



8
24 300627

UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA

INCORPORADA A LA U. N. A. M.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**ESTUDIO DE LA CALIDAD DE LA PROTEINA
DE QUESOS COMERCIALES COMPARADOS
CON UN PATRON DE CASEINA**

T E S I S P R O F E S I O N A L
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
JUAN IGNACIO CORUJO MARTINEZ

DIRECTOR DE TESIS:
Q. IRENE MONTALVO



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

• INDICE •

-- Capt. I :	INTRODUCCION	Pag. 3
-- Capt. II :	OBJETIVOS	Pag. 5
-- Capt. III :	GENERALIDADES:	
	1.- Metabolismo de proteínas en el hombre	Pag. 9
	2.- Metabolismo de proteínas en ratas	Pag. 14
	3.- Calidad Proteica	Pag. 28
	4.- Métodos biológicos para determinar la calidad proteica	Pag. 31
	5.- Elaboración de quesos	Pag. 50
-- Capt. IV :	METODOLOGIA	Pag. 58
-- Capt. V :	RESULTADOS Y DISCUSION	Pag. 62
-- Capt. VI :	CONCLUSIONES	Pag. 75
-- ANEXO 1 :	Análisis Químico Proximal	Pag. 77
-- ANEXO 2 :	Lista de Cuadros y Figuras	Pag. 81
-- Capt. VII :	Bibliografía	Pag. 82.

* 1.- INTRODUCCION *

La calidad de las proteínas se refiere a la cantidad de aminoácidos esenciales (isoleucina, treonina, lisina, metionina, valina, fenilalanina, triptofano, histidina y argenina) que contienen en relación con la que se necesita en la formación de tejido nuevo. Por ello, la calidad de una proteína depende fundamentalmente de dos factores: 1) su digestibilidad o la eficacia con que es degradada y se hace utilizable para la absorción y, 2) el contenido de aminoácidos esenciales en esa proteína.

Las proteínas de origen animal suelen ser de mejor calidad que las de origen vegetal. Se les llama "proteínas completas" por incluir la cantidad suficiente de todos los aminoácidos esenciales. Ejemplos: carnes, aves de corral, pescados, huevos, leche y queso.

La mayoría de las proteínas de origen vegetal no aportan suficiente cantidad de uno o varios aminoácidos esenciales, de ahí su designación de "proteínas incompletas".

Los métodos de evaluación de la calidad de proteínas suelen ser biológicos, puesto que es la capacidad de ellas para sostener el crecimiento y mantenimiento lo que determina su valor definitivo. Los principales métodos biológicos son los siguientes:

- a) Relación de la eficiencia proteica (PER).
- b) Digestibilidad (D).
- c) Balance de Nitrógeno (BN).
- d) Valor Biológico (VB).
- e) Utilización Neta de Proteínas (NPU).

La FAO estableció una proteína de referencia en base a los diferentes tipos de aminoácidos y los esenciales necesarios para cumplir las pérdidas endógenas de un individuo sano. Definió esta proteína de referencia o patrón como "aquella que produce un gramo de tejido por cada gramo de la proteína consumida". De las proteínas naturales, la caseína y la albúmina son las de mayor calidad proteica y por tanto, tomadas como PROTEINA PATRÓN.

La caseína entera es un complejo de proteínas fosforadas y constituye la parte nitrogenada más característica de la leche; no existe ninguna substancia similar, ni en la sangre ni en los tejidos. La caseína precipita sólo cuando se acidifica la leche hasta un pH = 4.6, o cuando se encuentra bajo la acción de una enzima específica: el cuajo (renina). Por ello se le ha llamado "proteína insoluble" de la leche. Es la fracción nitrogenada más

abundante en la leche, sobre todo en la de los rumiantes.

En este estudio se utilizaron los quesos comerciales tipo Panela, Oaxaca y Chihuahua, por considerarse los más consumidos a nivel nacional. Se pretende, además de estudiar la calidad proteica de cada uno, recomendar el consumo de uno de los tres quesos anteriores debido a sus cualidades nutricionales.

• II.- OBJETIVOS •

1.- Determinar si la calidad real proteica de los quesos comerciales (Panela, Oaxaca y Chihuahua) es comparable a la de la proteína patrón (Caseína), mediante cuatro pruebas biológicas: PER, NPU, DIGESTIBILIDAD y NPR, en ratas macho de laboratorio machos destetadas.

2.- Determinar cual de las tres dietas basadas en los quesos comerciales deshidratados provoca un mayor aumento de peso en comparación con la dieta de caseína.

3.- Ayudar al lector a inclinarse por el consumo de uno de los tres quesos nacionales cuya calidad proteica sea probada.

• III.- GENERALIDADES •

1.- METABOLISMO DE PROTEINAS EN EL HOMBRE.

Las proteínas constituyen las 3/4 partes, aproximadamente, de los sólidos del cuerpo. (1)

Los principales elementos de las proteínas son los aminoácidos (AA), de los cuales el cuerpo posee en cantidades apreciables 21 de estos. Cada aminoácido tiene un grupo ácido (-COOH) y un radical de nitrógeno que suele estar asociado con el radical ácido y se representa habitualmente por el grupo amino (-NH₂). (1)

De los 21 aminoácidos que se encuentran normalmente en las proteínas animales, las células pueden sintetizar 11; no sintetizan los otros 10, o lo hacen en una muy pequeña cantidad para así cubrir las necesidades del organismo. Los primeros se llaman AMINOACIDOS NO ESENCIALES y los otros, AMINOACIDOS ESENCIALES. Evidentemente, la alimentación debe proveer los aminoácidos esenciales para que pueda tener lugar la síntesis de proteínas. La palabra "esencial" no significa que dicha síntesis pueda tener lugar sin los otros 11 aminoácidos, sino simplemente, que no es indispensable su presencia en la alimentación. (1)

En el siguiente cuadro, se indica el nombre de los 21 aminoácidos, diferenciándolos en esenciales y no esenciales:

CUADRO #1: Aminoácidos esenciales y no esenciales.

AMINOACIDOS ESENCIALES	AMINOACIDOS NO ESENCIALES
Treonina	Glicina
Lisina	Prolina
Metionina	Alanina
Argenina	Serina
Valina	Cisteina
Fenilalanina	Acido Aspártico
Leucina	Acido Glutámico
Triptofano	Asparagina
Isoleucina	Glutamina
Histidina	Tirosina

A continuación, se presentan las necesidades estimadas de aminoácidos esenciales en lactantes (3-6 meses), niños (10-12 años) y adultos:

CUADRO #2: Necesidades estimadas de aminoácidos esenciales.

AMINOACIDO	Necesidad,mg/kg de peso corporal/día		
	LACTANTES	NINOS	ADULTOS
Isoleucina	80	28	12
Leucina	128	42	16
Lisina	97	44	12
Total de los que contienen azufre (Metionina + Cisteína)	45	32	10
Total de los aromáticos (Fenilalanina + Tirosina)	132	32	16
Treonina	63	28	8
Triptófano	19	4	3
Valina	87	25	14
Histidina	33	?	?

(2)

En un principio se pensaba que la histidina era esencial únicamente para los lactantes, pero en la actualidad se considera esencial también para el adulto. (2)

a.- DIGESTION DE PROTEINAS:

Para que se inicie en el estomago la descomposición de proteínas por las pepsinas, el pepsinógeno (forma inactiva de la pepsina) ha de ser activado por el ácido clorhídrico o por pequeñas cantidades de pepsina, gracias a la acción de las células de la mucosa gástrica. (3) La pepsina rompe enlaces en el grupo amino del aminoácido, dando esto lugar a proteosas y peptonas, y posiblemente, polipeptidos. (4)

Las proteosas pancreáticas, cuya función se realiza principalmente en la luz del intestino delgado, prosiguen la degradación de la mezcla de polipeptidos producidos por la digestión gástrica. La tripsina secretada como tripsinógeno es activada por la enterocinasa intestinal a un pH básico (8-9), o por ella misma, según los iones H⁺ del medio interno. También convierte al quimiotripsinógeno en su forma activa, la quimiotripsina. Ambas enzimas pueden desintegrar proteínas intactas o polipeptidos en

unidades más pequeñas; la diferencia principal de su acción radica en la especificidad de los enlaces peptídicos escindidos por cada una. (3) La tripsina rompe enlaces con el grupo carboxilo de aminoácidos básicos, como lisina y arginina para dar péptidos y polipeptidos. La quimiotripsina rompe enlaces en grupos carboxilos de aminoácidos como metionina, tirosina, triptofano y fenilalanina para dar dipeptidos. (4)

Cantidades importantes de proteína intacta se vierten en el intestino diariamente desde las secreciones intestinales y desde las células epiteliales descamadas dirigiéndose junto con las proteínas exógenas. Es así que la digestión gástrica no sea indispensable para la utilización de proteínas en el organismo. (3)

Se piensa que también las enzimas absorbidas hidrolizan a los polipeptidos en el borde en cepillo (membrana), a pesar de que gran parte de la degradación proteínica por las proteasas pancreáticas tiene lugar en la luz del aparato digestivo. El jugo pancreático contiene también exopeptidasas, sobre todo carboxipeptidasas, que rompen los enlaces peptídicos de los aminoácidos en el grupo carboxilo. (3)

El proceso digestivo en la luz intestinal origina una mezcla de aminoácidos y oligopeptidos que puede ser muy compleja. La división ulterior de oligopeptidos en dipeptidos, se atribuye a la acción de las peptidasas localizadas en la membrana. Los dipeptidos al parecer, se hidrolizan principalmente dentro de la célula, en tanto que la hidrólisis en la membrana predomina en el caso de tetrapeptidos y oligopeptidos más grandes; una considerable hidrólisis de tripeptidos tiene lugar en ambos lados. (3)

Las peptidasas principales que actúan en los casos anteriores son la carboxipeptidasa y la aminopeptidasa, que se activan gracias a la tripsina y van a romper enlaces de todos los grupos carboxilo y amino terminales, para dejar finalmente, aminoácidos libres. (4)

b.- ABSORCIÓN DE AMINOÁCIDOS:

El transporte de aminoácidos libres desde el intestino hasta los capilares de la vena porta se realiza gracias a procesos mediados por portadores, mecanismos que parecen requerir sodio y energía en casi todos los aminoácidos. Parece que hay varios mecanismos de transporte, cada uno activo con un grupo de aminoácidos dotados de propiedades semejantes. Es probable que los aminoácidos individuales se sirvan de varios sistemas de transporte. (3)

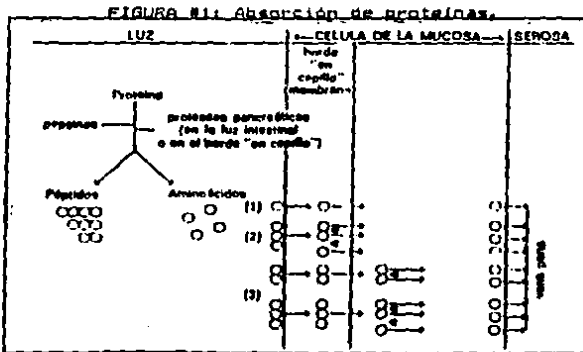
Los aminoácidos del mismo grupo compiten entre sí para ser conducidos al interior de la célula epitelial. Esta competencia se evita si se presentan en forma de pequeños péptidos. (3)

A continuación se muestra la figura #1, que esquematiza la absorción de proteínas. Esta puede realizarse por medio de varios mecanismos:

1.- Los aminoácidos producidos en el intestino son absorbidos en la célula de la mucosa y conducidos a la vena porta por distintos mecanismos que dependen de la estructura del aminoácido;

2.- La hidrólisis de pequeños péptidos en la membrana después de penetrar en la célula; los aminoácidos la atraviesan y llegan a la vena porta.

3.- Los pequeños péptidos entran en la célula y son hidrolizados por peptidasas intracelulares, luego la cruzan y llegan a la vena porta. Se cree que estos y los aminoácidos que penetran en la célula de la mucosa mediante sistemas interdependientes de transporte. Aunque solo los aminoácidos libres pueden penetrar en los capilares del sistema de la vena porta, su absorción a partir de dipéptidos y tripeptidos es más rápida que la absorción de mezclas equivalentes de aminoácidos. (3)



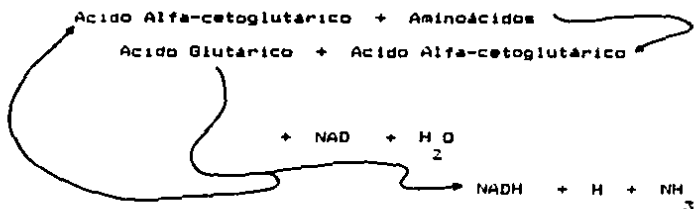
c.- METABOLISMO DE AMINOACIDOS:

Una vez absorbidos, los aminoácidos que se encuentran en los líquidos corporales se desdoblan y se metabolizan para producir energía, a menos

se almacenen en forma de grasa. Este desdoblamiento tiene lugar casi exclusivamente en el hígado, y su primer paso recibe el nombre de DESAMINACIÓN, siendo esta la pérdida de los grupos amínicos de los aminoácidos. Puede producirse de diferentes maneras, entre las cuales dos son particularmente importantes:

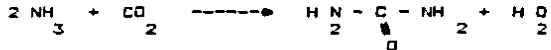
- 1) Transaminación del grupo amínico a alguna sustancia receptora, y
- 2) Desaminación oxidativa.

La mayor parte de la desaminación tiene lugar según el siguiente esquema de transaminación:



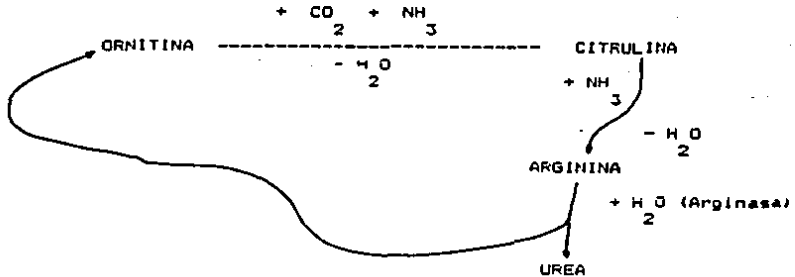
En este esquema, el grupo amínico de un aminoácido es transferido al ácido alfa-cetoglutarico, que entonces se transforma en ácido glutámico. Este, a su vez, puede transferir el grupo amínico a otras substancias o puede liberarlo en forma de amoníaco. En el proceso de perder el grupo amínico, el ácido glutámico una vez más se transforma en ácido alfa-cetoglutarico, de manera que puede repetirse el ciclo una y otra vez. (1)

El amoníaco que se libera durante la desaminación, desaparece de la sangre casi en su totalidad por transformación en urea: dos moléculas de amoníaco y una de bióxido de carbono se combinan en la siguiente forma:



El hígado fabrica practicamente toda la urea del cuerpo humano. Si se extirpa el hígado, o cuando este órgano esta gravemente enfermo, el amoníaco se acumula en la sangre. Como este cuerpo es muy tóxico para el cerebro, aparece frecuentemente el coma hepático. (1)

Las etapas de formación de la urea son las siguientes:



El primer elemento de la reacción es la Ornitina, derivada de aminoácidos, que se combina con una molécula de dióxido de Carbono y una de amonio para formar Citrulina. Esta, a su vez, se combina con otra molécula de amonio para formar Arginina que se desdobla en Urea y Ornitina. La urea se difunde desde las células hepáticas hacia los líquidos corporales, y es excretada por el riñón; la Ornitina vuelve a ser empleada en este ciclo, una y otra vez. (1)

Cuando se han desaminado los aminoácidos, lo habitual es que los cetoácidos así producidos puedan ser oxidados y utilizados en el metabolismo energético. Este proceso consta de dos etapas:

- 1) El cetoácido se transforma en un compuesto químico apropiado que puede ingresar en el ciclo del ácido tricarboxílico, y
- 2) dicho compuesto se desdobla a lo largo del ciclo, lo mismo que la Acetil Coenzima A obtenida durante los metabolismos de carbohidratos y grasas.

En general, la oxidación de un gramo de proteína proporciona menor cantidad de trifosfato de adenosina que la oxidación de un gramo de glucosa. (1)

Algunos aminoácidos desaminados se parecen mucho a los productos de degradación de los metabolismos de glucosa y ácidos grasos. Por ejemplo, la desaminación de la Alanina produce ácido pirúvico. Es evidente que este puede ser transformado en glucosa o glucógeno. También puede transformarse

en Acetil Coenzima A, que formará ácidos grasos por polimerización. Finalmente, se pueden condensar dos moléculas de Acetil Coenzima A para formar ácido acetacético, que es un cuerpo cetónico. (1)

La transformación de aminoácidos en glucosa o glucógeno se llama gluconeogénesis, y la de aminoácidos en cetoácidos o ácidos grasos se llama cetogénesis. Dieciocho de los 21 aminoácidos desaminados presentan estructuras que les permiten transformarse en glucosa, y diecinueve convertirse en grasa. (1)

d.- PERDIDAS DE NITRÓGENO:

El organismo pierde nitrógeno de tres maneras: por la orina, por las heces y por la piel. La urea, o sea, el principal producto de desecho de la orina, proviene del catabolismo de aminoácidos; de ahí que la cantidad que se excreta dependa de las circunstancias del cuerpo. La urea aumenta en cualquier trastorno que lleve a la degradación de aminoácidos, entre otros la diabetes mellitus, lesión, inmovilización y una dieta que aporte demasiadas proteínas, o insuficiente cantidad de carbohidratos, kilocalorías y aminoácidos esenciales. Cuando se aprovechan los aminoácidos para el crecimiento, embarazo o amamentamiento, las pérdidas de urea son menores. (2)

Las heces son otro medio de eliminar nitrógeno. Por término medio, el 8% de las proteínas ingeridas en cada comida, simplemente atraviesa el tubo digestivo y se excretan en las heces. El nitrógeno fecal procede de las proteínas de la células que se desprenden de la pared interna del tubo digestivo. Si bien las enzimas y proteínas se mezclan con la comida y una parte de ellas es digerida y reabsorbida, una proporción notable se pierde. (2)

Por la piel, se elimina poco nitrógeno. Estas pérdidas son células de la piel que se desprenden en escamas, proteínas del pelo y uñas, y un poco de urea en el sudor. (2)

En gran medida el nitrógeno que se pierde representa una merma de las proteínas orgánicas. Por encontrarse la fuente de ese elemento en el interior del cuerpo, las pérdidas reciben el nombre de eliminación endógena. (2)

Parte de la urea urinaria proviene del catabolismo de exceso de aminoácidos de origen alimentario y parte del nitrógeno que se pierde en las heces resulta de las proteínas no digeridas ni absorbidas. En este caso, se llama nitrógeno exógeno, pues se origina fuera del cuerpo. (2)

e.- INGRESO DE NITROGENO:

Si las pérdidas de nitrógeno endógeno no se repusieran, el organismo se debilitaría en extremo. Para conservar el equilibrio, debe obtener nitrógeno por medio de las proteínas alimentarias. Los aminoácidos así conseguidos se aprovechan en la síntesis de nuevas proteínas que sustituyen a las que se descomponen y eliminan en la urea. También sirven para elaborar nuevas enzimas digestivas, proteínas de la pared del tubo digestivo y piel, cabellos y uñas. Sin embargo, parte de las proteínas exógenas se pierden sin que puedan utilizarse; de ahí la necesidad de elevar el consumo para compensar las pérdidas de nitrógeno endógeno y exógeno. (2)

Hegsted sostiene la necesidad de un requerimiento de 5.0 gr. Nitrógeno/ persona/ día, lo cual sería equivalente a cerca de 31 gr. de proteína/ día para un adulto de 65 kg. También sostiene que hay una retención de aproximadamente, 20% del consumo superior a los 5 gr. por día. (5)

2.- METABOLISMO DE PROTEINAS EN RATAS.

