

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nuevas observaciones sobre el valor nutritivo de la harina de pescado y su efecto suplementario sobre harina de trigo y pan

WERNER G. JAFFÉ
Instituto Nacional de Nutrición

El alto valor biológico de las proteínas de pescado ha estimulado numerosos estudios sobre su uso como suplemento de dietas experimentales (1, 2, 3, 4, 5), así como también ensayos para su empleo en humanos (6, 7, 8). Generalmente, los resultados han sido muy satisfactorios y en todos los casos en que las harinas empleadas han sido de alta calidad, se pudo demostrar su gran valor biológico, siendo la aceptabilidad generalmente buena, inclusive en experimentos con humanos, agregando cantidades de harina de pescado hasta un 10% en los platos preparados. Varias experiencias efectuadas en humanos por el autor, y que no han sido publicadas, dieron resultados similares.

La importancia de la harina de pescado para los países de un consumo suboptimal de proteínas y muy especialmente para aquellos con clima tropical es evidente. Un producto de esta clase, preparado según los requerimientos técnicos correspondientes, es completamente estable, no requiere refrigeración, es muy simple para transportar y de alta concentración, ya que tiene un porcentaje de proteínas que oscila entre 70-85%. Además de ser una excelente fuente de proteínas, es rico en calcio, hierro y varias vitaminas del complejo B (9). En todos los países donde su producción es económicamente posible debe constituir un suplemento dietético muy valioso.

En un estudio anterior (10) hemos investigado, además de la composición de numerosos pescados y harinas, el uso de estas últimas como suplemento del pan y también su posible toxicidad.

En el presente trabajo se han ampliado estos estudios, comparando el efecto suplementario en el pan y la harina de trigo y siguiendo las observaciones de animales alimentados con harina de pescado por dos generaciones.

PARTE EXPERIMENTAL

Para los experimentos se usaron ratas blancas de nuestra cría, descendientes de la raza "Sprague Dawley". Se mantuvieron en jaulas individuales, dándoles comida y agua "ad libitum", tomando nota del peso dos veces semanales. Antes de iniciar los experimentos habían sido alimentados con una dieta comercial para ratas ("Purina").

Para los ensayos 1 y 2 se usaron ratas machos con un peso entre 40 y 45 gramos. Por la necesidad de producir las crías en nuestro laboratorio, no nos fue posible efectuar todos los experimentos simultáneamente. En cada ensayo se distribuyeron animales de por lo menos 3 crías, de manera que en cada serie había igual número de ratas de cada cría.

En los ensayos de reproducción se usaron hembras alimentadas con la misma dieta comercial y mantenidas en jaulas comunes hasta que salieron preñadas. Entonces se separaron y se colocaron en jaulas individuales, con la dieta experimental. Las crías se pesaron el día de su nacimiento y al cabo de 3 y 4 semanas se determinaron los pesos individualmente. Las madres se eliminaron a las 4 semanas de haber nacido la cría. Estas se dejaron en jaulas comunes hasta que salieron otra vez hembras preñadas, que se manejaron de igual manera para criar la segunda generación. Estas siempre recibieron la dieta experimental. Los testigos se mantuvieron con la mencionada dieta comercial para ratas.

De las madres de la primera y segunda generación, como también de las crías de la segunda generación de ambos sexos se sacrificaron 10-12 animales c. u., se fijaron sus órganos en formol al 10% y se sometieron al estudio histológico con las técnicas corrientes.

La harina de pescado usada era en parte un producto nacional, preparado de sardinas enteras en una fábrica de Cumaná (Edo. Sucre) y en parte un producto adquirido de la fábrica "Viobin" en Monticello, Ill. (EE.UU.). El producto nacional no era desodorizado y tenía un contenido de grasas del 3.3%, mientras que el producto americano era desodorizado con un contenido de extracto etérico de sólo un 0.2%. Ambos productos habían sido almacenados en nuestro laboratorio sin precauciones especiales por más de 6 meses antes de comenzar los experimentos descritos.

El pan usado en los experimentos era hecho de trigo blanco, siendo de la misma panadería y fabricación que nos preparaba los panes con harina de pescado; éstos fueron especialmente preparados para nosotros, agregando el suplemento a la harina de trigo y luego manejando ésta igual como para la fabricación de los panes corrientes (*).

