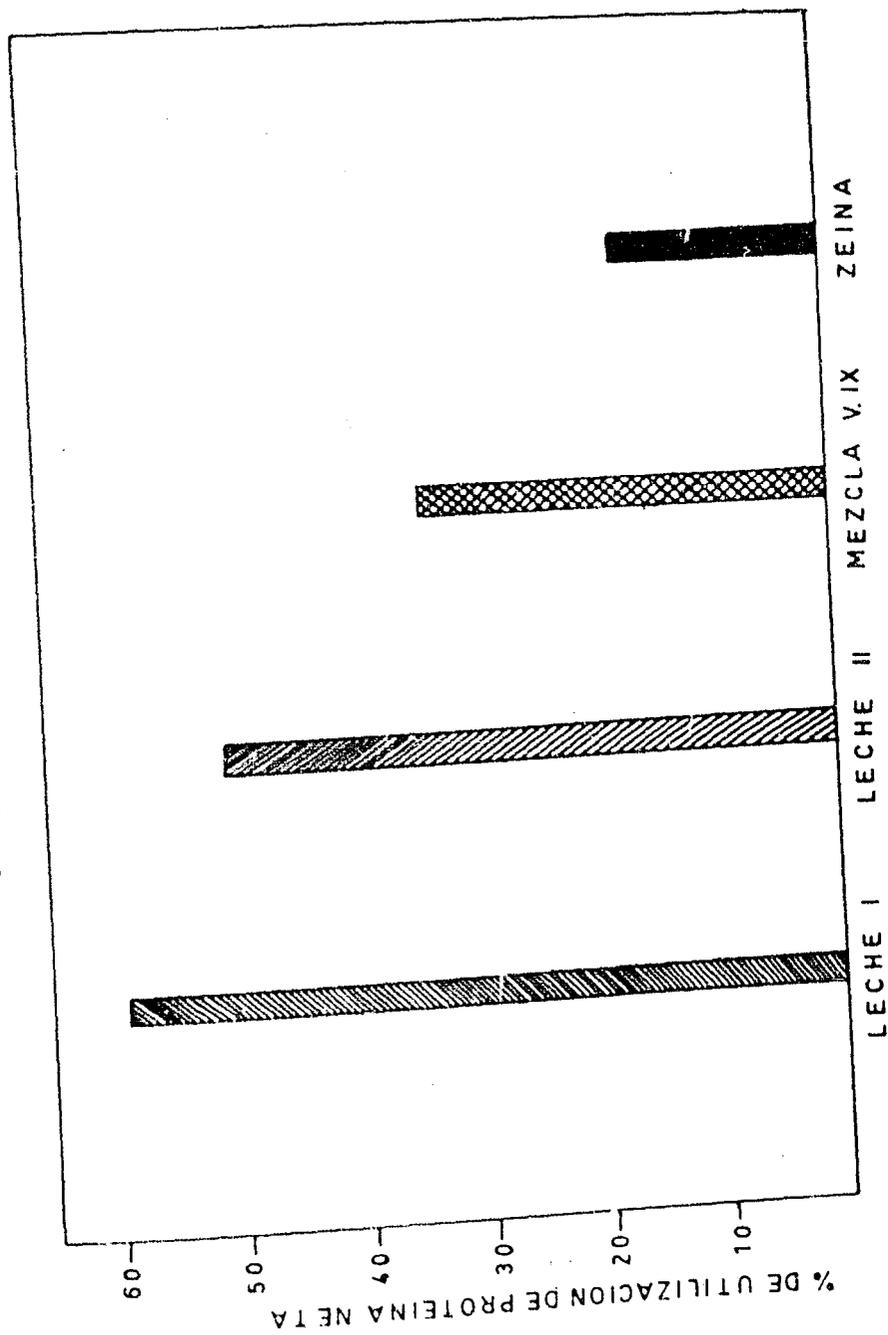
Por los resultados obtenidos se nota la gran diferencia que existe entre una proteína completa con sus aminoácidos esenciales en buena proporción y otra proteína incompleta, siendo la diferencia muy notable, tal es el caso de la zeína y la proteína de la leche, según se puede ver en los datos anteriores.