Puesto que las proteínas son materia principal de los órganos y de las estructuras blandas del cuerpo del animal, es necesario suministrarlas de modo continuo para el crecimiento y reparación, por lo cual la transformación de las proteínas de los alimentos en proteínas del cuerpo constituye una parte importante del proceso de la nutrición. (6)

Ya en el capítulo anterior se hizo referencia a los aminoácidos y su clasificación como esenciales y no esenciales. En el caso particular de la rata, los aminoácidos esenciales son muy similares a los del hombre, sino que los mismos. A continuación se presenta el siguiente cuadro, que muestra una clasificación de los aminoácidos con arreglo a sus efectos en el crecimiento de la rata: (6)

Cuadro No.1: Principales aminoácidos en la rata.

AA ESENCIALES	AA NO ESENCIALES
Lisina	Glicina
Triptofano	Alanina
Histidina	Serina
Fenilalanina	Cisteina
Leucina	Tirosina
Isoleucina	Ac. Aspártico
Treonina	Ac. Glutámico
Metionina	Prolina
Valina	Hidroxiprolina
Arginina	Citrulina

La cisteina puede substituir casi la sexta parte de la metionina, pero no influye en el crecimiento cuando falta la metionina. Así mismo, la tirosina puede substituir casi la mitad de la fenilalanina, pero tampoco influye en el crecimiento cuando falta la metionina. El ac. glutámico y la prolina pueden servir separadamente como substitutos poco eficaces de la arginina en la dieta; esta propiedad no la comparte la hidroxiprolina. (6)

De los aminoácidos esenciales, la arginina puede ser sintetizada por la rata, pero no con la suficiente rapidez para satisfacer las demandas del crecimiento máximo; por lo tanto, su clasificación como aminoácido esencial es tan solo cuestión de definición. (6)

a.- DIGESTION DE PROTEINAS:

La digestión puede ser definida como aquellos eventos que preparan la comida para la absorción. El aspecto mecánico del masticado, reduciendo el alimento a partículas pequeñas, es realizado por los dientes del animal o por algún otro recurso mecánico, siendo esto considerado como el primer paso del proceso digestivo. (7)

Al llegar las proteínas al estómago, estas son hidrolizadas por la acción de enzimas proteolíticas secretadas en el estómago e intestino. Estas enzimas, o también llamadas catalizadores biológicos, se adicionan en secuencia conforme el alimento viaja por el tracto gastrointestinal. Estas enzimas digestivas atacan las proteínas solubles, pero no las queratinas -proteínas insolubles de los animales, derivadas de las células del ectodermo (4)-. La velocidad de la hidrólisis es muy rápida para la leche y productos cárnicos y más lenta para proteínas insolubles. La leche y productos cárnicos, sin embargo, pueden ser hechos menos solubles utilizando tratamiento térmico. (7)

La flora bacteriana también interviene en la digestión y metabolismo de proteínas. Al multiplicarse las bacterias, sintetizan proteínas para formar sus propios cuerpos, tomando la materia prima del alimento ingerido. Para este fin utilizan las amidas, sales de amonio y hasta los nitratos, además de las proteínas. Las proteínas bacterianas así formadas en la panza pueden ser digeridas luego en el estómago y en el intestino. Según la cuantía de este proceso, puede resultar para la absorción una mezcla de aminoácidos distinta de la que habría resultado de la digestión de las proteínas de los alimentos solamente, y en la medida en que las proteínas bacterianas se forman de compuestos nitrogenados simples que el cuerpo animal no utiliza, puede producirse notable aumento de aminoácidos aprovechables por el organismo. (6)

En la siguiente página se muestra la figura #2, la cual nos muestra sintetizado el camino que sigue la proteína en su digestión hasta que entra al sistema portal para ser absorbido posteriormente. (8)

La pepsina, tripsina y quimiotripsina son endopeptidasas, es decir, se encargan de hidrolizar uniones peptídicas en el interior de la cadena peptídica, así como uniones terminales. La carboxipeptidasa y la leucina aminopeptidasa son exopeptidasas y sólo pueden actuar sobre uniones peptídicas terminales.

I.- La pepsina hidroliza muchos tipos de uniones peptídicas, pero ataca con mayor rapidez aquellas en las que un aminoácido aromático provee el grupo amino. (continúa después de la figura #2)

FIGURA #2: Digestión de proteínas.

ALIMENTO	LUMEN DEL ESTOMAGO	LUMEN DEL INTESTINO	CELULAS MUCOSA INTESTINAL(V)	SANGRE VENA PORTA
	A=Pepsina(I)	B=Tripsina(II) C=Quimotripsina (III) D=Carboxipeptidasa (IV)	E=Varias peptidasas(VI)	
Proteína	A → Polipeptidasas →	← B,C,D → Dipeptidos y AA		
	Dipeptidos		E → Amino Acidos	
	Aminoácidos			→

II.- La tripsina hidroliza uniones peptídicas en donde la L-Arginina o la L-Lisina contribuyen al grupo carbonilo.

III.- La quimotripsina hidroliza muchos tipos de uniones peptídicas, pero ataca con más velocidad aquellas en las que un aminoácido aromático contribuye al grupo carboxílico.

IV.- La carboxipeptidasa no presenta especificidad alguna con respecto al aminoácido terminal que forma la unión atacada; actúa más rápidamente en aquellos eslabones en donde el aminoácido aromático se encuentra en posición terminal. Este debe tener un grupo carboxílico libre.

V.- Los aminoácidos y dipeptidos entran en las células mucosas intestinales. Los aminoácidos pasan a través de estas sin alterarse (con unas pocas excepciones, como la transaminación del Ac. Glutámico) y los dipeptidos son divididos hasta aminoácidos en el microvello de la célula donde se localizan las peptidasas.

VI.- Solo se han podido caracterizar pocas peptidasas de la mucosa intestinal. La mejor conocida de ellas es la leucina aminopeptidasa. (8)

b.- ABSORCION DE AMINOACIDOS:

Los aminoácidos son transportados activamente a través de la pared intestinal. Las formas L- son generalmente transportadas con más rapidez que las correspondientes formas D-. Parece ser que ciertos aminoácidos son absorbidos más rápidamente que otros, pero la relación puede alterarse cuando la mucosa se ha abastecido de ciertos aminoácidos específicos. En concentraciones equimolares, la metionina, isoleucina y valina son absorbidas con más velocidad, siendo precedidas por los aminoácidos neutros y los ácidos dicarboxílicos. Existe una regla general, siendo la que los aminoácidos esenciales se absorben antes que los no esenciales. Otras técnicas indican que la metionina y la alanina son rápidamente absorbidas. Puede ser que los aminoácidos compiten por los lugares de absorción disponibles. La leucina y la isoleucina y/o valina se conocen por ser inhibidoras mutuas. (7)

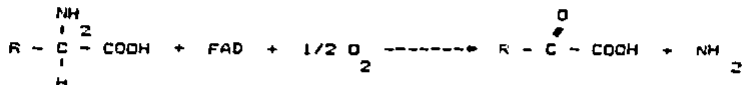
La capacidad del sistema de absorción es limitado, pero la evidencia disponible sugiere que la gran longitud del intestino provee una capacidad de reserva para compensar la sobrecarga. Los animales digieren y absorben bien las proteínas aún cuando parte del tracto intestinal ha sido extraído. Se ha encontrado que, generalmente, el transporte activo disminuye cuando hay una sobrecarga de aminoácidos, pero muy pocos aminoácidos libres son excretados por las heces, tal vez debido a que el resto es metabolizado por las bacterias del intestino. Una sobrecarga temporal puede ser producida bien sea por una ingesta rápida de una dieta alta en proteínas, por una dieta líquida que no se coagula en el estómago o por un exceso de aminoácidos libres suplementarios. (7)

Durante la absorción, la concentración de aminoácidos en la sangre portal se eleva y los investigadores han pensado en usar este cambio como una medida de la efectividad de la absorción. El sistema portal puede reflejar la absorción, pero la transaminación puede ocurrir en las paredes intestinales, cambiando la concentración de alanina, ácido glutámico y ácido aspártico. Se cree que los aminoácidos son transportados en un estado libre, pero la alta concentración de ácido glutámico o glutamina en la sangre indica que hay otros sistemas alternativos. (7)

c.- METABOLISMO DE AMINOACIDOS:

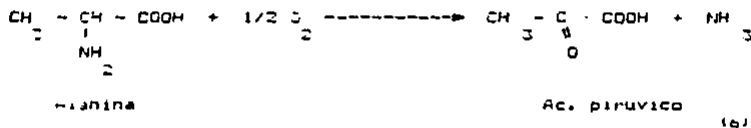
Se han encontrado varios caminos para la manipulación de los aminoácidos. Algunos son específicos para un solo estereoisómero de un ácido dado, pero otros muestran amplia especificidad:

1.- Deaminación: El hígado y riñon contienen una enzima activa contra D-aminoácidos, pero no contra los L-aminoácidos. La D-aminoácido oxidasa cataliza la siguiente reacción:



Hay una L-aminoácido oxidasa débil presente en los tejidos, pero no tiene importancia relativamente. (7)

Después de la desaminación, la cadena de carbono se convierte en carbohidratos y grasas, que forman una reserva de energía, y el amoniaco se transforma en urea y otros compuestos nitrogenados que son excretados. Un ejemplo típico de desaminación es el siguiente:



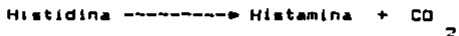
2.- Transaminación: La transaminación es uno de los mayores recursos para la transferencia de grupos amino. Los dos mayores sistemas implican a los ácidos aspártico y glutámico. Reacciones típicas incluyen:



El sistema que implica al ácido aspártico está más difundido en los tejidos animales, pero en las reacciones que implican otros alfa-oxo ácidos, son la base principal para la formación de aminoácidos dispensables. (7)

3.- Descarboxilación: Las aminas biológicas se forman gracias a la descarboxilación de los aminoácidos. Las enzimas para la reacción son más comunes y específicas en las bacterias, pero también se encuentran en

plantas y tejidos animales. En tanto que las aminas son importantes biológicamente, su ruta de obtención no es tan importante cuantitativamente como una medida de la alteración de aminoácidos. Un ejemplo típico de la descarboxilación son la formación de histamina y triptamina a partir de histadina y triptofano. (7)



En este caso, la histidina se descarboxila por la histidin - descarboxilasa, enzima que emplea fosfato de piridoxal, para dar histamina, potente vasodilatador que es liberado en ciertos tejidos como resultado de una hipersensibilidad alérgica o de una inflamación. (4)

d.- EXCRECIÓN:

El nitrógeno es excretado por varias rutas. A continuación, se revisan las principales:

1.- Formación de Urea y mecanismos de desintoxicación: El amoníaco, el mayor producto formado por la desaminación de los aminoácidos, es tóxico para los tejidos de los mamíferos. Estos utilizan dos mecanismos para desecharlo: Cantidades pequeñas son convertidas rápidamente a glutamina por un sistema, el cual es la primera medida tomada contra la toxicidad del amoníaco. El otro camino es por la vía de la conversión del amoníaco a urea, la cual se forma en el hígado. (7)

2.- Riñón: El riñón tiene el papel principal en el control de la eliminación de nitrógeno. Es muy importante regular y controlar el nivel de agua ingerida; la urea es filtrada y no reabsorbida activamente. Cerca de un 40% puede ser reabsorbido por difusión pasiva. Bajo ciertas circunstancias especiales, toda la creatinina y cerca de un 95% de ácido úrico pueden ser reabsorbidos. (7)

La concentración de los componentes nitrogenados en la orina durante abstinencia y en periodo de ingesta de dietas con bajo y alto contenido de nitrógeno, muestran que la urea varía con la proteína y el nivel energético de la dieta. El nivel de amoníaco es usualmente mayor en una ingesta alta de proteínas debido a que los fosforos y sulfuros de la proteína deben ser excretados como ácidos. El riñón utiliza amoníaco e hidrógeno para neutralizarlos; sin embargo hay otras condiciones que pueden contribuir a un alto amoníaco nitrogenado urinario. (7)

3.- Piel: Se pierde nitrógeno constantemente a través de la piel, bien sea en forma de células muertas o con el sudor. (7)

4.- Excremento: De los compuestos nitrogenados del excremento, unos son sustancias no digeridas o no absorbidas y otros forman la fracción llamada nitrógeno metabólico. Esta fracción metabólica comprende sustancias que se originan en el cuerpo, como son los residuos de la bilis y de otros jugos digestivos, células epiteliales desprendidas del tubo digestivo por el roce del alimento y residuos bacterianos. El nitrógeno de los residuos bacterianos debe ser considerado, al menos en parte, procedente del alimento. La existencia de este nitrógeno metabólico en los excrementos, a distinción del nitrógeno no digerido, se demuestra por el hecho de que las materias fecales resultantes de una alimentación exenta de nitrógeno, siempre contienen compuestos nitrogenados. La razón de que deben distinguirse ambas fracciones consiste en que tienen diferentes orígenes y en que esa distinción es útil en la determinación del valor biológico de las proteínas en la nutrición. (6)

En la medida en que el nitrógeno metabólico depende del total de alimento ingerido, la disminución de la proteínas de la ración hace descender la cantidad de nitrógeno no digerido en relación con la totalidad del nitrógeno fecal que se excreta. (6)

e.- RESERVA DE PROTEÍNAS Y PROTEÍNAS DEL PLASMA:

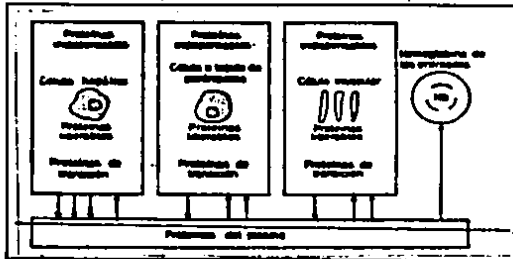
La ingestión abundante de proteínas produce un pequeño aumento de ellas en el cuerpo, que suele calificarse de reserva de proteínas o proteína acumulada. Este incremento, a la vez, tiende a desaparecer con una dieta de escaso contenido proteico. (6)

Aunque la magnitud de esta acumulación no puede compararse con la de la grasa, generalmente es más importante porque es la fuente con la que se elaboran las proteínas del plasma, así como la hemoglobina. Las principales proteínas del plasma sanguíneo son la albúmina, la globulina y el fibrinógeno, cada una de las cuales tiene funciones específicas y debe regenerarse constantemente con la reserva de proteínas. Cuando esta reserva se agota por anemia, ayuno o como consecuencia de una dieta escasa en proteínas resulta la hipoproteïnemia. Es por ello que un escaso nivel proteïnico del plasma, que no puede atribuirse a una enfermedad determinada, revela una nutrición insuficiente de proteínas. Sin embargo, como los anticuerpos son producidos por la globulina, la desnutrición proteïnica que acompaña a la hipoproteïnemia es síntoma de una enfermedad infecciosa; esta relación ha sido establecida experimentalmente en forma

definitiva, llegando a la conclusión de que la nutrición suficiente de proteínas es muy importante para resistir las enfermedades infecciosas. (6)

A continuación se muestra la figura #3, que presenta el equilibrio dinámico de las proteínas del cuerpo y por tanto, las relaciones existentes entre la reserva de proteínas, la hemoglobina y las proteínas del plasma:

FIGURA #3: Equilibrio dinámico de proteínas.



(6)

Como se observa en ella, la célula del hígado contiene una proteína que es indispensable para su estructura, y proteína acumulada no indispensable, que puede liberarse para formar el plasma. La proteína que entra o sale de la célula del hígado recibe el nombre de proteína de transición. Nótese que el flujo entre las células y el plasma es irreversible. Sea cual fuese el mecanismo, los investigadores están de acuerdo en que la molécula proteínica como tal puede pasar por las membranas de la célula. La figura muestra que la proteína del plasma es la fuente de la hemoglobina, cuya escasez produce la anemia. (6)

1.- CATABOLISMO DE LAS PROTEÍNAS:

Entendemos catabolismo, por la descomposición de sustancias para producir energía. En el desgaste de los tejidos, las moléculas de proteínas son hidrolizadas en sus componentes aminoácidos mediante un proceso análogo al de la digestión. Sujetos a las reacciones reversibles que entraña el estado dinámico, estos aminoácidos sufren la desaminación, la cadena de carbono sigue los procesos metabólicos de los carbohidratos y grasas para convertirse en agua y bióxido de carbono, y el amoníaco se transforma en

urea y otros productos nitrogenados que son excretados. Entre estos productos metabólicos que se encuentran en la orina, se incluye el ácido úrico, las sales de amonio, la creatinina y el ácido hipúrico. (6)

La magnitud de la excreción de la urea es usualmente alta cuando estas reservas están vacías, alcanzando un valor constante mínimo. (9)

g.- CATABOLISMO ENDOGENO Y EXOGENO:

En 1905, Folin estableció una teoría de que hay dos formas de catabolismo, esencialmente independientes y muy distintas: una variable, a la que llamo exógena, que depende de la cantidad de proteína consumida, y otra de tipo constante, el catabolismo endógeno, que tiene relación con el tamaño del cuerpo y otros factores corporales. Según esta teoría, el catabolismo endógeno consiste en procesos característicos de las células vivas, como se manifiesta por la excreción de nitrógeno en una dieta libre de nitrógeno, y que en lo demás es suficiente. Refleja procesos metabólicos que son esenciales para la vida y los productos residuales excretados tienden a ser constantes, sin que resulten influidos por la naturaleza o cantidad de las proteínas del alimento. El nitrógeno endógeno excretado representa la pérdida que debe recuperarse por medio del suministro de proteínas a fin de mantener la integridad de los tejidos del cuerpo que contienen nitrógeno. El catabolismo exógeno representa la desintegración de los compuestos nitrogenados de la dieta absorbidos, no sintetizados en proteínas del cuerpo. (6 y 9)

La teoría de Folin necesita ser modificada para ajustarse a los nuevos descubrimientos sobre el estado dinámico de las proteínas y los aminoácidos del cuerpo. (10)

h.- CRECIMIENTO:

Schebbs define crecimiento como "un incremento de la masa del cuerpo en intervalos de tiempo definidos, con un modo característico en cada especie" (10). Esto implica que, sujeto a variabilidad individual, hay un grado característico de crecimiento para cada especie y un tamaño y desarrollo adulto característico. Se ha considerado que estos factores anteriores son fijados por la herencia. La nutrición es un factor esencial que puede determinar hasta donde sea alcanzado el máximo crecimiento en el animal, y un régimen nutricional óptimo es aquel que permite al organismo aprovecharse de las ventajas de la herencia. (10)

El crecimiento es también un término usado para referirse a un número de caminos por los cuales un sistema viviente puede incrementar su tamaño, medido en términos de volumen o peso de todo su cuerpo o partes del mismo. El crecimiento normal es un proceso integrado en el cual se mantiene un balance adecuado entre todos los tejidos. (9)

El crecimiento se puede producir bien sea incrementando el número de células (hiperplasia), o bien, incrementando su medida (hipertrofia). En la vida embrionaria, ambos procesos ocurren con todas las células. El crecimiento celular depende también del tipo de célula sobre la cual se vaya a experimentar el crecimiento. Por ejemplo, un desarrollo del incremento muscular puede ser obtenido a través de ejercicio que implique una hipertrofia. Parece ser que la probabilidad de las células del organismo adulto para tener una hipertrofia decrece con la edad. (10)