Las dietas experimentales expuestas en la tabla N^o 1 se prepararon con harina de pescado, almidón, azúcar y suplementos de vitaminas y minerales según las indicaciones de Miller y Bender (5), de tal manera que el contenido de nitrógeno era 1.6% en todos los experimentos.

Las dietas de las series del segundo experimento se prepararon con harina de trigo y pan de trigo respectivamente, (este último secado a 80°C y finalmente molido) y almidón. Se suplementaron con 5% de aceite de ajonjolí, el cual contenía 0.2% de *oleum percomorfum* y 0.2% de gérmenes de trigo, 4% de mezcla de sales U. S. Pharm. XIII y 1% de una mezcla completa de las vitaminas del complejo B, inclusive vitamina B₁₂, igual como en experimentos anteriores (10). Los suplementos de harina de pescado o leche en polvo se hicieron a expensas de la harina de trigo o pan respectivamente.

La dieta de los experimentos sobre reproducción de ratas consistía de 80% de maíz amarillo molido (funche) y 20% de harina de pescado sin suplementos de vitaminas ni minerales.

La harina de pescado usada en los experimentos presentados en las tablas Nos. 2 y 3 era la de procedencia americana, marca "Viobin".

(*) Agradecemos a la panadería "Villamizar" su valiosa ayuda en la fabricación de estos panes.

RESULTADOS

La primera serie de experimentos se efectuó con el fin de determinar el valor biológico de las dos harinas de pescado que tuvimos a nuestra disposición. Se trabajó con un total de 23 series de 4 animales cada una. La técnica usada era la descrita por Miller y Bender (5) para la determinación de la utilización proteica neta (Net Protein Utilization, NPU). Las mismas series de animales se usaron para la determinación de la eficiencia proteica (Protein Efficiency Ratio, PER). Como testigos sirvieron 11 series de ratas alimentadas con caseína como fuente de proteínas.

Los resultados reunidos en la Tabla N^o 1 demuestran que entre los índices de eficiencia proteica de la harina de pescado venezolana y norteamericana no hay diferencia y ambas son iguales al valor obtenido con caseína. El valor de la utilización proteica neta fue más alta en los animales que consumieron la dieta preparada con la harina de pescado americana que en aquellos que recibieron el producto venezolano o la caseína. Ambos índices resultaron más elevados al suplementar la harina de pescado norteamericana con 0.2% de dl-metionina.

En el segundo grupo de experimentos biológicos continuamos una serie de ensayos ya publicados (10) que tuvieron por objeto el estudio de la harina de pescado como suplemento para harina de trigo blanco y pan. En 12 series de animales comparamos el efecto de suplementos de harina de pescado, leche en polvo descremada y l-lisina en harina de trigo blanca y pan blanco antes y después de la panificación. Los resultados están resumidos en la tabla N^o 2. La primera serie de esta tabla es la misma del trabajo anterior mencionado.

En los 4 primeros experimentos se compara el valor suplementario de la lisina con el de la harina de pescado. El suplemento de 2.25% de harina de pescado, sí aporta la misma cantidad de lisina como 0.2% de l-lisina clorhidrato de la dieta 280b. Evidentemente, el valor suplementario bajo las condiciones experimentales es también el mismo.

En los experimentos 5-9 se compara la leche descremada con la harina de pescado como suplemento para el pan blanco, agregando ambos productos a pan seco molido en dos niveles. El efecto estimulante observado con harina de pescado sobre el crecimiento de las ratas era considerablemente mayor que

en los casos cuando se usó leche descremada. Este efecto era mayor sobre el crecimiento diario que sobre el PER, debido probablemente al mayor contenido proteico del primer producto. Pero también este último indica que era más elevado en los ensayos con harina de pescado.

Por último se han incluido dos series experimentales sobre el valor biológico de pan de harina de trigo y pescado. En este caso se observó también un aumento considerable de la eficiencia proteica si se compara con la serie N^o 5, que recibió la dieta de pan blanco simple, aunque este aumento fue menos acentuado que en las series Nos. 8 y 9, cuando el suplemento se agregó después de la panificación, si se toma en cuenta la menor cantidad agregada en estos ensayos. Sobre la interpretación de estos resultados trataremos más adelante.