El método investigado puede usarse como un criterio para juzgar la calidad de una proteína, resultando una buena diferenciación, cosa que no se logra con otros métodos.

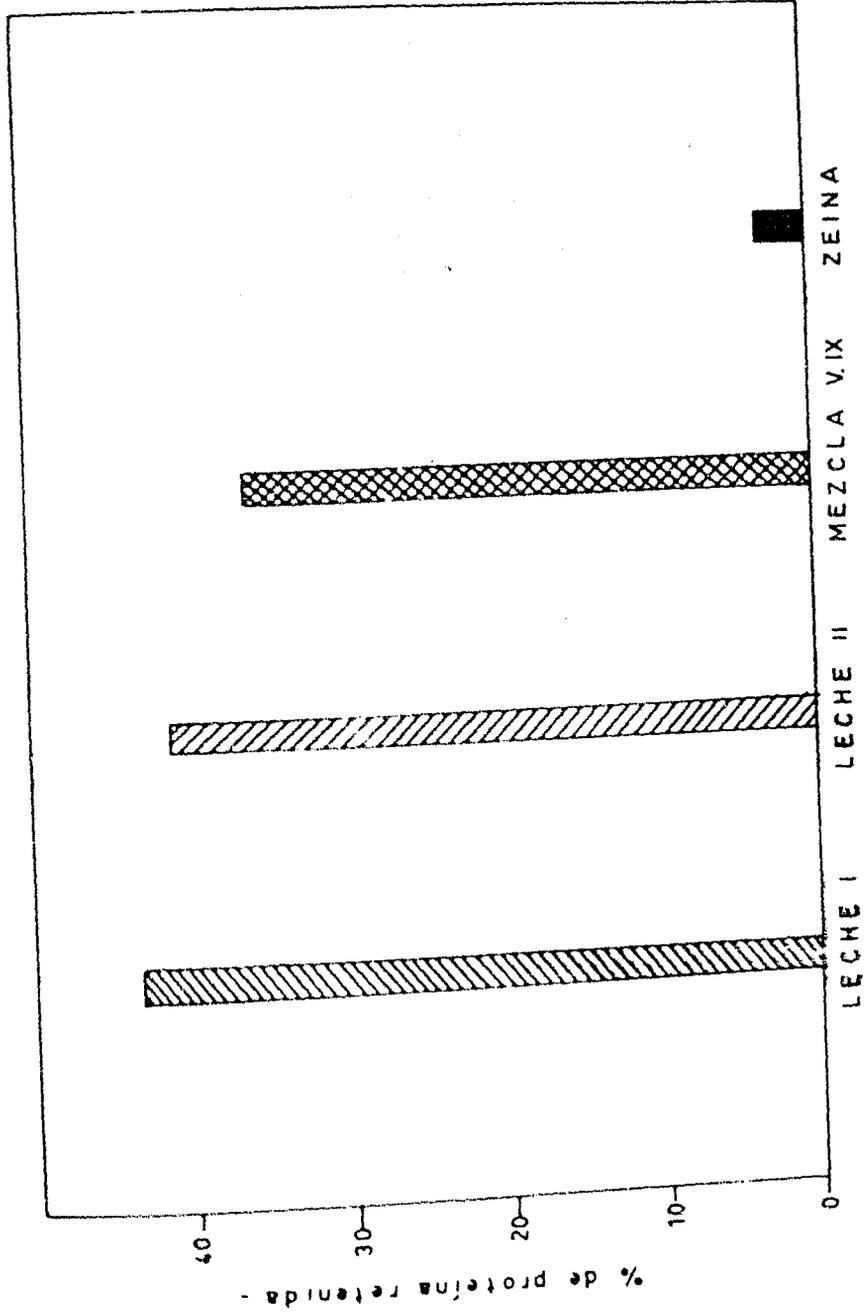