El crecimiento del cuerpo como un total es la resultante del crecimiento simultáneo de sus partes, por lo cual las proporciones individuales son muy variables. El esqueleto padece un incremento en su crecimiento como un porcentaje del peso total corporal por un corto periodo después del nacimiento, y posteriormente este decrece, procediendo al crecimiento muscular. (10)

El crecimiento del cuerpo como un total es medido más usualmente como un incremento en el peso. Si a este, adicionamos una medida del volumen, entonces tenemos una medición del crecimiento más completa. Un animal puede incrementar su peso a través del almacenamiento de grasa (el cual se hace mayor con la edad), sin observarse ningún incremento en los tejidos estructurales y órganos que caracterizan el crecimiento. Un animal que está recibiendo insuficiente cantidad de proteínas y energía para permitir el crecimiento de sus músculos y órganos, puede sin embargo, mostrar un aumento de su volumen gracias al crecimiento del esqueleto. (10)

Un aumento del peso en el cuerpo puede ser expresado de manera absoluta, bien en gramos por día, o puede ser expresado como un porcentaje del peso al inicio. (10)

Además del agua, el incremento corporal durante el crecimiento depende en gran medida de la cantidad de proteínas. Teóricamente, el requerimiento proteico mínimo es la cantidad actual de proteína que se encuentra almacenada en el cuerpo. Esto, sin tomar en cuenta el desperdicio de proteínas durante la digestión y el metabolismo. (10)

Al principio de este capítulo se presentó una tabla que muestra los aminoácidos esenciales y no esenciales necesarios para la rata. Un balance

adecuado de aminoácidos en la ración es importante para una eficaz y óptima nutrición proteica. Este balance puede alterarse por excesos relativos de uno o más aminoácidos, así como la deficiencia de uno de ellos. (10)

El requerimiento de cualquier aminoácido esencial en la dieta puede incrementarse con un aumento de la ingesta de proteína, reflejando un anabolismo (síntesis de materiales biológicos) incrementado. (9)

1.- FACTORES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO:

Los principales factores que pueden afectar el grado de crecimiento de animales de laboratorio, son:

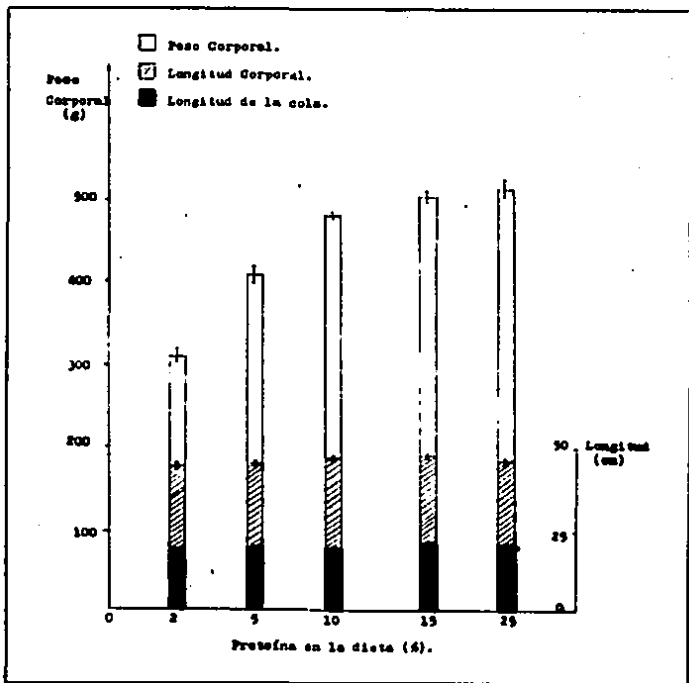
- 1.- Peso de la cría al nacer.
- 2.- Habilidad de la madre durante el periodo de lactación
- 3.- Número de crías en la camada.
- 4.- Peso del animal al destete.
- 5.- Cantidad y calidad del alimento después del destete.
- 6.- Factores genéticos.
- 7.- Temperatura ambiental.
- 8.- Infecciones.
- 9.- Procedimiento de manejo de animales. (11)

La alteración de uno o más de estos factores pueden dar una diferencia significativa en respuesta a un mismo stress nutricional. La falta de estandarización de estos factores puede ser parcialmente responsable de las amplias diferencias obtenidas por diferentes laboratorios en estudios nutricionales similares. (11)

Se han realizado numerosos experimentos que observan los factores que pueden afectar el crecimiento del animal. Donald y asociados observaron que ratas adultas alimentadas con altas concentraciones de proteína dietética por nueve semanas ganaron más peso que aquellas ratas alimentadas con dietas conteniendo menos proteína. También se observó que la proteína en la dieta de animales adultos influye en su peso corporal y en la adiposidad, más no afectó de manera considerable el crecimiento lineal del animal. (12)

En la siguiente página, se puede observar la figura #4 que nos presenta una gráfica mostrando que las ratas adultas alimentadas con una dieta alta en proteína ganaron peso más rápidamente que aquellas alimentadas con dieta baja en proteínas, pero el crecimiento lineal no fue alterado: (12)

FIGURA #4: Proteína en la dieta vs. ganancia de peso y su relación con el crecimiento lineal.



Thonney y Ross también concluyeron que la proteína contenida en la dieta era responsable de la ganancia de peso. (13)

Hegsted y Neff hicieron un estudio con ratas desnutridas que fueron alimentadas con dietas conteniendo tres proteínas diferentes: lactoalbúmina, caseína y soya, y cada una alimentada a niveles desde 0 hasta 30% de la dieta. La respuesta fue medida como la cantidad total de agua corporal en relación al consumo de proteína. Los datos confirmaron la hipótesis de que la utilización de proteína en ratas jóvenes es constante hasta que alcanzan su máximo crecimiento. Observaron que cuando la calidad de la proteína en la dieta es alta, se obtiene un aumento de peso máximo suministrando pequeñas cantidades de la dieta. (14)

.- CONSECUENCIAS FISIOLOGICAS DE LAS DIETAS LIBRES DE NITROGENO:

Los animales alimentados con dietas libres de nitrógeno se ven miserables, muestran letitud y parecen fatigados y muy flacos desde la segunda semana del experimento en adelante. Su piel parece más delgada y cuando el pelo se cae, no vuelve a crecer más, dejando pedacos en blanco hasta que termina el experimento (animales de la misma edad alimentados con una dieta balanceada recuperan su pelaje de 8 a 12 días). Muestran extremidades cianóticas y las ratas, en particular, muestran una tendencia a huir de la luz. Por otra parte, la actividad enzimática en el metabolismo de proteínas muestra un descenso drástico en su actividad, cuando estos son alimentados con cantidades muy pequeñas de proteína en la dieta. (15)

Se han realizado muchos estudios encaminados a averiguar otros efectos de la ingesta de una dieta libre de nitrógeno (DLN) o baja en proteínas. Entre los principales resultados, encontramos los siguientes:

1.- El líquido biliar tiene una menor secreción a niveles bajos o nulos de proteína. La concentración absoluta de ácido biliar, fosfolípidos y colesterol es mayor en ratas alimentadas con dietas bajas en proteínas que con dietas balanceadas, mientras que las concentraciones relativas de ácido biliar fueron menores y las de colesterol y fosfolípidos fueron mayores. A pesar de que las ratas con una dieta baja en proteínas consumen mayor alimento, crecen mucho más lento y muestran menor ganancia de peso corporal y de hígado. (16)

El que las ratas consumen una gran cantidad de alimento de la dieta libre de nitrógeno se puede deber a que hay una absorción inadecuada de los nutrientes ingeridos, o un depósito menos eficiente de energía en el tejido adiposo, o mayor gasto de energía en el tejido adiposo, etc. Las razones aun no están del todo aclaradas. (16)

II.- No hay inhibición en la ingesta de la dieta, aunque haya una temperatura ambiental mayor. (17)

III.- Si se manejan proteínas desequilibradas en su composición de aminoácidos, los efectos pueden ser varios: aumento de agua y glicógeno corporal; disminución del nitrógeno e inversión de la relación nitrógeno / agua; principios de Kwashiorkor; los sistemas enzimáticos no alcanzan su nivel normal de actividad; pérdidas de minerales, como el potasio; hay disminución en las cantidades corporales de fosfatasa alcalina, colinesterasa y fenilalanina hidroxilasa, produciéndose un retardo mental del animal, etc. (18)

3.- CALIDAD PROTEICA.

Casi todos los alimentos contienen un poco de proteínas, pero existen algunos muy ricos en ellas, como la carne, leche, huevo, pescado, productos lácteos, algunas leguminosas, etc. (2)

Cuando queramos escoger una fuente de proteínas, hay que tomar en cuenta otros factores, además del de cantidad, por ejemplo:

- 1) Calidad de la proteína.
- 2) Cantidad de energía, de grasa saturada y poliinsaturada, de colesterol.
- 3) La presencia de otros nutrientes.
- 4) El costo. (2)

3.- CALIDAD PROTEICA:

Existen varias definiciones sobre calidad proteica, encontrándose entre las más representativas las siguientes:

" La calidad proteica es una medición de la eficacia con que una proteína se usa para el crecimiento o para conservar funciones y depende ante todo de los aminoácidos esenciales que la integran. " (3)

" La calidad proteica se refiere a la cantidad de aminoácidos esenciales que contienen (las proteínas) en relación con la que se necesita en la formación de tejido nuevo. " (19)

" La calidad proteica se refiere a la eficiencia con que varias proteínas alimenticias son usadas para la síntesis y el mantenimiento del tejido proteínico. " (20)

La calidad proteica depende fundamentalmente de dos factores:

- 1) La digestibilidad de ella o la eficacia con que es degradada y hecha utilizable para la absorción; y
- 2) el contenido de aminoácidos esenciales en esa proteína. (19)

Las necesidades de aminoácidos esenciales son mayores en el crecimiento que durante la vida adulta; por tanto la calidad proteica es de mucha mayor importancia en las situaciones anabólicas, tales como la infancia, embarazo, lactación y recuperación de enfermedades, que en un hombre adulto o una mujer que no está embarazada o en periodo de lactación. (20)

Algunos de los factores que pueden afectar la utilización de proteínas y por ende, la calidad proteica, son:

- 1) Dieta: proteína total, energía alimenticia total, composición de aminoácidos (tanto deficiencia como exceso), digestibilidad, fibra y otros nutrientes dietéticos.

- 2) Consumidor: edad, sexo, estado fisiológico (crecimiento, embarazo, etc.), actividad, infecciones, lesiones y estado emocional.
- 3) Externas: frecuencia entre comidas, estado social, estado económico, higiene y sanidad. (21)

La situación se puede complicar a veces cuando vemos que todos los animales, incluido el hombre, tienen la habilidad, en algún grado, de rehusar aminoácidos para la síntesis de proteínas. (21)

b.- CALIDAD PROTEICA EN LOS ALIMENTOS:

A raíz de las primeras investigaciones sobre calidad proteica, las proteínas fueron clasificadas en completas, parcialmente completas e incompletas. (13)

Los alimentos animales, como la carne, pescado, huevo, leche y queso aportan proteínas de buena calidad en abundancia, por lo que se llaman proteínas completas. La excepción de este grupo es la gelatina, proteína obtenida del tejido conectivo animal, que por carecer de triptofano, se clasifica como incompleta. (13)

Las proteínas vegetales no tienen la misma calidad que las animales, por su concentración insuficiente de los siguientes aminoácidos esenciales: lisina, metionina, treonina y triptofano; en consecuencia, son incompletas o parcialmente incompletas. Dentro de estas, las de mejor calidad son las de las leguminosas; por ejemplo, las de ejotes, chicharos, frijol, cacahuete, nueces y almendras. No obstante, estas proteínas incompletas son parte importante de la alimentación, pues sus aminoácidos contribuyen al nitrógeno total corporal, que debe estar disponible para los aminoácidos no esenciales y para compuestos nitrogenados de los tejidos. (3 y 22)

En la siguiente página se puede observar el cuadro #4, que muestra la cantidad y calidad de las proteínas de Algunos alimentos. (2)

La calidad proteica es de considerable mayor importancia en los países en desarrollo en donde los cereales son las principales fuentes de proteína, en comparación con los Estados Unidos donde hay un mayor consumo de proteína animal de alta calidad. También hay que recordar que, por lo general, las proteínas de pobre calidad son baratas y las de alta calidad son más caras. (20)

CUADRO 4: Cantidad y calidad proteica de algunos alimentos.

ALIMENTO	PORCENTAJE DE PROTEINAS POR PESO, g. de proteínas/ 100 g DE ALIMENTO	PORCENTAJE DE NPU	PORCION	PROTEINA UTILIZABLE POR PORCION en gramos.
Huevos	13.8	94	46 g.	5.9
Leche entera	3.5	82	244 g.	7.0
Queso Cheddar	25.0	70	28 g.	4.9
Bistec Sirloin (de la. calidad, cocido)	32.2	67	85 g.	18.4
Hamburguesa (regular cocida)	24.2	67	85 g.	15.8
Pollo (solo la carne frito)	31.2	73	85 g.	19.4
Soya (semillas maduras, cocidas)	11.0	61	180 g.	12.1
Frijol blanco (promedio de varios tipos de semillas maduras, cocido)	7.8	38	180 g.	5.3
Cacahuates (con cascara, asados)	26.2	43	72 g.	8.1
Pan integral	10.0	60	50 g.	3.0
Arroz blanco (cocido y enfriado)	2.0	57	145 g.	2.2
Maiz (cocido)	3.5	51	165 g.	2.8
Hongos (crudos)	2.7	72	70 g.	0.9

4.- METODOS BIOLOGICOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD PROTEICA:

Los métodos de evaluación para confirmar la calidad de las proteínas suelen ser biológicos, puesto que es la capacidad de ellas para sostener el crecimiento y mantenimiento lo que determina su valor definitivo. Estos estudios se realizan con animales experimentales y algunos de ellos son aplicables a estudios con humanos. (19)

Los principales métodos biológicos son:

a) RELACION DE LA EFICIENCIA PROTEICA (PER):

Este método fue desarrollado originalmente por Osborne, Mendel y Ferry en 1919 (10 y 23) y con él, se expresa numéricamente el valor de las proteínas que favorecen el crecimiento. Se define PER como el incremento ponderal de los animales en crecimiento dividido entre la cantidad de las proteínas que ingieren:

$$P E R = \frac{\text{Incremento ponderal, g}}{\text{Proteínas ingeridas, g}} \quad (19)$$

El método de PER se basa exclusivamente en la ganancia de peso y no considera ni la composición del carcass o la necesidad de proteínas para el mantenimiento del tejido proteico (20). Comúnmente se utilizan ratas recién destetadas alimentadas "ad libitum" con una dieta que contenga por lo general, un 10% de proteína, tomando en cuenta la cantidad de proteína consumida después de un período de 28 días. (23, 24 y 25)

En el método de PER se pueden utilizar fuentes de proteína simples, mezclas tanto simples como manufacturadas y fuentes complejas, algunas de las cuales pueden contener agua y grasa. (23)

Uno de los principales requisitos entre las proteínas en estudio y la proteína de referencia (caseína), es que todas las dietas que las contengan deben tener la misma cantidad de nitrógeno, grasa, carbonhidratos, fibra cruda y cenizas. (23)

Sin tomar en cuenta su larga historia, amplio uso y su "status" oficial, PER no es un buen método biológico. Del criterio definido para un bioensayo válido, por ejemplo, precisión, reproductibilidad, validez estadística, proporcionalidad, simplicidad y bajo costo, se puede considerar que PER solo cumple el criterio de simplicidad (21). Además, adolece de varias deficiencias:

1) La proteína alimentaria que se requiere para mantener al animal no se nombra en la medición de PER.

2) La variación de la composición corporal es algo que puede ocurrir y entonces, PER no suministra una medida adecuada de la retención de nitrógeno.

3) PER también varía con la cantidad de alimento ingerida. (19)

4. El valor de PER disminuye al utilizar ratas muy pesadas (arriba de 60 a 70 g) en comparación con los resultados obtenidos al usar ratas normales (pesando entre 52 y 65 g). (26)

5) PER se puede ver afectado por otros factores como:

a.- Edad de la rata: Deben utilizarse ratas con 21-23 días de nacidas al comienzo del estudio.

b.- Raza de la rata: Tiene solo un efecto mínimo, pero también influye.

c.- Sexo de la rata: Las ratas hembras crecen a menor velocidad que los machos.

d.- Consistencia de la dieta: Debe ser uniforme y reproducible.

e.- Porcentaje de caseína en la dieta de referencia: Hay discrepancias en la literatura sobre el valor real de caseína (entre 9.7 y 10.3%), lo cual debe ser revisado.

f.- Duración del experimento: Deben emplearse 28 días, puesto que a períodos menores se obtienen valores mayores de PER. (11)

6) No toda la proteína se utiliza para el crecimiento. (27)

7) En la industria de los alimentos, encontramos dos problemas serios:

a.- PER no es fácilmente reproducible.

b.- PER fue diseñada para señalar los atributos particulares de proteínas purificadas, y no fue diseñada para usarse en sistemas de alimento completo. PER puede ser afectado por el contenido de humedad, el tipo, contenido de grasa, nivel y fuente de carbonhidratos, nivel de sodio, nivel de cenizas, nivel de proteína, nivel de fibra y nivel de nitrógeno no proteico, así como la presencia de compuestos tales como gossipol, fitatos o incluso de especias y saborizantes. (23 y 28)

8) Los valores de PER pueden afectarse también por los métodos usados en preparar las muestras a ser estudiadas. (28)

9) PER no puede usarse en el estudio de alimentos que contengan menos de un 10% de proteína. (29)

Lo más curioso del caso es que PER se sigue utilizando a nivel oficial en muchos países del mundo, incluso USA. La razón se puede deber a que aún no se ha encontrado ningún método oficial que sea totalmente eficaz.

b) C-PER y T-PER:

Estos dos métodos fueron desarrollados en la Universidad de Nebraska por Hsu, Sutton, Banjo, Satterlee y Kendrick en 1978. El primero, el bioensayo C-PER (PER computado), utiliza un perfil de aminoácidos esenciales (EAA) y datos de la digestibilidad de la proteína in-vitro para predecir la calidad de la proteína. Este modelo está diseñado para trabajar con muestras que tengan un PER de 0.67 a 3.22. El error estandar de este método es de +0.36 unidades PER. Los aminoácidos esenciales usados en este método son: Lisina, metionina + cisteína, treonina, isoleucina, leucina, valina, fenilalanina + tirosina y triptofano. Sus ventajas sobre el método de PER son:

- 1.- Puede dar resultados en 72 horas o menos y a un costo mucho menor que un PER normal.
- 2.- Es biológicamente explicable viendo que los factores usados para predecir la calidad proteica son precisamente su grado de digestibilidad proteica, así como su perfil de aminoácidos esenciales.
- 3.- Provee información del por qué el PER es alto o bajo indicando el grado de digestibilidad proteica y cuantificando el grado en el cual cada aminoácido esencial se encuentra limitante en la proteína.
- 4.- El nivel de proteína y/o de grasa en el alimento estudiado parece no tener efecto en los resultados. (30)

Algunas limitaciones de este método es que no puede predecir el grado de la digestión proteica in-vitro para alimentos tales como el huevo o la carne de res. (38)

El segundo método, T-PER, utiliza para su desarrollo un microorganismo, el *Tetrahymena thermophyla* y el uso de un ensayo de digestibilidad proteica in-vitro. Dentro de sus ventajas cuenta en que también se puede realizar antes de 72 horas y sus inconvenientes se basan en el hecho de que el microorganismo usado es difícil de controlar en un experimento en donde es afectada por varios aditivos alimenticios y especias, por lo cual, no se puede utilizar en alimentos donde su composición no sea perfectamente conocida. Ambos métodos utilizan cálculos matemáticos para su resolución. (30)

En la siguiente página, se comparan los resultados entre los valores del PER tradicional contra C-PER. Nótese que la mayoría de los valores coinciden en el resultado, o bien, son prácticamente iguales. Esto nos indica el grado de confiabilidad de este nuevo bioensayo. (30)

CUADRO #5: PER tradicional vs. C-PER.