Para fines de comparación se incluye en la misma tabla el experimento N^o 12, en el cual se utilizó una dieta de almidón con harina de pescado suplementada con vitaminas y minerales. El valor de esta dieta en las condiciones experimentales usadas resultó bajo comparado con lo observado en los ensayos de la tabla N^o 1, debido indudablemente a la larga duración de estos experimentos, la cual no es apropiada para dietas de valor biológico muy elevado, porque los animales llegan a pesos corporales que ya no permiten un crecimiento óptimo.

En la tabla N^o 3 se presentan los resultados de un experimento de reproducción de ratas llevado a cabo con el fin de estudiar el efecto de un suplemento de harina de pescado en proporción elevada en la dieta de ratas durante dos generaciones seguidas.

Se compara la capacidad reproductiva y el desarrollo de las crías en el grupo experimental con otro grupo control que recibió la dieta de mantenimiento "Purina" de nuestra cría. Se registraron los siguientes datos, observados en las dos series: el número de animales nacidos en cada cría, el número de animales que vivía hasta la edad de destete de 4 semanas, el peso medio de los animales el día de su nacimiento, el peso a la edad de 4 semanas, separado para machos y hembras, el cambio de peso de las madres entre el día de nacer la cría y el día de destete, y la edad de las madres de la segunda generación al dar a luz a la cría. Las madres de la primera generación de este experimento ya habían tenido y amamantado,

por lo menos, una cría antes de iniciarse el experimento presentado.

Se calculó el error standard del valor medio y el valor "t" entre los respectivos valores observados en el grupo experimental y control. En ningún caso, este valor "t" llegó a indicar la existencia de una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos ($p > 0.05$).

De las madres de la primera generación y de cada grupo de la segunda generación se hicieron estudios histológicos en órganos de 10 madres y 12 animales de las crías (6 machos y 6 hembras) a la edad de 4-5 semanas. Después de haber sacrificado los animales mediante un golpe se fijaron partes del hígado, riñón, bazo, páncreas, corazón, pulmón, estómago, intestino delgado e intestino grueso, y se prepararon los cortes con las técnicas histológicas corrientes.

En ningún caso se han observado anomalías de ninguna clase que pudieran ser atribuidas al tratamiento dietético. Sólo en 2 madres se observaron procesos de neumonía nodular y en una infiltraciones en el miocardio (*).

DISCUSION

El presente trabajo se efectuó con el fin de estudiar más a fondo el valor suplementario de la harina de pescado en el pan de trigo y el efecto de este suplemento en la reproducción de ratas durante más de una generación. Además, se han incluido una serie de experimentos hechos para determinar el valor biológico de las dos muestras de harina de pescado a nuestra disposición.

El resultado de estos primeros ensayos calculados por la eficiencia proteica y bajo las condiciones experimentales, indica que las dos muestras tienen un valor igual al de la caseína que sirvió de comparación. En la NPU se observó una ligera ventaja de la harina de pescado norteamericana sobre la venezolana y la caseína. Probablemente, esto último indica que es algo más sensible que el primero, permitiendo descubrir diferencias tan pequeñas que no son puestas en evidencia por el PER. Sin embargo, su aplicación es más laboriosa, y tiene otras desventajas, razón por la cual no fue aplicada para

(*) Agradecemos al Prof. R. Jaffé el estudio histológico de este material.

los otros ensayos del presente trabajo. La ligera superioridad del producto americano puede estar relacionada con diferencias en el proceso de fabricación y de la materia prima utilizada.

El aumento del valor biológico de la harina de pescado por un suplemento de metionina está de acuerdo con los datos sobre su composición en aminoácidos (9), ya que se había observado que el contenido en metionina y cistina es relativamente bajo.

En los experimentos resumidos en la tabla Nº 2 la técnica fue diferente de la usada en el estudio anterior; en este último, todas las dietas se habían preparado de manera que su composición posea el mismo contenido proteico de 10%. En los ensayos presentados en estas investigaciones se usaron dietas con cantidades fijas de harina o pan respectivamente. para estudiar el efecto total, resultado de la suplementación sobre el valor biológico, como también del aumento en la cantidad de proteínas totales, logrado por dicha suplementación y que para la alimentación humana puede tener importancia adicional considerable. Por esta razón, se indica el aumento de peso absoluto, el aumento de peso por dieta consumida y el aumento de peso por proteína consumida (eficiencia proteica). Con esta técnica se sacrifica indudablemente algo de la precisión con que se determina el PER por el uso de dietas con un contenido proteico algo diferente, pero el experimento se asemeja más a las condiciones de la alimentación humana. Además, el PER ya se había determinado para combinaciones de harina de trigo o pan con harina de pescado parecidas a las de los experimentos presentados en el presente trabajo y con resultados muy similares.