# CRECIMIENTO DE LAS RATAS EN EL TRANCURSO DEL EXPERIMENTO



UTILIZACION DE PROTEINA NETA.-

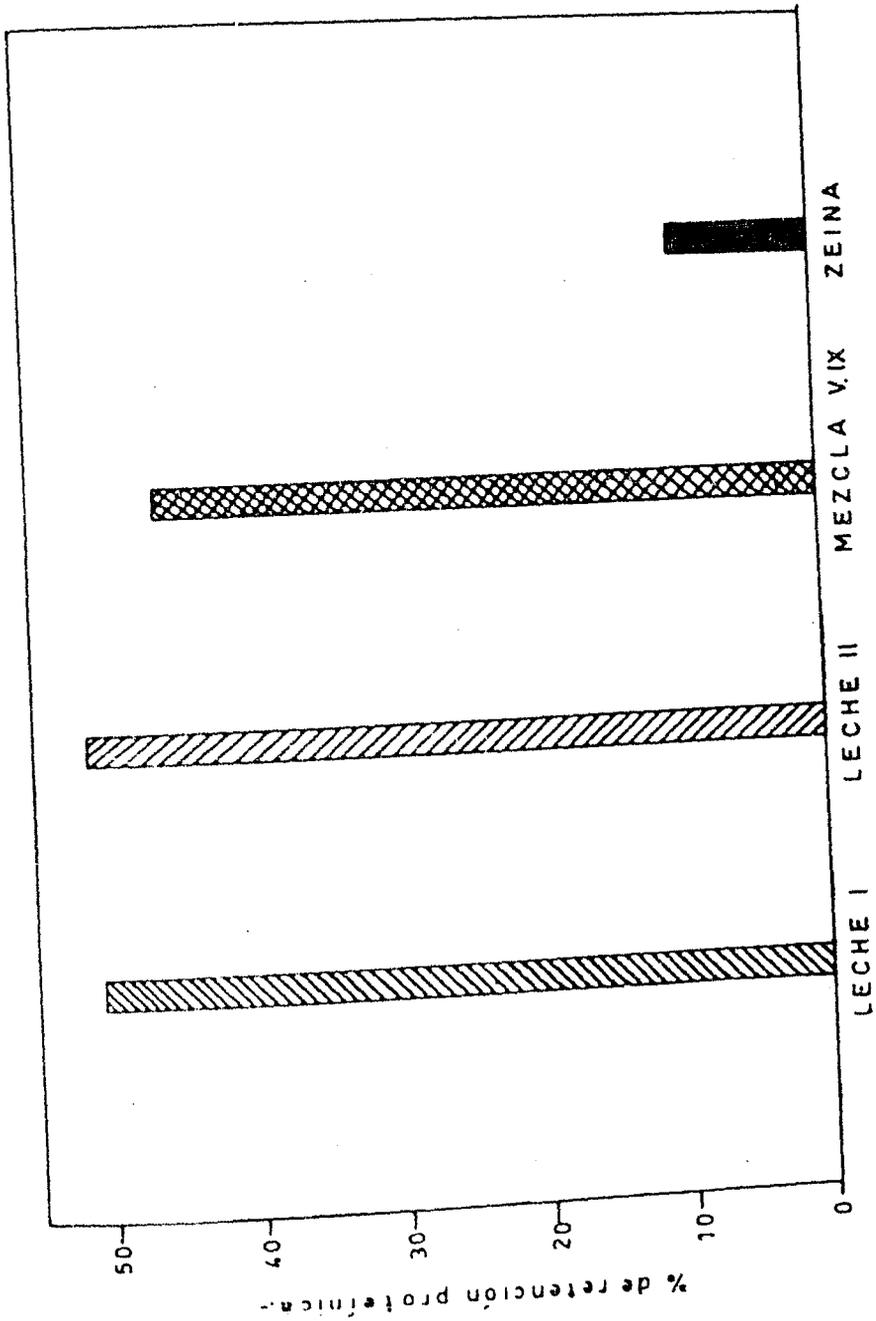


EFICIENCIA DE RETENCION PROTEINICA SIN GRASA.