MUESTRA	PER TRADICIONAL	C-PER.
Maiz	0.7	1.1
Harina de trigo	0.7	0.8
Leche deshidratada desgrasada	2.7	2.3
Soya	1.3	1.3
Proteína de levadura conc.	1.8	2.0
Huevo entero	3.2	2.7
Lactoalbúmina	2.4	2.4
Carne de pavo	2.6	2.7
Harina de trigo integral	1.2	1.3

A continuación se puede observar la comparación de resultados entre T-PER y PER tradicional. Obsérvese también la similitud entre los valores obtenidos: (30)

CUADRO #6: PER tradicional vs. T-PER.

FUENTE PROTEICA	PER TRADICIONAL	T-PER.
Harina de alta proteína	1.2	1.3
Soya natural	1.2	1.3
Harina de soya	1.6	1.7
Caséina (sigma)	2.5	2.3
Huevo completo (cocinado)	3.2	3.9
Proteína concentrada de frijol	1.0	1.4
Leche deshidratada desgrasada	2.7	2.4
Lactoalbúmina	2.3	2.0
Macarrones y queso	1.8	1.3

c) VALOR BIOLÓGICO (BV):

Este método fue realizado por Karl Thomas en 1909 (10) y el término denota la medida de la calidad proteica que es obtenida de un estudio animal en el que se determina el porcentaje de nitrógeno que es utilizado. La medición se expresa como el porcentaje del total ingerido que es retenido (10). Este parámetro (BV) es una expresión del nitrógeno que se retiene para el crecimiento, dividido entre el nitrógeno absorbido. Se determina por el equilibrio de nitrógeno y es aplicable tanto al hombre

como a los animales de laboratorio. Su formula es la siguiente: (3, 9 y 19)

$$BV = \frac{N \text{ ingerido} - (N \text{ fecal} + N \text{ urinario})}{N \text{ ingerido} - N \text{ fecal}} \times 100$$

Es evidente que los datos para tal cálculo pueden ser obtenidos mediante un experimento de balance de nitrógeno. El nivel de proteína ingerida debe ser suficiente para que haya un crecimiento que pueda ser indicado como un balance positivo; pero esta ingestión no debe exceder la cantidad necesaria para producir crecimiento máximo, pues una ingesta mayor sería catabolizada y excretada y se obtendría un valor biológico menor al real. (10)

En 1924, Mitchell modificó el método de Thomas (10) tomando en cuenta las pérdidas obligatorias (endógenas) de nitrógeno cuando los sujetos recibían una dieta desprovista de nitrógeno. La formula quedó como se muestra a continuación: (19)

$$BV = \frac{NI - (NF - NF \text{ end}) - (NU - NU \text{ end})}{NI - (NF - NF \text{ end})} \times 100$$

donde, NI = Nitrógeno ingerido.
NF = Nitrógeno fecal.
NU = Nitrógeno urinario.
NFend = Nitrógeno fecal endógeno.
NUend = Nitrógeno urinario endógeno.

El numerador representa la cantidad total de nitrógeno utilizado, incluyendo la parte usada en el mantenimiento y el crecimiento de los tejidos. Como en el denominador se resta el nitrógeno fecal endógeno del total del nitrógeno fecal, el Valor Biológico computado es el porcentaje del nitrógeno digerido que se está utilizando. (10)

Entre los problemas que encontramos, tenemos:

- a) Este método omite dos elementos: la poca digestibilidad de la proteína y la absorción incompleta de la misma. (19)
- b) Algunos individuos no consumen suficiente alimento en la dieta libre de nitrógeno como para suplir sus necesidades energeticas y por lo tanto, no se obtienen valores reales del nitrógeno endógeno. (10)
- c) El Valor Biológico solo se puede determinar cuando el animal carece

de nitrógeno y la ingesta de proteína es baja, de tal manera que el animal se encuentra en un balance de nitrógeno negativo o cercano. (27)

En base a las diferencias en este método, se denominó al ensayo de Thomas "Valor Biológico Aparente" para diferenciarlo del de Mitchell, ya que el de Thomas no incluye las pérdidas endógenas. (19)

A continuación se muestra el valor biológico de algunos alimentos comunes en la dieta diaria: (19)

CUADRO #7: Valor Biológico de varios productos.

ALIMENTO	VALOR BIOLÓGICO
Huevos de gallina	100
Leche de vaca	93
Arroz	86
Pescado	75
Carne de res	75
Maíz	72
Gluten de trigo	44

DI DIGESTIBILIDAD :

La medida de la digestión de proteína en la dieta y la absorción de aminoácidos son una parte integral de muchas determinaciones del valor nutritivo (9). Hay dos tipos de digestibilidad:

1.- Digestibilidad Aparente, que es el porcentaje de proteínas alimentarias que se digieren y absorben, siendo su fórmula: (19 y 21)

$$DA = \frac{\text{Nitrógeno Absorbido}}{\text{Nitrógeno Ingerido}} \times 100 = \frac{N \text{ ingerido} - N \text{ fecal}}{N \text{ ingerido}}$$

2.- Digestibilidad Verdadera, en donde se hace una corrección para compensar las pérdidas obligatorias de nitrógeno en un sujeto que sigue una dieta sin proteínas, siendo su fórmula: (9 y 19)

$$DV = \frac{I - (F - F \text{ endógena})}{I} \times 100$$

Por las heces se está eliminando continuamente nitrógeno que proviene de diferentes lugares: a) de la fracción de la proteína de la dieta que no es absorbida; b) de los jugos y secreciones digestivas; c) de las células descamativas del tracto intestinal y, d) de la flora intestinal. (31)

Para el estudio de la digestibilidad verdadera de las proteínas es necesario conocer exactamente el inciso a), o sea, la fracción de la proteína de la dieta que no es absorbida; pero el dato analítico obtenible de la experimentación animal se refiere al nitrógeno total eliminado por las heces, es decir, a la suma de a) hasta d). Cobra particular interés la cuantificación del nitrógeno que no proviene de la dieta y que constituye una pérdida inevitable aun en animales alimentados con dieta aprotéica, siendo esta pérdida llamada "nitrógeno endógeno fecal". (31)

A continuación se muestra la digestibilidad de algunos alimentos: (19)

CUADRO #8: Digestibilidad de alimentos varios.

ALIMENTO	DIGESTIBILIDAD
Huevos de gallina	99
Leche de vaca	77
Arroz	97
Pescado	98
Carne de res	99
Maíz	90
Harina de cacahuete	87
Gluten de trigo	99
Frijoles	73

e) UTILIZACION NETA DE PROTEINAS (NPU):

Este método fue ideado por Miller y Bender (10), siendo la proporción del nitrógeno de origen alimentario que se retiene en el cuerpo (19). Su fórmula es la siguiente:

$$NPU = \frac{A + B - C}{I}$$

donde, A = Nitrógeno del hígado de cada dieta problema por el peso del animal.

B = Nitrógeno del hígado de la dieta libre de nitrógeno por el peso del animal.

C = Nitrogeno ingerido en la dieta libre de nitrogeno.
I = Nitrogeno ingerido en la dieta problema. (19)

Por lo tanto, la fórmula de NPU se puede reescribir de la siguiente manera:

$$NPU = \frac{\text{Gramos de nitrogeno retenido}}{\text{Gramos de nitrogeno ingerido}} \times 100$$

La retención de nitrogeno se mide mediante estudios sobre el equilibrio del nitrogeno o por analisis directo del cuerpo del animal (19). Cuanta mas alta sea la calidad de la proteína, mayor será la cantidad de ella que se destine a procesos anabólicos. Por tanto, se retendrá mayor proporción de nitrogeno y también, la utilización neta de proteínas será mas alta. Así, el organismo retiene aproximadamente 94% del nitrogeno procedente de un huevo y apenas 61% del procedente de soya. Como usa mayor proporción de proteínas de huevo para fines de síntesis, éstas son de mayor calidad. (2)

NPU se determina experimentalmente en un tiempo corto (10 días), alimentando ratas destetadas (32). Entre los principales problemas encontrados tenemos:

- a) Aparentemente, el valor de NPU tiende a disminuir con la edad del animal, debido a que el peso aumenta para un descenso dado de intervalos con el tiempo (o la edad). En otras palabras, la aparente retención de nitrogeno tiende a aproximarse a cero con el tiempo. (22)
- b) Hay que realizar la determinación de nitrogeno en el carcass y esto, resulta costoso y difícil. (33)
- c) Si se desea aplicar NPU a estudios con humanos, se deben tomar en cuenta con mucho cuidado un gran número de factores que pueden alterar el resultado. (21)

Y por otra parte, entre las ventajas de este metodo, podemos encontrar:

- a) Es un metodo rápido, ya que utiliza solo 10 días para la realización del experimento y esto, también disminuye el costo del mismo. (32)
- b) Pueden obtenerse un gran número de datos en un periodo corto y con un mínimo de mediciones. (10)
- c) En muchos casos, el análisis de nitrogeno en el carcass completo no es necesario, ya que basta con practicar éste en una pata, con excelente correlación entre ambos, tanto en lo que concierne al contenido de nitrogeno como al calculado a partir del NPU. (33)

f) BALANCE DE NITROGENO (BN):

El método comunmente usado para evaluar la calidad proteínica en seres humanos jóvenes o adultos, es el de Balance Nitrogenado o Balance de Nitrogeno. Este mide de una manera indirecta la cantidad de nitrogeno depositado en el organismo. (34)

Por definición, BN es la diferencia entre el nitrogeno dietetico ingerido (I) y el nitrogeno excretado:

$$NB = I - (U + F)$$

donde, U es el nitrogeno urinario y F el nitrogeno fecal. Si la ingesta de nitrogeno (I) es igual al nitrogeno excretado (U + F), entonces el animal ni gana ni pierde nitrogeno y se dice que está en equilibrio. Si la ingesta de nitrogeno es mayor que la excreta, entonces el animal está almacenando nitrogeno y el balance es positivo. Si la ingesta es menor que la excreta, entonces el animal tiene un balance negativo y está perdiendo nitrogeno del propio cuerpo. (9)

El Balance de Nitrogeno es la suma de las ganancias y pérdidas de todos los tejidos del cuerpo, por lo cual es posible para un animal tener un balance positivo y a la vez, estar perdiendo nitrogeno por uno o más tejidos, como en el caso de un animal con cancer. (9)

Por lo tanto, este método rinde valores altos, debido posiblemente a que no mide todas las pérdidas de nitrogeno; estas pueden ocurrir por el sudor, por los gases de la respiración, gases intestinales y por otras vías y causas (34), como se manifestó en el párrafo anterior.

g) PROTEINA MINIMA (PM):

Este método, elaborado por Melnick y Cowgill, se basa en un procedimiento cuantitativo que determina la cantidad mínima de nitrogeno necesario para mantener el equilibrio de nitrogeno. (9)

Los autores de este método determinaron este valor mínimo trazando los valores de Balance de Nitrogeno (BN) en la región del equilibrio de nitrogeno, interpolando al punto de equilibrio exacto. Reconocieron que las variaciones de su método están asociadas con el aumento y descenso de las reservas proteínicas y con la magnitud del catabolismo del tejido proteico. (9).

n) VALOR NUTRITIVO RELATIVO (RNV):

Inatisfechos con el método de Relación de Eficiencia Proteica (FER), Hegsted y Chang idearon en 1965, un ensayo de proporción inclinada ("slope-ratio") en el cual la potencia relativa de la proteína estudiada debería ser expresada como el resultado de la inclinación de la curva dosis-respuesta (que es, peso ganado por unidad de proteína consumida) con la inclinación de la curva dosis-respuesta para la proteína de referencia, en este caso lactoalbúmina. El valor resultante fue denominado Índice Relativo de Crecimiento (RGI) y posteriormente, cambiado a Valor Nutritivo Relativo (RNV). (20)

Frente fue aparente que una de las suposiciones en la cual estaba basado el ensayo era incorrecta. Esta fue que todas las líneas inclinación-respuesta son lineales y tienen una intersección común. Las desviaciones de linealidad ocurren básicamente con proteínas de baja calidad, como las deficientes en Lisina. (20)

El método fue subsiguientemente modificado para eliminar el uso de una dieta libre de nitrógeno y hoy es referido como Valor Proteico Relativo (RPV). (20)

1) VALOR PROTEICO RELATIVO (RPV):

Este método, modificado por Hegsted y asociados en base a los resultados obtenidos con el ensayo de Valor Nutritivo Relativo (RNV), ha sido considerado por sus diseñadores técnica y metodológicamente superior a otros procedimientos de evaluación de la calidad proteica. (25)

Se trata, como el anterior, de un ensayo de dosis-respuesta, que se basa en obtener datos a partir de gráficas de respuesta vs. ingesta. Este método cumple con muchas de las condiciones de un buen bioensayo; particularmente, en lo relacionado con el criterio de precisión, reproducibilidad, validez estadística y proporcionalidad. (21)

Un ensayo colaborativo (Hegsted y Semonds, 1978) utilizando siete diferentes proteínas, realizado a su vez por siete diferentes laboratorios, mostró que el método RPV fue superior a Relación de Eficiencia Proteica (FER) y Relación Neta Proteica (NPR) (21). Por tanto, los autores han podido concluir que para los estudios realizados con ratas, RPV es el mejor método para la evaluación de la calidad proteica. (20)

A estas alturas, es bueno recordar que el último propósito de los bioensayos para la determinación de la calidad proteica, no es estudiar la

nutrición de la rata de laboratorio, sino el valor para el hombre u otro animal que pudiera consumir esta proteína. (21)

J) UTILIZACION DE NITROGENO RELATIVA (RNU):

Este método, desarrollado por J. Murray McLaughlin en 1976, es una modificación del método de Relación de Eficiencia Proteica (FER). En este método, la realidad de la proteína problema se expresa como un porcentaje del valor de la lactoalbúmina, que es la proteína de referencia. Para proteínas de buena calidad, RNU da resultados similares a aquellos obtenidos por Relación Proteica Neta (NPR) y Valor Proteico Relativo (RPV); para aquellas proteínas de baja calidad, los resultados del RNU caen entre los valores obtenidos por los dos métodos anteriores. (36)

Para calcular este método, primero se ha de obtener la Utilización de Nitrógeno (NU), usando la siguiente fórmula:

$$NU = \frac{\text{Incremento de peso (g)} + 0.1 (\text{Peso inicial} + \text{Peso final})}{\text{Nitrógeno consumido (g)}}$$

Posteriormente, RNU se calcula de la siguiente manera:

$$RNU = \frac{\text{NU para la proteína estudiada}}{\text{NU para lactoalbúmina}} \times 100 \quad (36)$$

En la siguiente página, se presenta una comparación entre los valores de Relación de Eficiencia Proteica (FER), Relación Neta de Proteína (NPR), Valor Proteico Relativo (RPV) y Utilización Relativa de Nitrógeno (RNU) para 15 muestras, en donde la lactoalbúmina es la proteína de referencia. (36)

Se puede observar como las cuatro medidas de la calidad proteica fueron similares para las proteínas de alta calidad (p.e., valores de FER mayores o iguales a 80). Las diferencias entre los métodos fueron más obvias para proteínas de calidad pobre como la harina blanca, la proteína del chicharo y el gluten de trigo. (36)

CUADRO 49: Comparación entre diferentes métodos biológicos.

FUENTE PROTEICA	PER	NPR	RPV	RNU
Cereal A + leche	86	90	95	89
Chicharo + Metionina	85	86	83	86
Caseína	83	88	84	87
Cereal B + leche	80	86	87	84
Carne de res (sin grasa)	68	77	74	74
Soya 1	68	73	74	72
Soya 2	67	71	70	71
Chicharo + Metionina 2	58	69	68	67
Cereal C + leche	57	69	67	66
Arroz	47	68	70	64
Harina Blanca	23	45	31	41
Proteína del chicharo	19	47	36	44
Gluten de trigo	5	37	23	30

—i ser RNU un método modificado de la relación de Eficiencia Proteica (PER), es conveniente resaltar algunas ventajas y diferencias entre ambos métodos:

1.- La principal ventaja de PER es que es un bioensayo de una dosis, al igual que RNU, pero este es más preciso y se ve menos afectado por el nivel de lípidos o proteínas en la dieta.

2.- PER subestima la calidad de ciertos cereales y leguminosas, en tanto que RNU da resultados realistas.

3.- La duración de RNU es de 14 días, la mitad de lo que emplea el PER. (26).

K) RELACION NETA PROTEICA (NPR):

En 1957, Bender y Doell modificaron el método de Relación de Eficiencia Proteica (PER) al incluir una concesión para el mantenimiento. Esto fue hecho al adicionar el peso perdido de un grupo de ratas alimentadas con una dieta libre de nitrógeno, a la ganancia de peso de los animales de la dieta en estudio y luego, dividiendo la suma por la cantidad de proteína consumida. El resultado fue denominado Relación Neta Proteica (NPR). (20)

NPR es prácticamente idéntico al método de Utilización Neta Proteica (NPU), pues ambos miden retención de nitrógeno en base al porcentaje de proteína encontrada en el carcass. (20 y 21)

Las principales diferencias entre PER y NPR son las siguientes:

- 1.- PER no da crédito o importancia a la proteína requerida para el mantenimiento, mientras que NPR sí lo hace.
- 2.- PER emplea 28 días para su realización, en tanto que NPR sólo necesita de 10 a 14 días.
- 3.- PER es usualmente corregido para un valor estándar de 2.50 en el caso de la caseína, mientras que NPR no lo necesita. (20)

La fórmula para calcular NPR es la siguiente:

$$\text{NPR} = \frac{\text{A} + \text{B}}{\text{I}}$$

donde, A = Ganancia de peso (g).

B = Pérdida de peso de la dieta libre de nitrógeno (g).