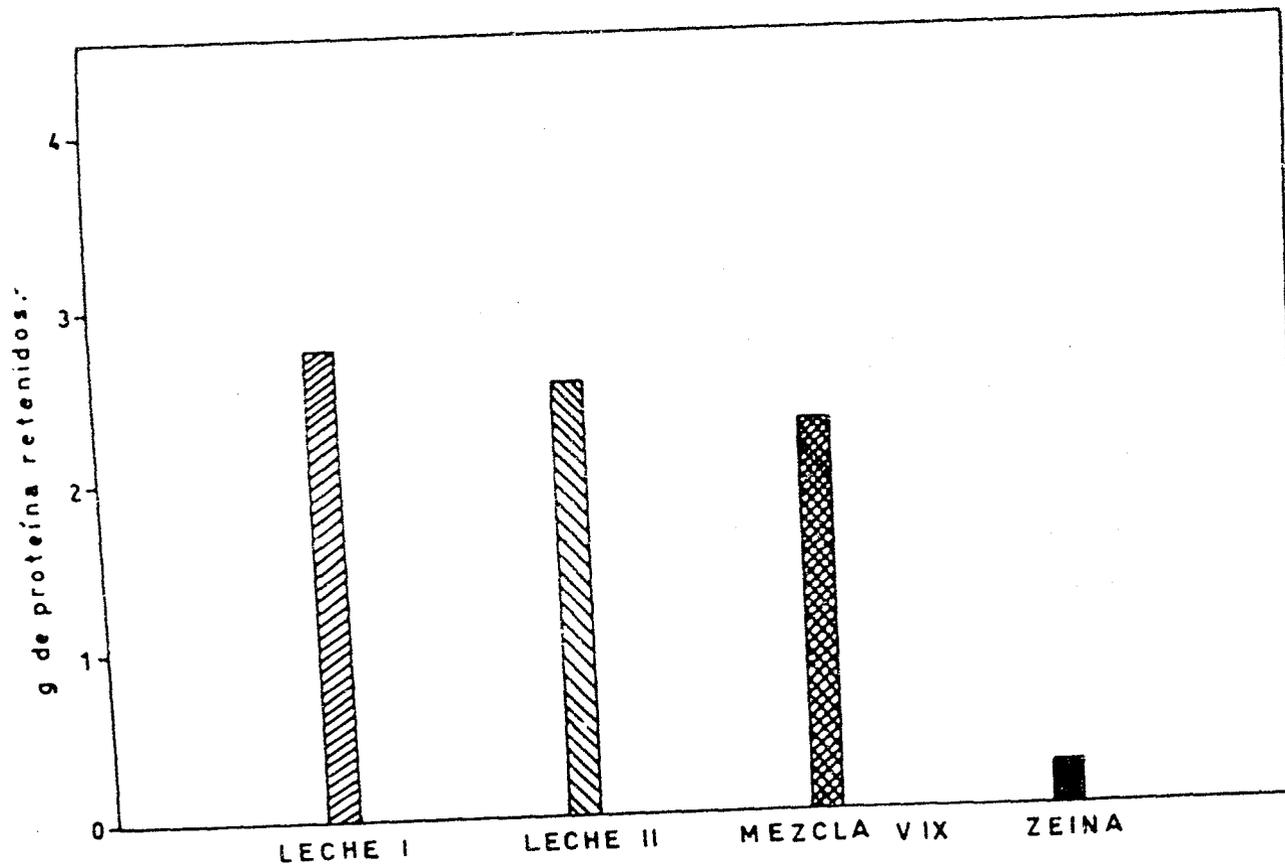
CUADRO # 2

EFICIENCIA DE RETENCION PROTEICA CONGRASA



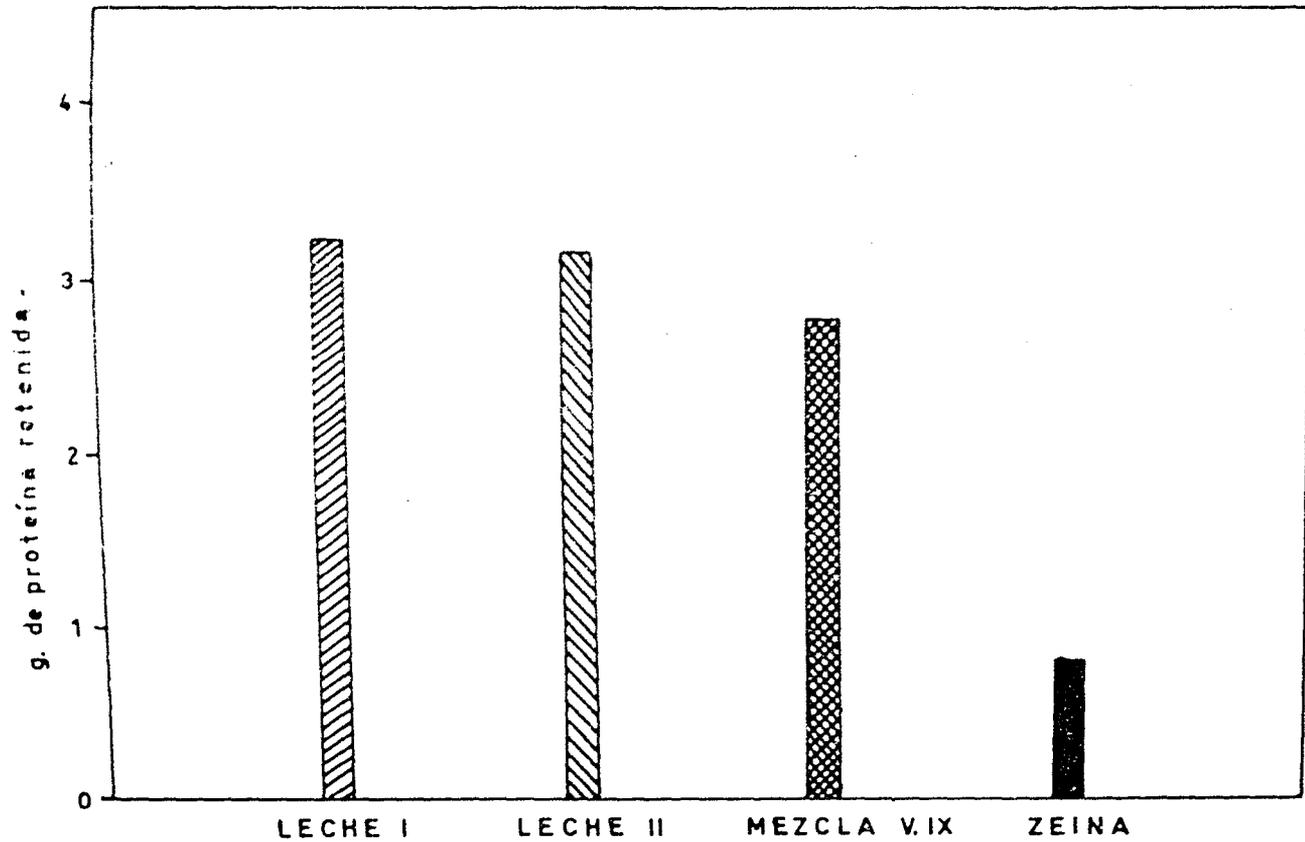
CUADRO # 3

# RELACION DE PROTEINA NETA SIN GRASA.-



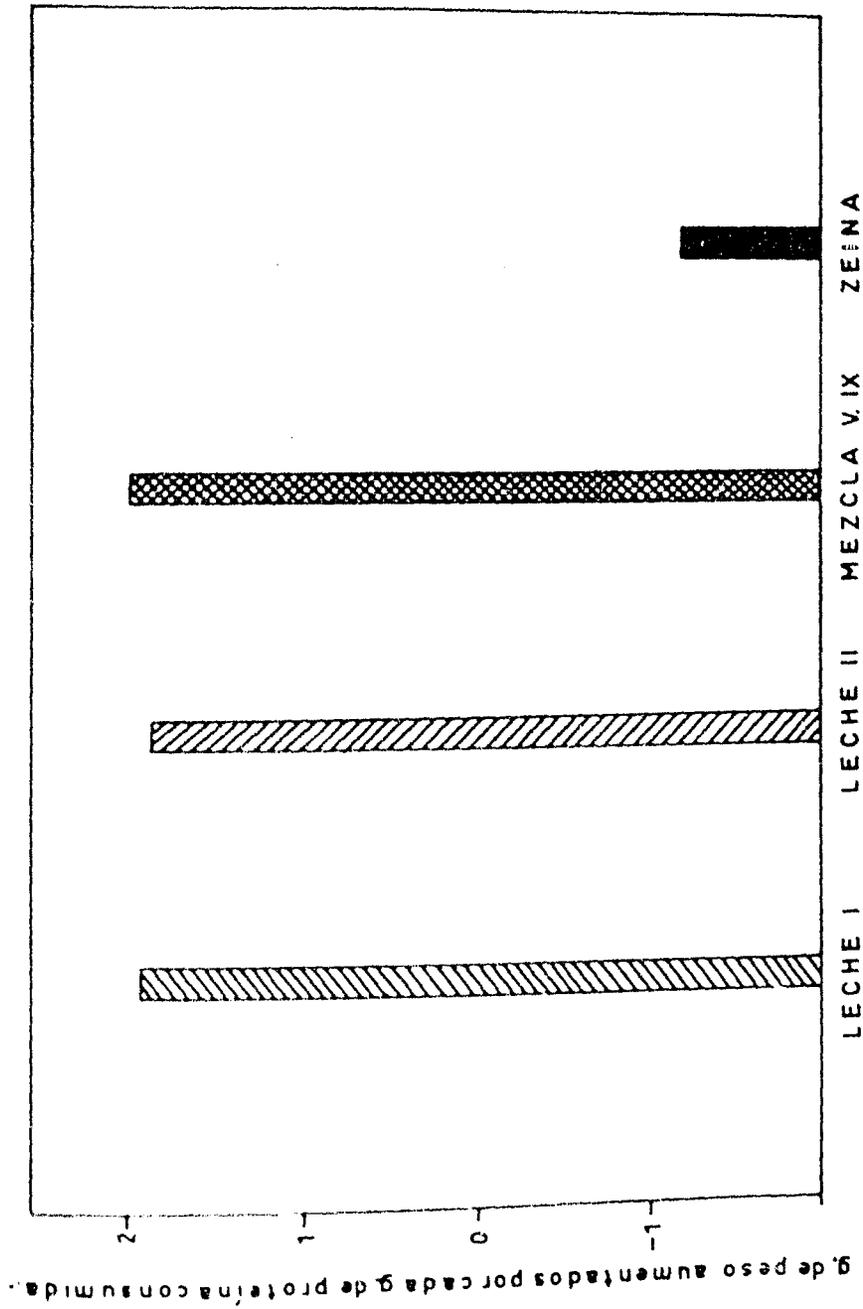
CUADRO # 4

RELACION DE PROTEINA NETA CON GRASA.-



CUADRO # 5

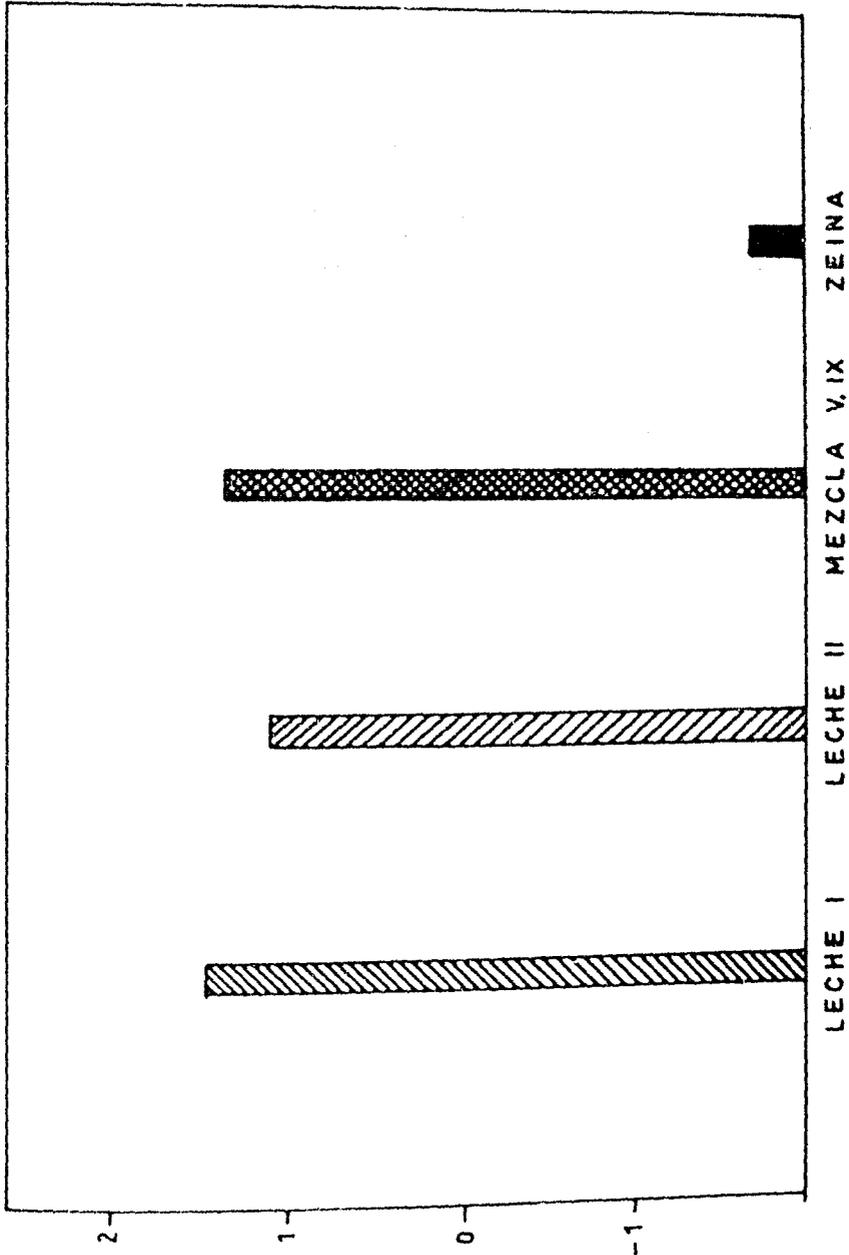
RELACION DE EFICIENCIA PROTEINICA CON GRASA.-



CUADRO # 6

RELACION DE EFICIENCIA PROTEINICA SIN GRASA.-

g. de peso aumentados por cada g. de proteína consumida.