I = Proteína ingerida (g). (20)

1) PORCENTAJE CALORICO EN UNA DIETA PROTEICA NETA (NDpCals%):

Este método, desarrollado en 1951 por Platt, Miller y Payne se basa, según los autores, en que las dietas tienen un mismo valor proteico cuando estas tienen la misma cantidad de calorías totales en base al NDpCals%. Este valor se obtiene multiplicando la Utilización Neta Proteica Operativa (NPU op), determinada experimentalmente al alimentar ratas destetadas durante 10 días, por la concentración de proteína en la dieta, expresadas como el porcentaje total de calorías proteicas (P%), de tal manera que:

$$\text{NDpCals\%} = \frac{\text{NPU op} \times \text{P\%}}{100}$$

(15)

m) INDICE DE NITROGENO / CRECIMIENTO (INC):

Este método, propuesto en 1945 por Allison y Anderson, relaciona la tasa de crecimiento del animal con la ingesta de nitrógeno, existiendo una respuesta lineal entre ambos parámetros cuando la ingesta de nitrógeno es baja. La relación se ajusta a la ecuación:

$$Y = a + bX$$

donde, Y = Peso del animal.

a = Cambio de peso cuando la dieta no contiene nitrógeno.

b = Tasa de cambio entre la ganancia ponderal y el nitrógeno o proteína ingerida, o sea un índice de utilización proteica.

x = Ingesta de alimento. (29)

En la práctica, es factible derivar esta relación valiéndose de una serie de dietas cuyo contenido proteico sea de 0% hasta el máximo posible, determinado por la concentración proteínica en el alimento. Básicamente, el método constituye una adaptación del índice de Balance Nitrogenado, con la diferencia de que en vez de medir la retención de nitrógeno, mide el aumento en peso, o bien el nitrógeno depositado en el organismo animal. (29)

n) METODO DE SACIEDAD PROTEICA (RRM):

Este método, ideado por Cannon, Benditt, Wisler y asociados, se basa en la determinación rápida, fiel y útil del valor nutritivo de una proteína vaciando primero las reservas proteicas de una rata adulta, después, volverlas a llenar del todo. Esto se realiza en un tiempo de 24 días, doce de ellos para vaciar las reservas y doce para llenarlas. (9)

Este método no ha sido útil solo para la determinación del valor nutritivo de alimentos naturales y el efecto del procesamiento industrial sobre este, sino que también ha sido de gran utilidad en el estudio de problemas básicos en la nutrición proteica. (9)

MÉTODOS QUÍMICOS:

Una vez vista la mayoría de los métodos biológicos para determinar la calidad de una proteína, no sería justo acabar este capítulo sin dar una revisión a los métodos químicos, los cuales nos pueden dar una indicación adecuada del valor proteico de un alimento.

a) PROTEINA TOTAL:

La Proteína Total de una muestra es siempre ensayada químicamente, por lo general gracias al método Kjeldahl (AOAC, 1975), donde el valor de la calidad es obtenido posteriormente gracias a bioensayos o procedimientos químicos. (21)

El principio básico del método Kjeldahl es la conversión del nitrógeno de

las substancias nitrogenadas en amonio, hirviendolas en ac. sulfúrico concentrado. El material orgánico se oxida a dióxido carbónico y agua; el ac. sulfúrico se convierte en dióxido sulfúrico y el nitrógeno se fija en forma de sulfato de amonio, a menos que el nitrógeno esté presente en forma de derivados, -azo ó -nitro. La cantidad de sulfato de amonio se determina agregando un exceso de hidróxido de sodio, destilando amonio liberado para convertirlo en una sal con un ácido estandar y titulando el exceso con un alcali estandar (37). De esta manera y mediante cálculos posteriores se puede conocer la cantidad de nitrógeno metabólico en heces e hígado.

Hay que tomar también en cuenta que el nitrógeno de los alimentos puede encontrarse en formas adicionales, aparte de la proteína. Tal es el caso de aminoácidos libres o péptidos que pueden ser usados para la síntesis proteica. Sin embargo en la practica, los ensayos de proteína, con ciertas excepciones para productos tales como las proteínas de células sencillas que tienen altos niveles de ácido nucleico nitrogenado, son evaluados y expresados en forma de proteína cruda. Esta, para ser calculada, necesita de un factor numérico (6.25), el cual puede variar de acuerdo a algunos alimentos específicos. Por lo tanto, la Proteína Cruda se obtiene de la siguiente forma:

$$PC = N \times 6.25 \quad (21)$$

b) ANALISIS DE AMINOACIDOS:

Una comparación de la distribución cuantitativa de los aminoácidos esenciales en un alimento con las cantidades relativas necesarias por el cuerpo por unidad de alimento, provee un metodo para estimar la calidad proteica. Como una medida de la calidad de la proteína dada, Mitchell y Block diseñaron una clasificación química de la composición de aminoácidos basada en los aminoácidos esenciales en mayor déficit en una proteína comparada con la proteína del huevo como referencia, ya que esta tiene el mayor valor biológico. En general, había una gran cercanía entre estos valores y el valor biológico determinado para el crecimiento. Más adelante, Osler diseñó una medida similar basada en la contribución que la proteína hacía de todos los aminoácidos esenciales, principalmente en aquellos que estaban en mayor deficiencia. Nombró a esta medida Índice de Aminoácidos Esenciales (EAAI). Encontró que estos índices estaban altamente correlacionados con los valores biológicos. (10)

Osler señala que el EAAI es útil como un instrumento para la predicción del valor biológico en el sentido en que permite hacer estimaciones para combinaciones de proteínas o para proteínas suplementadas con aminoácidos.

Nota, sin embargo, que el método se basa en la suposición de que los aminoácidos determinados en el alimento están disponibles en ese momento para el animal y que los factores que imparten el grado de digestión y absorción y, por tanto, la disponibilidad, limitan la utilidad de este método para la fuente proteica en cuestión. Un ejemplo de esto, lo representen las proteínas dañadas por el calor. (10)

Existen otras formas de realizar el análisis de aminoácidos, pudiéndose encontrar las siguientes:

1.- Cromatografía con intercambio iónico, siendo el método más utilizado para este análisis. La mayoría de los analizadores comerciales disponibles están basados en el procedimiento de Spackman y asociados (1958). El equipo moderno actual puede ser automatizado para incluir la carga secuencial de muestras y la regeneración de las columnas, esto junto con la integración el área de los picos y el cálculo directo de los resultados al usar una computadora.

2.- Cromatografía gas - líquido, la cual requiere la conversión cuantitativa de los aminoácidos a derivados volátiles como el hidroxácido metil éster, trimetil silano éster y el n-butilo-N-trifluoro acetyl éster.

3.- Ensayos microbiológicos, los cuales pueden ser extremadamente útiles cuando no se dispone de los métodos anteriores o cuando se busca un solo aminoácido en grandes cantidades en una muestra. (21)

Desafortunadamente, estos métodos están en cierta manera limitados y no son muy usados debido a que no toman en cuenta la digestibilidad y la disponibilidad de dichos aminoácidos, así como tampoco nos informan acerca de la calidad de los mismos o la presencia de factores tóxicos, pudiéndose también presentar un imbalance de aminoácidos al no referirnos a un mismo patrón de referencia. (20)

PROBLEMAS DE INTERPRETACION DE RESULTADOS:

Si no tomar en cuenta que hemos sobreenfatizado la importancia de la calidad proteica en relación a la desnutrición proteica-energética mundial, existe un considerable número de problemas todavía, tanto en metodología como en interpretación, que no han sido resueltos.

Pensemos en un bioensayo proteico. Aún cuando usamos el procedimiento que reúna gran parte de los criterios deseados, este es solo una parte de la información necesitada para calcular el valor general de esa proteína. Supongamos que obtuvimos un valor bajo; este solo indicaría el valor de la

proteína cuando es ingerida como la única fuente de proteína en una dieta de bajo nivel. No obtendríamos información acerca de su aminoácido limitante o si el valor bajo fue debido a una baja digestibilidad o a un patrón pobre de aminoácidos. Posteriormente, no tendríamos una indicación de si la proteína pudiera ser un excelente suplemento proteico cuando se combina con otras proteínas en la dieta o bien, indicios de cómo la proteína se comportaría cuando el consumidor no fuera ya una rata joven en crecimiento. (21)

La salud, el estado nutricional, la edad y las condiciones fisiológicas del individuo que consume la proteína, junto con la composición total de la dieta, incluyendo otras proteínas y el valor energético total, pueden combinarse e interactuar para afectar el valor final de la proteína consumida. (21)

Debido a estas interrelaciones complejas, tal vez estamos siguiendo la pista errónea en el intento de usar bioensayos (tanto para humanos como animales), como un criterio de referencia para determinar la calidad proteica. Podría ser argumentado que como cada componente dietético consumido junto con una fuente proteica y las circunstancias individuales del consumidor afectan la calidad medida, un valor absoluto y real de la calidad proteica bajo todas las circunstancias anteriores es una meta inalcanzable, y que la investigación para dicha técnica es regresiva en vez de progresiva. Si este argumento es cierto, tal vez deberíamos concentrarnos en definir ciertas características de las proteínas, como el nitrógeno total, la composición asequible de aminoácidos totales y la digestibilidad como un criterio de calidad. Estos valores, aunque no son absolutamente constantes, se acercan más a ello que las respuestas biológicas. Una proteína deficiente en lisina, se mantiene deficiente de ella sin importar que un animal que consume dicha proteína sea capaz de adaptar y reutilizar la lisina más eficientemente en un periodo corto. Es similar también a las consideraciones del contenido de hierro (Fe) en una dieta que se mantiene constante sin tomar en cuenta el grado de absorción o de utilización que pueda producirse. (21)

El criterio basado únicamente en la proteína debe, por supuesto, ser modificado en la práctica por consideraciones biológicas y dietéticas. Sin embargo, si continuamos definiendo la calidad obtenida por un bioensayo como Relación de la Eficiencia Proteica (PER) o incluso Valor Proteico Relativo (RPV) como el valor "correcto" y las determinaciones químicas como "incorrectas" si no se asemejan al valor obtenido del bioensayo, los problemas de calidad proteica nunca serán resueltos. (21)

NECESIDADES DE LA INDUSTRIA:

Lo que la industria necesita es un método rápido y barato para medir el valor biológico de una proteína que sería correlacionada con los resultados obtenidos por un método oficial. Se han descrito en la literatura bastantes, pero ninguno de estos es válido para las necesidades de la industria. Entre estos métodos podemos encontrar: nuevos métodos químicos y microbiológicos, medición de aminoácidos contenidos en sangre de humanos alimentados con la proteína problema, etc. (38)

Para que un método sea aceptable, debe cumplir con los siguientes requisitos:

- 1.- Ser rápido, tomando menos de 48 horas para su realización.
- 2.- Ser razonablemente fiel y reproducible.
- 3.- Estar correlacionado con el método de la AOAC, Relación de la Eficiencia Proteica (PER).
- 4.- Ser barato.
- 5.- Ser lo suficientemente simple como para ser usado en un análisis de rutina a un nivel técnico.
 - a.- Ser aplicable a un extenso rango de alimentos procesados complejos, ya que hay un sinnúmero de factores en estos, como bajo nivel proteico, presencia de carbohidratos, alto contenido de grasas, humedad y fibra cruda, etc. que pueden afectar a métodos como PER. (38)

Sin embargo, hasta el momento, no hay un procedimiento único para determinar la eficiencia proteica o el valor biológico que sea el mejor para todos los propósitos. Un método puede proveer gran parte de la información específica sobre un parámetro buscado y al mismo tiempo, ser deficiente en la información obtenida sobre otro aspecto en la práctica. (10)

MANEJO DE ANIMALES DURANTE UN ESTUDIO BIOLÓGICO:

Las ratas utilizadas deben ser colocadas en jaulas metálicas individuales de un tamaño estándar (33 cm x 20 cm x 18 cm) con puertas de malla. Deben tener un ciclo luz / oscuridad de 12 / 12 horas, con una temperatura de 24 +/- 1 grado C, y una humedad relativa del 50 +/- 10%. Se recomienda que los animales pasen un período de aclimatización durante el cual deben consumir una dieta balanceada comercial. Los animales deben ser asignados al azar por su peso en grupos basándose en cualquier método disponible, como el de la culebra u algún otro. (28)

Al principio y final del periodo experimental, así como una vez a la semana mínimo, los animales deben ser pesados hasta el gramo más cercano, y el alimento consumido de la dieta debe ser cambiado. El alimento desechado, el que se cayó del comedero y el nuevo reemplazado deben ser estimados lo más exactamente posibles cada vez que se cambia el alimento. Se recomienda usar comederos de cerámica, aunque también se pueden utilizar los de vidrio o metálicos. (28)

Se recomienda pesar los animales lo menos una vez a la semana durante el experimento, para poder calcular los métodos biológicos que se elijan, como FER, NPU, etc. (28)

SUGESTIONES PARA MEJORAR LA METODOLOGIA NUTRICIONAL (DIETAS):

1.- Los requerimientos nutricionales del animal estudiado deben ser tomados siempre en cuenta, particularmente en relación a cualquier necesidad fisiológica especial (por ejemplo, reproducción).

2.- Todos los nutrientes, excepto aquellos que estén bajo consideración deben ser incluidos. Deberían ser incluidos grupos de control adecuados.

3.- Factores como la edad y sexo del animal, condiciones de alojamiento y limpieza, y el periodo de ingesta debe recibir la atención adecuada.

4.- Las dietas deben ser preparadas cuidadosamente.

5.- Las dietas comerciales deben ser usadas con gran cautela y criticándolas, si es necesario.

6.- En estudios de deficiencia nutricional, debe ser necesario checar el estado nutricional del animal y verificar el análisis nutricional de la dieta.

7.- En sus trabajos de investigación, los investigadores deben de dar detalles concisos y no ambiguos de todas las dietas experimentales y las técnicas nutricionales. (39)

5. - ELABORACION DE QUESOS:

a) CARACTERISTICAS PRINCIPALES DE LOS QUESOS:

Los quesos son una forma de conservación de los dos componentes insolubles de la leche: la caseína y la materia grasa. Se obtienen por la coagulación de la leche seguida del desuerado, en el curso del cual el lactosuero se separa de la cuajada. El lactosuero contiene la mayor parte del agua y de los componentes solubles de la leche, quedando aprisionada una pequeña parte en la cuajada. La definición legal del queso precisa que "el producto puede estar o no fermentado"; de hecho experimenta por lo menos una fermentación láctica. El queso descremado se obtiene a partir de leche descremada. (40)

El queso es un alimento universal, que se produce en casi todas las regiones del globo a partir de leche de diversas especies de mamíferos. Los quesos se encuentran entre los mejores alimentos del hombre, no solamente en razón de su acusado valor nutritivo (materias nitrogenadas bajo diferentes formas, materias grasas, calcio, fósforo, etc), sino que también en razón de las cualidades organolépticas extremadamente variadas que poseen, ya que la variedad es fuente de placer. (40)

La gran variedad de quesos se explica por dos hechos esenciales:

1.- La naturaleza de la leche. Las pequeñas diferencias en la composición, independientemente de las diferencias existentes entre leches de especies o de razas diferentes, tienen repercusiones sobre las propiedades del queso.

2.- Las formas de preparación. Presentan una diversidad cuyos límites son difíciles de fijar. Antes se determinaban por las condiciones climatológicas, geográficas, económicas e históricas. El progreso técnico y el desarrollo de los medios de comunicación han modificado estas condiciones; sin embargo, algunos tipos de quesos permanecen aún hoy día ligados a una región y no se fabrican, o se fabrican en escasa proporción, en otros lugares. (40)

Las formas de preparación diversifican los quesos por la influencia que tienen sobre la estructura y sobre las fermentaciones:

1.- Los quesos tienen un armazón de paracaseinato de calcio; su estructura depende de la forma de coagulación, del desarrollo de la acidez, de la cantidad de agua retenida, de la proporción de la materia grasa y del grado de proteólisis, que le hace perder su rigidez.

2.- Las posibilidades de fermentación de la caseína y de la materia grasa son diversas. Su relación depende de un conjunto de condiciones fisicoquímicas y de las enzimas presentes. El aspecto de los quesos y su sabor se deben principalmente a la actividad de los microorganismos y a las fermentaciones que experimentan la caseína, la materia grasa y la lactosa que queda en la cuajada. (40)

b) CASEINA:

Las caseínas son un conjunto de polipeptidos sintetizados en la glándula mamaria de la vaca, que forman la fracción proteica más importante de la leche, ya que suman hasta 85% de las proteínas totales. Las caseínas pertenecen al grupo de las gluco-fosfoproteínas y por definición, son las proteínas de la leche que precipitan a pH 4.6 a 20 grados C. La estabilidad de las caseínas se altera fácilmente a valores de pH bajos y por la presencia de cationes divalentes, pero son estables a la mayoría de los tratamientos térmicos empleados. Existen principalmente en la leche como micelas, que son complejos proteicos solubles con un alto grado de organización estructural y estabilizadas por una fuerte interacción a través de puentes hidrófobos, de hidrógeno, iónicos y de calcio. Una fracción muy pequeña se encuentra en estado libre dispersa en el suero. (41)

Las micelas están constituidas por cuatro fracciones de caseínas: alfa, beta, capa y gama (clasificadas de acuerdo con su movilidad electroforética) y se encuentran en una proporción de 55, 25, 15 y 5%, respectivamente. Existen variantes genéticas de las caseínas en algunas razas lecheras, cuya diferencia fundamental se debe generalmente a la sustitución de unos cuantos aminoácidos en la secuencia de su estructura primaria. Cabe mencionar que la caseína gama tiene una secuencia de aminoácidos muy similar a una parte de la molécula de caseína beta, y por tanto se considera que la gama es el resultado de una degradación o una síntesis incompleta de la fracción beta. La estructura primaria o secuencia de aminoácidos de las distintas caseínas y de alguna de sus variantes son bien conocidas. (41)

En la siguiente página se pueden algunas características y propiedades de las principales proteínas de la leche: (41)

CUADRO N10: Características y propiedades de las proteínas lácteas.

PROTEINA	LOCALIZACION	CARACTERISTICAS Y PROPIEDADES
Caseína alfa	Micelas y en suero	199 aminoácidos, 7 fosfoserinas, alto contenido de prolina, sensible al calcio, no tiene cistina, resistente a la desnaturalización
Caseína beta	Micelas y en suero	209 aminoácidos, 5 fosfoserinas, alto contenido de prolina, sensible al calcio, resistente a la desnaturalización
Caseína capa	Micelas y en suero	169 aminoácidos, una fosfoserina, alto contenido de prolina, tiene 2 cisteínas, insensible al calcio sensible a la acción de la renina resistente a la desnaturalización
Caseína gama	Micelas y en suero	180 aminoácidos, una fosfoserina, no se sabe si se sintetiza "de novo" o son fragmentos de la caseína beta como resultado de una proteólisis
Beta Lacto-globulina	Suero	Contiene 2 cistinas y una cisteína muy reactiva por monómero, se encuentra en forma de dímero unido no covalentemente
Alfa Lacto-	Suero	Contiene 4 cistinas, alta en triptófano, tiene actividad biológica en la síntesis de la lactosa

La caseína es un subproducto láctico fabricado en grandes cantidades en algunas regiones mantequeras. Su fabricación consta de cuatro fases:

- 1.- Precipitación de la cuajada que puede hacerse de tres formas:
 - Coagulación por el cuajo, como los quesos de pasta cocida;
 - Coagulación resultante de la fermentación láctica;
 - Floculación por la adición de ácidos (clorhídrico, acético, etc).
- 2.- Calentamiento para formar los gránulos de caseína, seguidos de lavados con agua. El calentamiento tiene lugar a una temperatura entre 60 y 65 grados C para la caseína precipitada gracias al cuajo; una temperatura

algo mayor para caseína obtenida por fermentación láctica y mucho menor, para una caseína producida por ácidos.

3.- Desuerado por presión, trituración.

4.- Secado por aire caliente y, por último, molienda. (40)

Algunas aplicaciones de la caseína dependen de su forma de fabricación:

1.- La caseína al cuajo (más concretamente el fosfocaseinato de calcio) tiene cualidades plásticas y puede dar geles. La caseína "al cuajo" se emplea en charcutería, donde actúa como ligante, especialmente para la fabricación de salchichas.

2.- La caseína "láctica" y la caseína "al ácido" pueden disolverse en el agua con la ayuda de productos alcalinos, formando soluciones viscosas cuyo empleo principal es como colas. Cuando la solución contiene calcio, la cola es irreversible y puede utilizarse en la fabricación de madera contrachapada. El encolado de tejidos, la fabricación del "papel couché" y las pinturas a la cola, constituyen importantes salidas para la caseína. En la actualidad, se la utiliza también mezclada con materias plásticas. (41)

La caseína y los caseinatos proveen una excelente solubilidad y funcionalidad a productos alimenticios que tienen un pH alcalino y concentraciones bajas de calcio. Por ejemplo, son muy usados para producir emulsificación de grasa, expansión de espuma, viscosidad, gelatinización, texturización, estabilidad térmica y estabilidad socante en aquellos alimentos que cumplan las condiciones arriba mencionadas. (42)

Una calidad de caseína muy pura, precipitada con ácido sulfúrico se ha empleado en la fabricación de una fibra textil llamada "lanital". (40)

Los diversos tipos de caseína también se utilizan en la alimentación; aparte de la fabricación de ciertos productos de charcutería, también la panadería, confitería (caramelos), la preparación de mezclas farináceas, etc. sacan partido de las propiedades nutritivas de la caseína. (40)

La producción anual mundial de caseína es de aproximadamente, 485 - 498 millones de libras, la mayoría siendo manufacturada en Nueva Zelanda y Australia (176 millones de libras), la Comunidad Económica Europea (238 millones de libras) y Polonia (66 millones de libras). (42)

En la siguiente página se muestra el cuadro #11. En éste, se puede observar la utilización de caseína en los Estados Unidos, en 1980: (42)

CUADRO #11: Utilización de caseína en USA (1980).

APLICACIONES	CANTIDAD		
	Libras (millones)	Ton. Métrica (miles)	% del Total
No alimentarias:			
Industrial	16.6	7.5	13
Áreas médicas	9.4	4.3	7
Comida Mascotas	5.3	2.4	4
Alimento animal	20.6	9.3	16
Total	51.9	23.5	40
Alimentarias:			
Imitación de quesos	41.9	19.0	33
Crema de café	12.3	5.6	10
Fanadería	11.4	5.2	9
Fofores preparados	6.8	3.1	5
Otros	3.8	1.7	3
Total	76.2	34.6	60
Total general	128.1	58.1	100

c) ELABORACION DE QUESO FRESCO (PANELA):

Los quesos frescos se comercializan y se consumen en estado fresco, es decir, sin que estos hayan experimentado un proceso de maduración. Estos quesos tienen un elevado contenido acuoso que oscila entre 50 y 80%. A causa de esta humedad, esta clase de queso no se conserva durante mucho tiempo. Además, por la falta de un proceso de maduración, es preciso pasteurizar la materia prima porque cuando los gérmenes patógenos están presentes, pueden desarrollarse en el producto elaborado. (43)

Por lo general, los quesos frescos se obtienen por una coagulación ácida. Esta puede ser pura, como en el caso del queso blanco, o con la ayuda del cuajo. La acción del cuajo en tal caso va solamente del 5 hasta el 30% de la coagulación. Se adiciona el cuajo para acelerar la coagulación de la caseína y para consolidar el coágulo que reduce las pérdidas de proteínas y mejora el rendimiento, pero la cantidad de cuajo debe ser pequeña pues la cuajada típicamente enzimática no es deseable en queso fresco. (43)

Los pasos que se siguen para su elaboración son los siguientes:

- 1.- Pasteurizar la leche a 63 grados C durante 30 minutos, moviendo constantemente para homogeneizar.
- 2.- Añadir cloruro de calcio (0.2 g/lit) y enfriar a 36 grados C. El cloruro de calcio se añade con el fin de aumentar el rendimiento del cuajo obtenido.
- 3.- Agregar 2% de cultivos lácticos, manteniendo la temperatura a 36 grados C durante 10 a 15 minutos.
- 4.- Adicionar el cuajo (0.5 ml/lit de leche). Mantener la temperatura a 36 grados C sin mover. Dejar reposar de 15 a 20 minutos, hasta que se forme el coágulo.
- 5.- Cortar la cuajada en cubos de 1 cm, aproximadamente. Dejar reposar 10 minutos.
- 6.- Eliminar la mitad del suero.
- 7.- Preparar una solución al 3% de sal; adicionarla poco a poco al queso hasta obtener un sabor agradable al gusto.
- 8.- Colocar el queso sobre un pedazo de manta de cielo. (44)

d) ELABORACION DE QUESO OAXACA:

El queso Oaxaca es un queso originario del país, de pasta cocida e hilada. En su elaboración, la cuajada se efectúa con ácidos orgánicos o mezclas de leche ácida y fresca, en condiciones definidas de tiempo y temperatura. Es un queso cocido debido a que su cuajada se eleva a temperaturas altas durante el proceso de elaboración, lo que le da su consistencia elástica. La característica principal estriba en la forma de mensla o torta con que es presentado. Este queso posee un alto contenido en calcio y retinol. (45)

Los pasos para su elaboración son los siguientes:

- 1.- Se toman 2 lit de leche bronca con una acidez de 0.16 a 0.18%
- 2.- Se pasteuriza la leche a 63 grados C por 30 minutos o a 72 grados C por 16 segundos. Se enfría la leche a 32 grados C y se adiciona del 1 al 2% de cultivo láctico.
- 3.- Se adiciona 0.2 g/lit de cloruro de calcio. Se adicionan 0.4 ml de cuajo 1:10 000 y se agita en forma circular hasta su perfecta incorporación.
- 4.- Se mide el lapso entre la adición del cuajo y el inicio de la coagulación. Suponiendo que fueran 15 minutos, se puede estimar que el tiempo de coagulación será de $15 \times (2) = 45$ minutos, o sea, el tiempo que debe transcurrir antes de cortar la cuajada.

5.- Se corta la cuajada en cubos de 1 cm cubico y se agita suavemente. Se deja reposar 15 minutos o hasta que la acidez llegue a 0.36% .

6.- En este momento, se realiza la prueba de estirado. Se prepara previamente agua a 80 grados C ; en un recipiente se adicionan 5 g de cuajada, se cubre con el agua caliente y con una cuchara se agita tratando de unir la cuajada apretándola contra las paredes del recipiente. Una vez que la cuajada aparenta que se funde y forma una sola pieza, se tira el agua y se trata de estirar con los dedos. Esta prueba se repite a medida que aumenta la acidez en el suero, aproximadamente a 0.45% de acidez (pH = 5.3) de ácido láctico y el estirado, la elasticidad y lo liso de las tiras es el deseado.

7.- Cuando la prueba del estirado es satisfactoria, se repite la operación, dividiendo la cuajada en 4 porciones y se hacen 4 estirados.

8.- una vez hechas las tiras al gusto, se colocan en un recipiente con agua fría entre 10 y 15 grados C durante 5 minutos.

9.- El salado se hace manualmente. A medida que se hacen las bolas de queso, se va frotando la sal superficialmente en las tiras.

10.- Se refrigera entre 6 y 8 grados C por 12 horas y posteriormente, se empaqueta en poliuretano. (45)

Ejemplos de quesos similares al Qaxaca en el mundo son: Mozzarella, Scarmoze, Asadero y en general, aquellos quesos italianos del tipo Provolone. (40, 43 y 44)

e) ELABORACION DE QUESO CHIHUAHUA:

El queso Chihuahua es un queso originario del país, madurado, prensado y de pasta semidura. Contiene una gran cantidad de calcio y hierro, superando a los dos anteriores. (46)

Los pasos para su elaboración son los siguientes:

- 1.- Partir de leche pasteurizada, o bien, pasteurizar si es leche cruda.
- 2.- Adicionar 0.4 g de cloruro de calcio.
- 3.- Llevar la leche a 32 grados C.
- 4.- Adicionar 40 ml de cultivo láctico.
- 5.- Premadurar a 32 grados C durante 30 minutos.
- 6.- Agregar 0.5 ml de cuajada.
- 7.- Reposar a 32 grados C por 20 - 30 minutos (cuajado).
- 8.- Cortar la cuajada en cubos de 1 cm.
- 9.- Reposar durante 5 minutos.
- 10.- Aumentar la temperatura de la cuajada de 32 a 36 grados C en 30 minutos.

- 11.- Mantener la temperatura a 38 grados C durante 40 minutos, sin dejar de agitar.
- 12.- Reposar durante 5 minutos.
- 13.- Separar el suero.
- 14.- Colocar la cuajada en un pedazo de manta de cielo y colgarla de una parte superior del recipiente, de tal forma que se puedan tomar muestras del suero que sigue volcando.
- 15.- Determinar la acidez del suero cada 10 minutos, hasta que esta sea de 35 grados Dormit.
- 16.- Cortar la cuajada en pequeños cubos.
- 17.- Añadir sal (1.5% del peso de la cuajada obtenida) y agitar muy bien.
- 18.- Moldear el queso.
- 19.- Frensar durante toda la noche.
- 20.- Desmoldar.
- 21.- Encerar la superficie del queso.
- 22.- Madurar durante 15 días. (46)

f) VALOR NUTRITIVO:

A continuación se muestra el valor nutritivo de los 3 quesos anteriores: (47)

CUADRO #12: Valor nutritivo quesos Panela, Oaxaca y Chihuahua.

	Q. PANELA	Q. OAXACA	Q. CHIHUAHUA
Porción comestible	1.0	1.0	1.0
Energía (kcal)	127.0	117.0	458.0
Proteínas (g)	15.3	25.7	28.8
Grasas (g)	7.0	22.0	37.0
Carbohidratos (g)	5.0	3.0	1.9
Calcio (mg)	684.0	469.0	795.0
Hierro (mg)	0.3	3.3	5.8
Tiamina (mg)	0.02	0.09	0.06
Riboflavina (mg)	0.24	0.73	0.84
Niacina (mg)	0.1	0.2	0.0
Ac. Ascórbica (mg)	0.0	0.0	0.0
Retinol (mcg Eq)	70.0	271.0	184.0

• IV.- METODOLOGIA •

Tan pronto se visualizó el objetivo de esta tesis y se tomaron en cuenta los factores que deberían ser estudiados, se pensó en seleccionar los tres quesos nacionales de mayor venta al público. Después de un corto sondeo a vendedores de quesos en mercados públicos y tiendas de autoservicio, se decidió centrar la investigación en los quesos Panela, Oaxaca y Chihuahua, siendo éstos los más consumidos por la población capitalina, abarcando todos los niveles sociales.

El siguiente paso fue encontrar una compañía que elaborase estos tres tipos de quesos simultáneamente, y a la vez, determinar cual de éstos tenía un cierto prestigio de calidad a la hora de elaborar sus productos. La marca elegida para los tres quesos fue Holstein.

El mayor inconveniente de esta compañía es el precio al que se venden sus productos y que, seguramente, no permite que éstos lleguen a todos los sectores de la población, pero al mismo tiempo se asegura parte de la calidad del producto.

Se compró aproximadamente 1.5 kg. de cada queso en una tienda de autoservicio y éstos fueron sometidos a un proceso de rayado dentro de las 24 horas posteriores a su compra y conservación en frío. Estas muestras preparadas fueron desecadas totalmente en una estufa al vacío a una temperatura aproximada de 70 grados C. Las muestras secas se sometieron a un Análisis Químico Proximal, realizándose pruebas de humedad grasa, cenizas y proteína según métodos oficiales del AOAC (Anexo 1). Cada prueba se realizó por duplicado para obtener resultados más fiables.

Con los resultados obtenidos del Análisis Químico Proximal, se prepararon 5 diferentes dietas: La primera, conteniendo queso fresco Panela deshidratado; la segunda, queso Oaxaca deshidratado; la tercera, queso Chihuahua deshidratado; la cuarta, Caseína como proteína de referencia que actuaría como un control comparativo de los resultados de las otras dietas; y finalmente, la quinta sin contener proteína alguna y denominada Dieta Libre de Nitrógeno. Esta dieta se realiza para conocer las pérdidas endógenas de nitrógeno en el individuo y posteriormente, poder calcular los diferentes métodos para determinar la calidad proteica de un alimento.

Estas dietas se elaboraron con un 10% de proteína como base, ya que se ha determinado experimentalmente que es a este porcentaje en donde hay una mayor sensibilidad al método y se obtiene una respuesta más alta de la calidad de la proteína estudiada. Las dietas se elaboraron incluyendo, además de la proteína específica para cada una, un porcentaje de sacarosa y dextrosa como fuente de carbohidratos, manteca y aceite de grasas,

minerales y vitaminas, y celulosa como fuente de fibra.

La composición de las dietas fue calculada basándose en la cantidad de proteína que contenía cada muestra, ajustándose siempre al 10% de proteína deseada y tomando como base la siguiente dieta, la cual cubre los requerimientos nutricionales de la rata:

CUADRO #13: Dieta patrón.

INGREDIENTES	GRAMOS
Proteínas	10.0
Sacerosa	29.6
Dextrina	30.0
Manteca	8.0
Aceite de maíz	6.0
Mezcla de sales minerales	4.0
Mezcla de vitaminas	2.0
Celulosa en polvo	10.4
TOTAL	100.0
Calorías	404.4 Cal/ 100 g.

Se muestra a continuación la composición en gramos de los diferentes constituyentes de cada dieta.

CUADRO #14: Composición dietas problema.

INGREDIENTE	PANELA	OAXACA	CHIHUAHUA	CASEINA	DLN (+)
Proteína	26.6	26.0	27.5	11.3	---
Sacarosa	23.9	24.5	24.8	29.1	32.6
Dextrina	24.3	25.0	25.2	29.5	32.5
Manteca	5.7	4.8	4.2	8.0	10.0
Aceite	4.0	4.0	3.0	6.0	6.0
Mezcla de minerales	3.5	3.3	2.9	3.8	4.0
Mezcla de vitaminas	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Celulosa	10.0	10.5	10.4	10.3	20.4
Calorías	404.4	404.3	404.6	404.0	404.4

(+) Dieta Libre de Nitrogeno

Se calcularon las dietas de manera que estas fueran isoproteicas e isocalóricas para que la respuesta al aumento de peso de los animales fuera debida únicamente a la calidad de la proteína.

Se utilizaron 25 ratas machos de la cepa Sprague-Dawley recién destetadas (21 días aproximadamente), las cuales fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Biológicas, de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Se dividieron las dietas en grupos de cinco animales cada uno y se alimento a cada grupo con su dieta correspondiente antes mencionada.

Estas ratas fueron colocadas en pequeñas jaulas individuales, distribuyéndolas de acuerdo a su peso por el método de Culebra, con el fin de que los pesos por cada grupo fueran uniformes. Para esto se pesaron primero todos los animales y se distribuyeron por pesos de mayor a menor de acuerdo al siguiente diagrama:

CUADRO #15: Método de Culebra.

No. de Animal	No. de Dieta				
	1	2	3	4	5
A	1	2	3	4	5
B	10	9	8	7	6
C	11	12	13	14	15
D	20	19	18	17	16
E	21	22	23	24	25

Se sacó promedio de pesos de cada grupo que formaba cada dieta, y éstos no deberían de variar en 1 gr. entre cada dieta.

El experimento se llevó a cabo en un cuarto aireado, con temperaturas máximas y mínimas de 21 a 23 grados C, y con un ciclo natural de luz - oscuridad de 12 horas. Durante los 21 días que duró este, se les proporcionó a las ratas agua y alimento "ad libitum". Cada siete días, el aumento o disminución de peso fue registrado pesando cada rata en una balanza especial ideada para esto. Los resultados fueron anotados y analizados posteriormente.

El registro del alimento consumido se llevo a cabo dos veces por semana. Este consistió en pesar el alimento no consumido directamente en una balanza granataria y a la vez, recoger el alimento que pudiera haber caído al fondo de la jaula y después de haberlo dejado secar, este fue también pesado, y el resultado, sumado a la cantidad inicial que el animal no consumió. El resultado del total ingerido se obtiene por una simple resta de la cantidad inicial colocada en el comedero menos el alimento no ingerido (alimento no ingerido en el comedero más el encontrado en el papel). La limpieza de las jaulas se realizó a la par del cambio y registro del alimento consumido, es decir, dos veces por semana.

Durante la última semana del experimento, se recolectaron las heces de cada rata, con el fin de que una vez secadas, pesadas y molidas, se pudieran tener resultados acerca del nitrógeno contenido en las heces (nitrógeno real).

Al llegar al 21avo. día del experimento, las ratas fueron pesadas por última vez, así como el alimento. Después de esto, fueron sacrificadas utilizando éter. A cada rata le fue extraída una muestra de hígado, pesado exactamente en una balanza analítica, con el fin de calcular la cantidad de nitrógeno retenido en el hígado. Las muestras fueron secadas en una estufa a una temperatura de 70 grados C y guardadas para su posterior análisis.

Para la determinación de nitrógeno en heces y en hígado se utilizó el método de Kjeldahl (AOAC). Con los resultados obtenidos, se calcularon las pruebas biológicas de Relación de Eficiencia Proteica (PER), Utilización Neta de Proteína (NPU), Digestibilidad Verdadera y Aparente, y Relación Neta Proteica (NFR), cuyas fórmulas se pueden observar en el capítulo 4 de las Generalidades.

Se procedió posteriormente al análisis de resultados, mismos que se muestran y discuten a continuación.

* V.- RESULTADOS Y DISCUSION *

1.- ANALISIS QUIMICO PROXIMAL:

En el siguiente cuadro, se muestran los resultados (%) obtenidos para el análisis químico proximal:

CUADRO #16: Análisis Químico Proximal.

	Q. PANELA		Q. OAXACA		Q. CHIHUAHUA	
	B.Húmeda	B.Seca	B.Húmeda	B.Seca	B.Húmeda	B.Seca
HUMEDAD	52.0	---	44.9	---	29.1	---
PROTEÍNA	18.0	37.5	21.9	38.4	25.7	36.3
GRASA	7.8	16.4	11.0	20.0	17.6	24.9
CENIZAS	1.5	3.2	1.5	2.8	2.8	4.0
ELN (*)	20.5	42.9	21.3	38.8	24.6	34.7

(* = Extracto Libre de Nitrogeno o Carbohidratos)

Como era de esperarse, el queso fresco Panela fué el que registró un mayor porcentaje de humedad; esto se refleja en los demás componentes, tales como la grasa, obteniendo el menor valor en comparación con los otros dos quesos. A su vez, el queso Chihuahua presenta la humedad más baja y por lo tanto, el porcentaje de grasa más alto. El queso Oaxaca se mantiene en un término medio entre ambos, tanto en la relación de humedad (se debe recordar que el Oaxaca se clasifica dentro de los quesos frescos o blandos) como de grasa.

En lo referente a las cenizas, prácticamente se obtienen los mismos valores; estos porcentajes en realidad dependen de la cantidad de sal adicionada en el proceso. Por tanto, los resultados pueden variar sin afectar la composición general del queso, siempre y cuando, no se alteren las condiciones de sabor (es decir, que se obtenga un queso muy salado o muy insípido).

En la base seca, observamos que el porcentaje de proteínas es casi igual en los tres quesos, lo cual es muy lógico si pensamos que estos no son sino el producto de la cuajada de la leche tratada de diferente manera. Las

posibles diferencias estribarían en si la leche estuviera adulterada de alguna manera y por lo tanto, los rendimientos de caseína precipitada se vieran afectados.

La cantidad de carbohidratos o extracto libre de nitrógeno depende del contenido de los demás nutrientes en el alimento, debido a que este resultado se obtiene por diferencia con las otras determinaciones. Se puede observar una relación directamente proporcional de los carbohidratos con el porcentaje de humedad e inversamente proporcional con el porcentaje de grasa. Es decir, a mayor humedad y menor cantidad de grasa, mayor cantidad de carbohidratos.

En general, no notamos grandes diferencias entre los resultados obtenidos entre la base seca y la húmeda.

Con estos datos obtenidos del análisis químico proximal se calcularon las dietas que sirvieron para las pruebas biológicas, de acuerdo a la dieta base que se muestra en el capítulo de Metodología.