CUADRO # 7

## BIBLIOGRAFIA

- 1).- José Laguna. - Bioquímica. Prensa Médica Mexicana.  
1a. Edición. México. 1960.
- 2).- Osborne, T. B. Mendel, L. B. y Ferry, E. L.  
A Method of expressing numerically the growth promoting value  
of protein.
- 3).- Block, R. J. y Mitchell, H. H.  
The correlation of the aminoacid composition of proteins  
with their nutritive value.  
Natr. Abs. Reva. 16, 249 (1946 - 47)
- 4).- Rose W. G., Wixon R. L., Lockhart H. B. y Lambert G. J.  
The aminoacids requirements of man.  
"J. Biol. Chem. 217, 978 (1955).
- 5).- Allison J. B. Biological evaluation of proteins.  
Physiol. Rev. 35, 664-700, 1955
- 6).- Nutrition Document RIO/ Add 37  
WHO/ FAO/ UNICEF - PAG.  
Methodology of protein evaluation  
June 1961. Nueva York
- 7).- Mitchell, H. H. The net protein value of feeds and food  
materials. Amer. Soc. Animal Prod., 55, 1923
- 8).- Bender A. E. Brit. J. of Nutr. 10, 135, 1956.
- 9).- Bender A. E. y Doell B. H.  
A new aspect of the biological evaluation of proteins.  
Brit. J. of Nutr. 11, 140, 1957.
- 10).- E. J. Bigwood. "Nutritio et Dieta", 1962. Bélgica
- 11).- Instituto de Centro América y Panamá.  
"Informe sobre el desarrollo y utilización de la Incaparina"  
(Monografía) Incap. 1 - 88. Guatemala C. A. (1961).

- 12). - Norman Jolliffe M. D.  
Clinical Nutrition. 2a. Edition.
- 13). - Blaedel H. Quantitative Analysis
- 14). - Official Methods of Analysis of the Association of  
Official Agriculture Chemists. 9a. Edition 1960.