2.- GANANCIA DE PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO:

Como se menciona en la parte experimental, se llevó un control de ganancia o pérdida de peso de los animales en experimentación, así como el consumo de alimento. En el siguiente cuadro, se muestran los datos que sirvieron para calcular las evaluaciones biológicas:

CUADRO #17: Ganancia de peso y consumo de alimento (g).

DIETA PROBLEMA	PESO(i) RATA	PESO(f) RATA	GANANCIA DE PESO	CONSUMO DE ALIMENTO	CONSUMO DE PROTEINA
Q. PANELA	46.2	84.0	37.8	127.0	12.70
Q. OAXACA	46.0	66.3	20.3	121.9	12.19
Q. CHIHUAHUA	45.6	105.8	62.2	153.9	15.39
CASEINA	45.8	88.0	42.2	154.4	15.44
DLN (*)	45.5	28.3	-15.9	64.4	0.65

(*) Dieta Libre de Nitrógeno.

Aquí podemos observar que los animales que ganaron más peso fueron, en orden creciente, los de las dietas Oaxaca, Panela, Caseína y Chihuahua.

Noteseon las diferencias de peso entre el queso Chihuahua y el Oaxaca. En ambos casos se consumio la dieta "ad libitum", y si bien se consumio más alimento de la dieta del queso Chihuahua (aproximadamente 30 g), las diferencias en la ganancia de peso son mucho más grandes, casi 42 g ganados por el queso Chihuahua arriba del queso Oaxaca.

El queso Panela obtuvo también un parametro mayor al obtenido por la dieta del queso Oaxaca. En este caso, la diferencia del alimento ingerido es minima (solo 3 g) y en cambio, la diferencia en la ganancia de peso es de aproximadamente 18 g. Esto nos indica que el proceso al cual es sometido el queso Oaxaca (pags. 55 y 56) y en especial, el tratamiento térmico que recibe, pudiera afectar el aprovechamiento de la proteína.

Si observamos tambien la relación entre la dieta del queso Chihuahua y la de la Caseína, encontramos una ingesta igual de alimento (diferencia de 0.5 g) y sin embargo, una diferencia en la ganancia de peso de 20 g. Igual sucede si comparamos la dieta del queso Chihuahua y la del queso Panela. Ambos parten de casi la misma cantidad de proteína y sin embargo, la diferencia de la ganancia de peso fue de aproximadamente 25 g. Esto nos hace pensar en la importancia que puede tener el proceso de elaboración sobre cada producto y como puede verse este afectado por el mismo.

La dieta libre de nitrógeno (DLN) cumplió con lo esperado, al exigir en el metabolismo de los animales la utilización de todo el nitrógeno de las reservas para suplir el requerimiento de nitrógeno mínimo diario y por tanto, se produjeron pérdidas de peso en todos los sujetos.

Con los datos obtenidos anteriormente se incremento o pérdida de peso corporal para cada dieta en experimentación durante el periodo de tratamiento (21 días), se contruyeron las figuras (#5 al #10) que nos muestran las curvas de crecimiento de cada dieta y que se muestran en las siguientes páginas.

Observando estas figuras, por separado y en conjunto, podemos ver que la respuesta más baja, sin tomar en cuenta la figura que muestra la dieta libre de nitrógeno (DLN), corresponde al queso Oaxaca y al Panela. Ambas curvas parten del mismo origen practicamente, ya que como se señaló en la parte experimental, se hicieron los grupos de animales para cada dieta, de tal manera que no hubiera diferencia entre los pesos de cada grupo mayor o menor a 1 g. Pronto se observa que el queso Panela tiene una menor respuesta que el queso Oaxaca en el incremento ponderal a los 7 días, pero al llegar a la 2a. semana, ambas curvas se cruzan y obtenemos una misma respuesta entre ambos. Después las curvas se alejan y se puede observar

como la dieta de queso Panela llega casi a alcanzar a la dieta patrón de caseína.

Las respuestas más altas las dan la dieta de queso Chihuahua y la de caseína. Ambas comienzan también prácticamente en un mismo origen y ya desde la primera semana, se alejan de las dos dietas antes comentadas. Al final de la segunda semana, la dieta del queso Chihuahua obtiene una respuesta ligeramente mayor, misma que se incrementa mucho al final de la tercera semana. La curva de la caseína, por su parte, casi forma una línea recta, mostrando así una uniformidad bastante grande en sus resultados.

Lo más curioso a observarse son las respuestas obtenidas entre el final de la primera semana y el final de la tercera. En la primera semana, las curvas no se separan tanto, indicándonos que este tiempo es un periodo de adaptación a las dietas y que, por tanto, las respuestas dependen más de la capacidad de adaptación de las ratas, que en realidad de la calidad proteica de cada dieta. Al final de la tercera semana ya se ha establecido una diferencia muy clara entre todas las dietas y en este caso, ya se puede hablar de respuestas a la calidad proteica del producto. Un ejemplo de esto sería la relación del queso Panela y Oaxaca con respecto a la caseína. Si bien en un principio, la respuesta de la dieta del queso fresco estuvo por debajo del de la del queso Oaxaca, al finalizar el experimento, la primera finalizó casi a la par que la curva de la caseína, en tanto que el queso Oaxaca dio una respuesta muy pobre.

En la figura #10 se muestran las curvas obtenidas para cada dieta y se puede ver de forma más clara las diferencias que hubo entre ellas y que se comentaron anteriormente.

FIGURA #5: Curva de crecimiento Dieta Q. Panela.

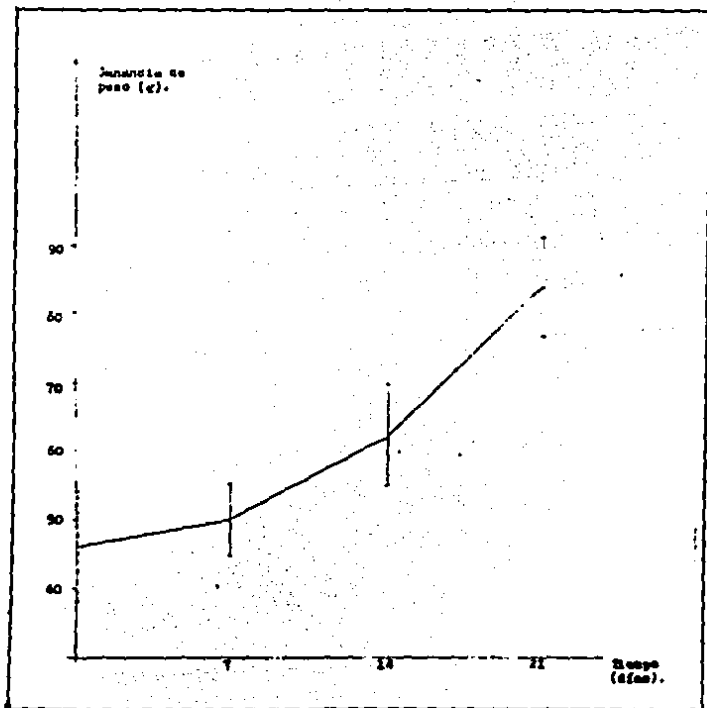


FIGURA #6: Curva de crecimiento Dieta Q. Oaxaca.

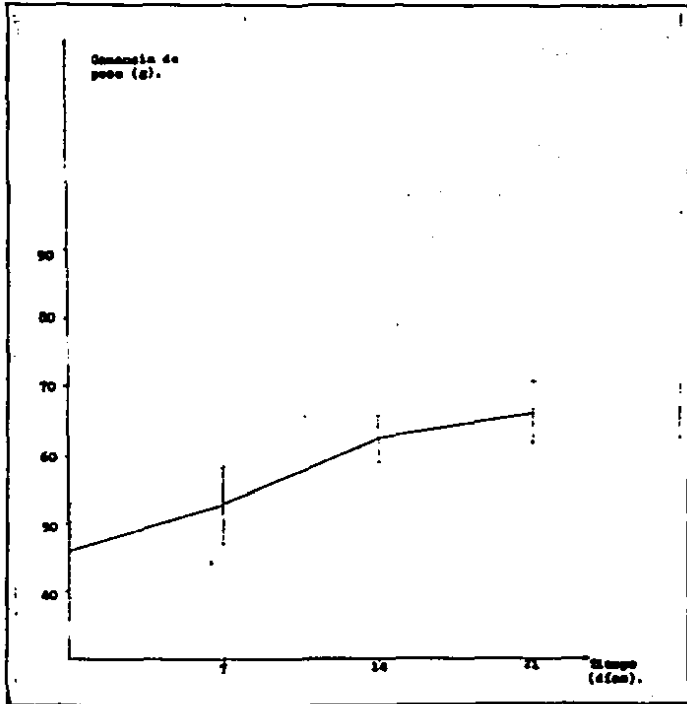


FIGURA #7: Curva de crecimiento Dieta Q. Chihuahua.

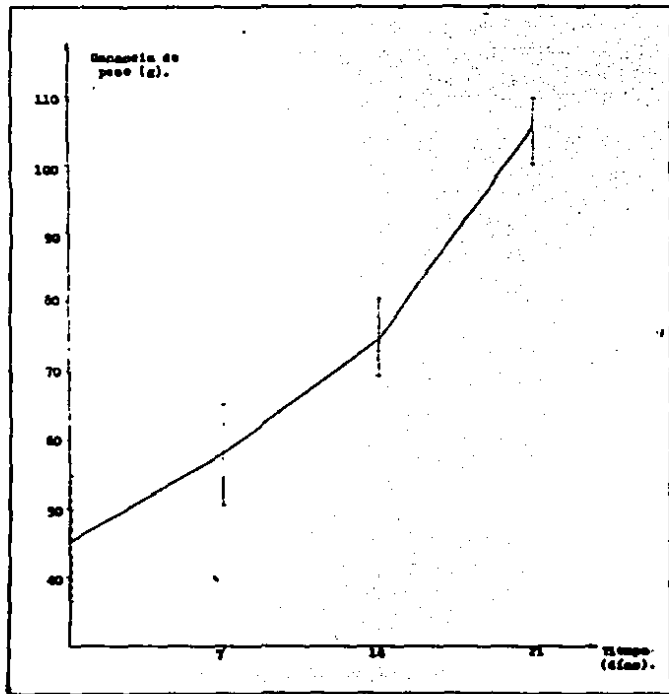


figura #8: Curva de crecimiento Dieta Caseina.

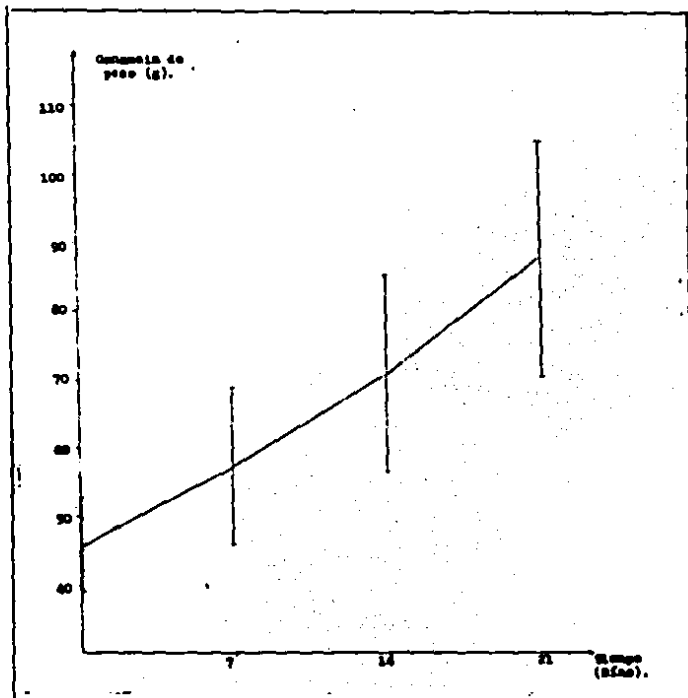


FIGURA #9: Curva de crecimiento Dieta Libre de Nitrogeno.

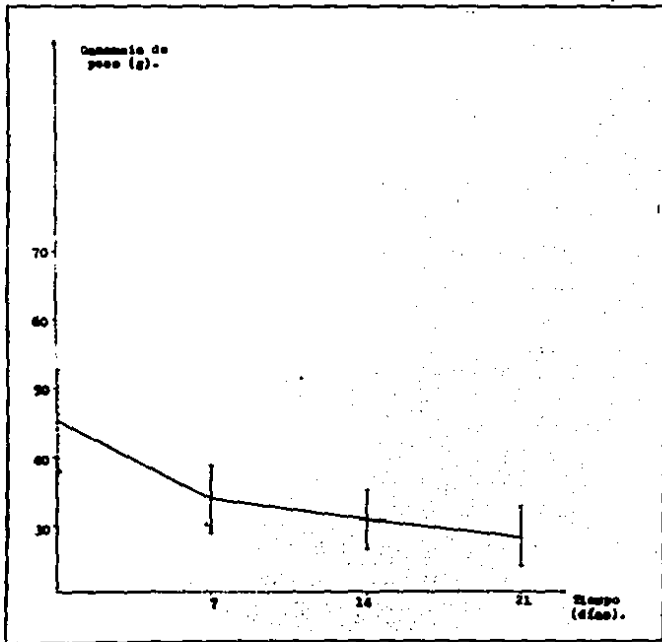
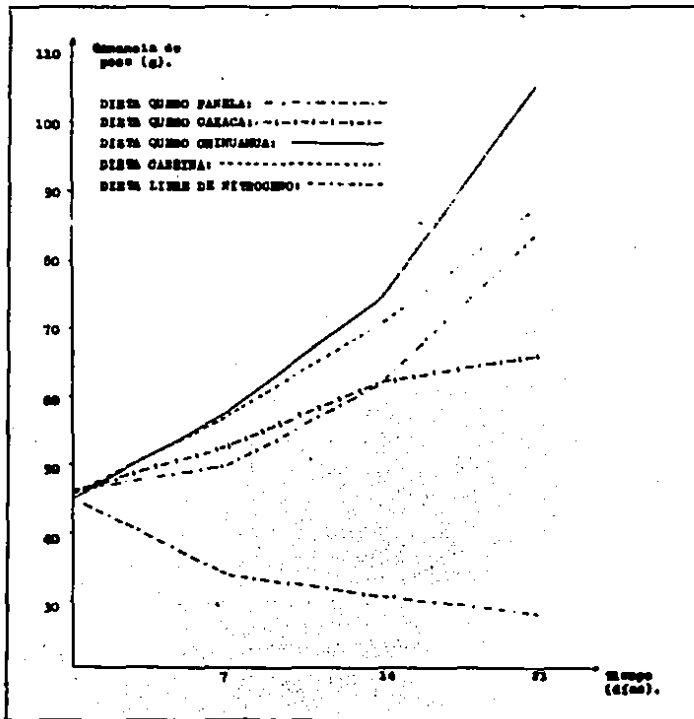


FIGURA #10: Curvas de crecimiento globales.



3.- METODOS BIOLOGICOS:

A continuación se muestran los resultados obtenidos para las pruebas biológicas:

CUADRO #18: Pruebas biológicas.

DIETA	PER	PER a 2.5	DIGESTIBILIDAD VERDADERA	DIGESTIBILIDAD APARENTE	NFU	NFF
Q. Panela	3.19	2.77	89.38	84.89	50.72	4.03
Q. Oaxaca	1.67	1.45	92.28	86.47	60.97	4.19
Q. Chihuahua	4.03	3.51	89.73	86.02	69.39	5.38
Caseína	2.87	2.50	90.01	85.45	62.98	4.34
D.L.N.	-2.49	-2.16	-----	-----	-----	-----

Observando los resultados podemos decir que las dietas con una mejor respuesta biológica son, en orden creciente, la de queso Panela, queso Oaxaca, Caseína y la de queso Chihuahua. Esto a veces parece no cumplirse, por lo que comentaremos con más cuidado cada resultado.

Debemos recordar que PER basa sus resultados en la relación entre el peso del animal y el alimento ingerido (visto como proteína ingerida). Este detalle primordial hace que PER no sea un método totalmente eficaz, como se observa posteriormente. Obtuvimos como valor más bajo la respuesta del queso Oaxaca. Se observa que la cantidad de proteína ingerida fue alta (12.19 g) y la ganancia ponderal resultó ser muy baja (20.3 g) y por consiguiente el valor de PER fue bajo (1.67). El caso contrario es el queso Chihuahua que obtuvo el mayor valor de PER (4.03), en el que se puede observar que con un consumo de proteína semejante al del queso Oaxaca (15.39 g) se obtuvo una ganancia de peso mucho mayor (62.2 g), lo que indica que se aprovechó mejor la proteína.

En el caso del queso Panela, este obtuvo un valor de PER intermedio (3.19 g) entre el queso Oaxaca y el Chihuahua. Pero si observamos los resultados de los demás métodos biológicos, esto se contradice y nos demuestra que PER no fue tan eficaz como se esperaba y que siempre es deseable calcular varios métodos biológicos para obtener una respuesta más confiable.

Se puede observar en el cuadro #18, una columna que nos muestra los valores de PER llevados a una respuesta de caseína de 2.5. Esto se realiza

debido a que esta dieta se toma como control con el valor establecido en la bibliografía de 2.5 (46). Estos resultados no nos proporcionan ninguna información adicional, y lo dicho anteriormente acerca del PER, es también aplicable al PER corregido.

Las siguientes dos columnas, digestibilidad verdadera y aparente, nos dan una indicación de la digestión de la proteína y de la facilidad de absorción de los aminoácidos.

Si observamos los resultados de la digestibilidad verdadera, el queso Oaxaca obtiene el primer lugar, en tanto que el queso Panela ocupa el último. Pero es de observarse que las diferencias entre estos dos son de solo 2.9 unidades, lo cual es un valor mínimo. Esto quiere decir que en general, todas las muestras tienen un alto poder de digestibilidad y absorción de aminoácidos, y que en realidad, sería ilógico decir que cualquiera de estos tiene una digestibilidad pobre. Lo que sí se puede comentar es que el orden que siguen al observar los resultados, se puede deber al tratamiento específico que sufrió cada queso. Por ejemplo, el queso Oaxaca sufrió un tratamiento térmico prolongado, lo cual pudo haber facilitado la parcial desnaturalización de la proteína y por tanto, hay una mejor digestibilidad y una menor competencia entre los aminoácidos en el proceso de la absorción, y esta se realiza con más facilidad.

En la digestibilidad aparente, la diferencia entre el menor y el mayor valor registrado fue de solo 1.58 unidades. Esto confirma lo dicho anteriormente. El único cambio observado fue que el queso Chihuahua escaló un puesto, dejando en tercer lugar a la Casaña. Esto contradice los resultados de la digestibilidad verdadera, pero debemos recordar que precisamente la diferencia entre ambas digestibilidades, es que la aparente no mide las pérdidas obligatorias de nitrógeno del suero, en tanto que la verdadera sí lo hace y por esto, este valor es más confiable que el otro.

Los métodos de NPU y NPR nos indican la proporción del nitrógeno alimentario que se retiene en el cuerpo. Ambos métodos dieron resultados que colocaron a las dietas en los mismos lugares, confirmando lo esperado. Obtuvimos en último lugar al queso Panela, mostrando una retención de nitrógeno bastante pobre, debido seguramente a que la proteína se presenta sin tratamientos posteriores y gran parte de esta es excretada por las vías normales, produciéndose poca retención; también podemos pensar que puede tratarse de un producto que no fue elaborado a partir del cuajo de la leche totalmente.

En la dieta de queso Oaxaca, ocupando el tercer lugar, sucede algo similar. Tiene la mayor digestibilidad del conjunto, pero poca retención de

nitrógeno. Esto se debe a que, debido al proceso, hay menos aminoácidos disponibles y la gran mayoría son absorbidos, quedando muy poco nitrógeno que pueda ser almacenado por el cuerpo.

El queso Chihuahua y la caseína obtienen buena retención, produciéndose un equilibrio entre la absorción y desecho de aminoácidos y por ende, una alta retención de nitrógeno.

• VI.- CONCLUSIONES •

A partir de los datos obtenidos en el capítulo de los Resultados, podemos concluir lo siguiente:

1.- Los tres quesos estudiados resultaron tener óptima calidad de proteína y cualquiera de ellos puede proporcionar la proteína que es requerida en la alimentación diaria. Por otra parte, gozan de una gran aceptación entre la población y sus características organolépticas los colocan en un amplio rango de consumo.

2.- Al referirnos a los métodos biológicos, se recomienda que en posteriores estudios acerca de la calidad proteica de diferentes productos, se utilicen varios y no solo dos o tres métodos. Esto, con el fin de obtener resultados más confiables que puedan complementarse y que nos den una mayor información sobre las características del producto.

3.- D. ante el proceso de elaboración de los quesos, es importante cuidar perfectamente todas las variables que están involucradas, como temperatura, acidez, conservación, etc., pues es factible que las características organolépticas y nutricionales del producto puedan alterarse y se obtenga un queso de menor calidad.

4.- Después de conservar los resultados de los métodos biológicos, se puede concluir que la calidad proteica del queso Chihuahua es la única que supera la calidad proteica de la caseína, mientras que tanto el queso Qaxaca como el Panela son comparables en menor o mayor rango a la caseína, proteína que es usada como patrón de referencia.

5.- La dieta de queso Chihuahua provocó, al mismo tiempo, un mayor aumento de peso en todos los sujetos expuestos a esta. Esto nos indica que sería preferible su consumo en todos los niveles de la sociedad mexicana, siempre y cuando su costo de producción fuese menor y de esta manera accesible a un mayor número de personas. Por desgracia, gran parte de la población consume queso Panela, que mostró ser el de menor calidad y también, el de menor precio por la sencillez de su elaboración.

6.- Sería ideal que el público consumidor no fuese engañado con quesos adulterados con caseinatos y almidones, productos que pueden añadirse fácilmente a quesos con procesos de elaboración sencillos, como el Panela, y a la vez, se hiciese un estudio para determinar si la razón por la cuál no hay una elevada retención de nitrógeno en algunos de los quesos

estudiados es debido a la presencia de los productos adulterantes antes mencionados. Esto contribuiría a que el consumidor se decidiese por una u otra clase de queso.

7.- En general, los resultados nos indican que el queso Chihuahua es aquel que rindió mejores respuestas biológicas en la alimentación del sujeto y por consiguiente, el de mejor calidad proteica, por lo que se recomienda ampliamente sobre el queso Penela, Oaxaca, de alto consumo nacional.

• ANEXO 1 •

ANALISIS QUIMICO PROXIMAL:

a) HUMEDAD:

Se peso una cantidad determinada de muestra por duplicado, colocandolas en charolitas de aluminio a peso constante, las cuales fueron pesadas con anterioridad. Se colocaron las muestras en una estufa de vacío durante tres horas a 70 grados centígrados, sacándose luego a un desecador y dejandolas enfriar durante 15 minutos. Se pesaron y se repitió el proceso, dejandolas en la estufa otros 30 minutos y pesandolas nuevamente. Se repitió el proceso hasta que se obtuvo un peso casi igual entre prueba y prueba (aproximadamente 2 mg.). (49)

La formula para calcular la humedad de las muestras es la siguiente:

$$\% \text{ HUMEDAD} = \frac{(B - A)}{PM} \times 100$$

donde, B = Peso del recipiente con la muestra.
A = Peso del recipiente con la muestra seca.
PM = Peso de la muestra. (49)

b) DETERMINACION DE GRASA:

Para realizar esta determinacion, se utilizo la tecnica eteroclorhidrica, ideada por Danone de Mexico. (50)

Se utilizaron matraces a peso constante, a los cuales se les colocaron muestras por duplicado ya pesadas. A cada matraz, se le adicionó 20 ml. de una solución de HCl/Agua 2:1 y se colocaron a reflujo durante 30 minutos sobre una parrilla. Poco a poco, se oxidan las muestras y cambian de color (incolore - rosado - negro). Pasado este tiempo, se vacía el contenido del matraz sobre otro con un embudo y papel filtro en la boca, realizándose lavadas con agua caliente hasta que la solución sale cristalina. La grasa queda retenida en el papel filtro. En este caso, todos los papeles quedaron oscuros, a excepción de los que contenían las muestras del queso Chihuahua, los cuales quedaron bastante limpios. Se dejaron secar los

filtros y después se llevan a un aparato Soxlet ("Soxtec System HT. 1043 Extraction Unit"). Se colocó el filtro en un cartucho de celulosa, realizándose una lavada con éter durante 15 minutos, seguida de una extracción, quedando la grasa en un vaso de metal a peso constante. Se lleva a la estufa por 5 minutos para extraer el éter restante y finalmente, se pesan. (50)

La fórmula para obtener el % de grasa es la siguiente:

$$\% \text{ GRASA} = \frac{B - A}{PM} \times 100$$

donde, B = Peso del vaso de metal con la muestra.

A = Peso del vaso de metal.

PM = Peso de la muestra. (50)

c) DETERMINACION DE CENIZAS:

Se colocaron las muestras por duplicado ya pesadas en un crisol a peso constante y se llevaron a la estufa a 60 grados C para deshidratar y evitar proyecciones fuera del crisol. Después, se carbonizaron con un mechero, se enfriaron ligeramente y se pasaron a un desecador, y de ahí, a una mufa. Al cabo de 2 horas a una temperatura de 550 grados C, se enfriaron en una estufa y de ahí, pasaron al desecador. Se dejaron enfriar otros 10 minutos y se pesaron. (49)

La fórmula para calcular el % de cenizas es la siguiente:

$$\% \text{ CENIZAS} = \frac{B - A}{PM} \times 100$$

donde, B = Peso del crisol con las cenizas.

A = Peso del crisol.

PM = Peso de la muestra. (49)

d) DETERMINACION DE NITROGENO (% de Proteína):

Para esta determinación se utilizó el método de Kjeldahl, explicado someramente en el capítulo 4 de las Generalidades. Este método consta de

tres partes:

I.- DIGESTION: Se pesa de 0.2 a 0.5 g de las muestras por duplicado en un papel libre de nitrógeno, se colocan dentro de un matraz Kjeldahl, añadiéndose a estos 1.5 g de mezcla reactiva de Selenio, 20 ml de ácido sulfúrico concentrado y unas perlas de ebullición. Se someten los matraces a calentamiento moderado una vez prendidas las parrillas y los extractores de humos del aparato digestor y destilador Kjeldahl Lab-Conco hasta que el líquido está transparente y después, el calentamiento continúa durante 30 minutos más. Se enfrían los matraces y se procede a la destilación. (49)

II.- DESTILACION: Se colocan en los tubos terminales del refrigerante del aparato destilador un matraz Erlenmeyer con 150 ml de ácido bórico al 0.5% (esta solución lleva fenoftaleína 0.1% en etanol y una mezcla de rojo de metilo y verde de bromocresol 2:1 en etanol). Se prenden las parrillas y se abre la llave del agua de los refrigeradores. Se añaden 250 ml de agua destilada a cada matraz Kjeldahl con la muestra digerida, previamente enfriado y 50 ml de NaOH al 60%, lentamente. Se conecta el matraz a la trampa y se agita. Se destila hasta completar 250 ml en el matraz Erlenmeyer, se apagan las parrillas y se dejan enfriar los matraces Kjeldahl. Se retiran las terminales del refrigerante de los matraces Erlenmeyer y se procede a titular. (49)

III.- TITULACION: Se titula el destilado recogido con ácido clorhídrico (0.1 N). El virre de color se obtiene de verde claro a rojo. (49)

Los cálculos para la determinación del porcentaje de cenizas se realizan en base a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ NITROGENO} = \frac{(\text{ml muestra problema} - \text{ml blanco}) (\text{N HCl}) (\text{meq N})}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

Para obtener el porcentaje de proteína en la muestra se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% \text{ PROTEINA} = (\% \text{ Nitrogeno}) (6.25) \quad (49)$$

d) DETERMINACION DEL EXTRACTO LIBRE DE NITROGENO O CARBOHIDRATOS:

El extracto libre de nitrógeno se obtiene mediante la siguiente fórmula:

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

$$\% \text{ CARBOHIDRATOS} = 100 - (\% \text{ HUMEDAD} + \% \text{ PROTEINA} + \% \text{ GRASA} + \% \text{ CENIZAS})$$

(49)

Todos los valores obtenidos se pueden observar en el capítulo de los resultados, mismos que posteriormente fueron utilizados para la elaboración de las dietas.

* ANEXO 2*

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS:

a) CUADROS:

1.- Aminoácidos esenciales y no esenciales	Pag. 6
2.- Necesidades estimadas de aminoácidos esenciales	" 7
3.- Principales aminoácidos en la Pata	" 14
4.- Cantidad y calidad proteica de algunos alimentos	" 30
5.- PER tradicional vs. C-PER	" 34
6.- PER tradicional vs. T-PER	" 34
7.- Valor Biológico de varios productos	" 36
8.- Digestibilidad de alimentos varios	" 37
9.- Comparación entre diferentes métodos biológicos	" 42
10.- Características y propiedades de las proteínas lácticas .	" 52
11.- Utilización de caseína en USA (1980)	" 54
12.- Valor nutritivo quesos Panela, Oaxaca y Chihuahua	" 57
13.- Dieta Patrón	" 59
14.- Composición dietas problema	" 59
15.- Método de Culebra	" 60
16.- Análisis Químico Proximal	" 62
17.- Ganancia de peso y consumo de alimento (g)	" 63
18.- Pruebas biológicas	" 72

b) FIGURAS:

1.- Absorción de proteínas	Pag. 9
2.- Digestión de proteínas	" 16
3.- Equilibrio dinámico de las proteínas	" 21
4.- Prot. vs ganancia de peso y su relación con crec. lineal.	" 25
5.- Curva de crecimiento Dieta Q. Panela	" 66
6.- " " " " Q. Oaxaca	" 67
7.- " " " " Q. Chihuahua	" 68
8.- " " " " Caseína	" 69
9.- " " " " Dieta Libre de Nitrógeno	" 70
10.- Curvas de crecimiento globales	" 71

* VII.- BIBLIOGRAFIA *

- 1.- Guyton, A.C. (1971) Tratado de Fisiología Médica. Ed. Interamericana 4a. edición Page: 1015 - 1027.
- 2.- Scheider, W.L. (1985) Nutrición. Conceptos básicos y aplicaciones. Ed. McGraw Hill 1a. edición Page: 108 - 114.
- 3.- Anderson, L.; Dibble, M.V.; Turkki, P.R.; Mitchell, H. y Rejnbergen, H.J. (1985) Nutrición y Dieta de Cooper. Ed. Interamericana 17a. edición Page: 55 - 57 y 183 - 185.
- 4.- Lehninger, A.L. (1981) Bioquímica. Ed. Omega 2a. edición Page: 108 - 109, 128 y 572 - 573.
- 5.- Hegsted, D.M. (1976) Balance Studies. J. Nutr. 106: 307 - 311.
- 6.- Maynard, L. (1953) Nutrición Animal. Ed. Hispano Americana 1a. edición Page: 84 - 115.
- 7.- Hafez, E.S. y Dyer, I.A. (1969) Animal Growth and Nutrition. Lea & Febiger - Washington Page: 296 - 301.
- 8.- Altman, P.L. y Dittmer, D.S. (1968) Metabolism. Federation of American Societies for Experimental Biology, Maryland. Biological Handbook Page: 291.
- 9.- Allison, J.B. (1955) Biological Evaluation of Proteins. Physiol. Revs. 35: 664 - 685.
- 10.- Maynard, L. y Loosli, J. (1969) Animal Nutrition. Ed. McGraw Hill 6a. edición Page: 377 - 378 y 435 - 472.
- 11.- Hegarty, P.V. (1975) Some Biological Considerations in the Nutritional Evaluation of Foods. Food Tech. 29: 52 - 64. No.4
- 12.- Donald, P.; Pitte, G. y Pohl, S.L. (1981) Body Weight and Composition in Laboratory Rats: Effects of diets with high or low protein concentrations. Science 211: 185 - 186.

- 13.- Thonney, M.L. y Foss, D.A. (1987) Composition of Gain of Rats fed Low or High Protein Diets and Grown at Controlled Rates from 80 to 205 Grams.
J. Nutr. 117: 2135 - 2141. No.12
- 14.- Hegsted, D.M. y Neff, R. (1970) Efficiency of Protein Utilization in Young Rats at Various Levels of Intake.
J. Nutr. 100: 1173 - 1180.
- 15.- Tapie, M.A. y Donoso, G. (1967) Long-Term Effects of Feeding Rats on Casein and Gluten Diets of the Same Protein Value.
Arch. LA Nutr. 17: 295 - 310. No.4
- 16.- Villalón, L.; Tuchweber, B. y Yousef, I.M. (1987) Effect of a Low Protein Diet on Bile Flow and Composition in Rats.
J. Nutr. 117: 678 - 683. No.4
- 17.- Rothwell, N.J. y Stock, M. (1987) Effect of Environmental Temperature on Energy Balance and Thermogenesis in Rats Fed Normal or Low Protein Diets.
J. Nutr. 117: 833 - 837. No.5
- 18.- Ciosa, S.J.; Río, M.E. y Sanahuja, J.C. (1971) Composición corporal de ratas adultas alimentadas desde el destete con proteínas desequilibradas en sus aminoácidos.
Arch. LA Nutr. 21: 69 - 86. No.1
- 19.- Taylor, K.B. y Anthony, L.E. (1985) Nutrición Clínica.
Ed. McGraw Hill 1a. edición Pags: 570 - 593.
- 20.- Jansen, G.R. (1978) Biological Evaluation of Protein Quality.
Food Tech. 32: 52 - 56. No.11
- 21.- Pellet, P.L. (1978) Protein Quality Evaluation Revisited.
Food Tech. 32: 60 - 79. No.5
- 22.- Derse, P.H. (1962) Evaluation of Protein Quality (Biological Method).
J. AOAC 45: 418 - 422. No.2
- 23.- Staub, H.W. (1978) Problems in Evaluating the Protein Nutritive Quality of Complex Foods.
Food Tech. 32: 57 - 61. No.11

- 24.- Steinke, F.H.; Prescher, E.E. y Hopkins, D.T. (1980) Nutritional Evaluation (PER) of Isolated Soybean Protein and Combinations of Food Proteins.
J. Food Sci. 45: 323 - 327.
- 25.- Darse, P.H. (1960) Evaluation of Protein Quality (Biological Method).
J. AOAC 43: 38 - 41. No.1
- 26.- Hackler, L.R. (1978) An Overview of the AACC / ASTM Collaborative Study on Protein Quality Evaluation.
Food Tech. 32: 62 - 64. No.11
- 27.- Hegsted, D.M. y Chang, Y. (1965) Protein Utilization in Growing Rats.
J. Nutr. 85: 159 - 168.
- 28.- Burnette, M.A. y Rusoff, I. (1978) GMA Test Protocol for Protein Quality Assays.
Food Tech. 32: 66 - 68. No.11
- 29.- Elias, L.G.; Bressani, R. y Del Busto, J.A. (1974) Evaluación de la Calidad de la Proteína de Alimentos de Bajo Contenido Proteínico.
Arch. LA Nutr. 24: 81 - 106. No.1
- 30.- Hsu, H.W.; Sutton, N.E.; Banjo, M.O.; Satterlee, L.D. y Kendrick, J. (1978) The C-FER and T-FER Assays for Protein Quality.
Food Tech. 32: 69 - 73. No.11
- 31.- Araya, J.; Araya, H. y Tapie, M.A. (1973) Excreción de Nitrogeno Fecal Endógeno en la Rata.
Arch. LA Nutr. 23: 97 - 106. No.1
- 32.- Tapie, M. y Donoso, G. (1965) Net Protein Utilization Determined in Short-and Long-Term Experiments with Rats.
J. Nutr. 87: 173 - 177.
- 33.- Bressani, R. y Elias, L. (1976) Evaluación de la Calidad Proteica de Varias Leguminosas de Granos Usando Diversos Métodos Biológicos.
Arch. LA Nutr. 26: 325 - 339. No.3

- 34.- Bressani, R.; Urrutia de Valle, L. y Elias, L.G. (1976) Relacion entre el Nitrogeno Retenido por Ratas, Determinado por Analisis Corporal de Nitrogeno y por Medio de Balance Nitrogenado. Arch. LA Nutr. 26: 449 - 466. No.4
- 35.- Chavez, J.F. y Pellet, P.-L. (1976) Protein Quality of Some Representative Latin American Diets by Rat Bioassay. J. Nutr. 106: 792 - 801.
- 36.- McLaughlin, J.M. (1976) Vitamins and Other Nutrients. The Relative Nitrogen Utilization Method for Evaluating Nitrogen Quality. J. AOAC 59: 42 - 45. No.1
- 37.- Bateman, J.V. (1970) Nutrición Animal. Centro Regional de Ayuda Técnica. 1a. edición. Pags: 150 - 151.
- 38.- Anderson, F.H. (1978) Protein Quality Testing; Industry Needs. Food Tech. 32: 65 y 68. No.11
- 39.- Greenfield, H. y Briggs, G.M. (1971) Nutritional Methodology in Metabolic Research with Rats. Ann. Rev. Biochem. 40: 549 - 569.
- 40.- Aiais, C. (1970) Ciencia de la Leche. Ed. Continental. 1a. edición. Pags: 101 - 116 y 478.
- 41.- Badui, S. (1981) Química de los Alimentos. Ed. Alhambra Mexicana. 1a. edición. Pags: 382 - 384.
- 42.- Morr, C.V. (1984) Production and Use of Milk Protein in Food. Food Tech. 38: 39 - 48. No.7
- 43.- Meyer, M.R. (1987) Elaboración de Productos Lácteos. Manuales para la educación agropecuaria - Areas Ind. Rurales. SEP Ed. Trillas. 5a. edición. Pags: 81 - 83.
- 44.- Elaboración de queso Fresco. (1988) Prácticas oficiales de laboratorio de la materia de Lácteos. Escuela de Química. Universidad La Salle. México, D.F.
- 45.- Elaboración de queso Oaxaca. (1988) Prácticas oficiales de laboratorio de la materia de Lácteos. Escuela de Química. Universidad La Salle. México, D.F.

- 46.- Obtención de queso Chihuahua. (1988) Practicas oficiales del laboratorio de la materia de Lácteos. Escuela de Química. Universidad La Salle. México, D.F.
- 47.- Hernández, M.; Chavez, A. y Bourger, H. (1987) Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. - Tablas de uso práctico. Instituto Nacional de Nutrición. 10a. edición Pág: 18
- 48.- Aminoacid Content of Foods and Biological Data on Proteins. (1970) Food Policy and Food Science, Nutrition Division, FAO. FAO: Nutritional Studies No. 24.- FAO-United Nations; Rome, Italy.
- 49.- Calvo, C. y Morales, J. (1985) Manual de Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos. Instituto Nacional de Nutrición. Page: 29, 65, 105 y 128.
- 50.- Técnica Esteroclorhidrica para la determinación de grasas. Industrias Danone de México.