Los resultados obtenidos demuestran el alto valor suplementario que tiene la harina de pescado al usarla en combinación con la harina de trigo o el pan. Además, permiten sacar algunas conclusiones adicionales.

Comparando las series Nos. 2 y 3 por ejemplo, no se nota ninguna diferencia significativa, al hacer el cálculo estadístico correspondiente. Esto se puede interpretar en el sentido de que el aumento del valor biológico de la proteína del trigo por la harina de pescado se debe al contenido de lisina de esta última. Contrario a lo esperado, el ligero aumento del contenido proteico total de la dieta no se manifestó en un aumento

seguro del PER o del crecimiento por día y animal, porque las diferencias correspondientes no tienen significado estadístico con el número de animales usados.

El valor suplementario de la harina de pescado se manifestó más claramente sobre el pan cuando la primera era incorporada después de la panificación, que en los casos en que el suplemento era agregado a la harina antes de preparar el pan. En este aspecto, los resultados de los experimentos del presente trabajo no corresponden completamente a los de la publicación anterior sobre este tema. Aunque también entonces se había observado cierta diferencia, ésta era considerablemente menor de la que se puede inferir de los datos contenidos en la tabla Nº 3. En una consulta con el fabricante de estos panes, nos manifestó que se habían hecho ciertas modificaciones en el horno usado, de manera que la temperatura de panificación era más elevada en comparación con la usada para las muestras anteriores. Es muy probable que tal cambio haya resultado en una disminución del valor biológico de un pan con harina de pescado.

Esta observación nos parece de considerable importancia, porque demuestra una vez más que al tratar de aumentar el valor nutritivo del pan, es importante tomar en consideración no sólo los ingredientes, sino también el proceso técnico de su elaboración. Los datos del trabajo anteriormente citado, así como también los de Morrison y Campbell (2) comprueban a su vez, que con las precauciones necesarias se puede lograr un pan con harina de pescado de alto valor biológico.

Los resultados presentados en la tabla Nº 3 demuestran que la dieta con 20% de harina de pescado no tenía ningún efecto nocivo en ratas criadas por dos generaciones con ella. Es de esperar que bajo las condiciones usadas en este ensayo, inclusive una ligera acción tóxica se hubiera revelado por la duración del mismo y el elevado porcentaje del suplemento usado. También es notable que no se observó ningún síntoma de deficiencia en los animales alimentados con una dieta que no se había suplementado con vitaminas o minerales. Aunque no es posible diferenciar el aporte contribuido por los dos ingredientes, maíz molido y harina de pescado, el resultado comprueba que había una utilización biológica satisfactoria de todos los nutrientes esenciales.

En conclusión se puede afirmar que la harina de pescado usada en nuestros ensayos está exenta de efectos tóxicos y que es un valioso suplemento de las proteínas de trigo. Su utilidad como suplemento del pan depende en algún grado de los métodos exactos de la panificación, pero esto ocurre también con otros suplementos tales como leche descremada y lisina.

RESUMEN

Se han determinado la eficiencia proteica y la utilización proteica neta de dos muestras de harina de pescado, una venezolana de sardinas, no desodorizada, y la otra norteamericana, desgrasada y desodorizada, encontrándose valores muy similares a los correspondientes a la caseína. La suplementación de harina de pescado con dl-metionina resultó en un aumento del valor biológico.

La suplementación de harina de trigo o pan de trigo con harina de pescado se manifestó por un aumento considerable del valor biológico, el cual era más pronunciado en el primer caso.

Se mantuvo un grupo de ratas con una dieta compuesta de 20% de harina de pescado desgrasada y desodorizada y 80% de harina de maíz amarillo sin ningún otro suplemento, estudiando el desarrollo y la reproducción durante dos generaciones y comparándolos con un grupo control mantenido paralelamente con una dieta comercial para ratas ("Purina"). No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa, ni se encontraron lesiones histológicas que pudieran atribuirse a la alimentación, en los órganos de 24 ratas del grupo experimental.

SUMMARY

Protein efficiency and net protein utilization have been determined for 2 different samples of fish meal, or fish flour respectively, one venezuelan from sardines and not deodorized, the other north american defatted and deodorized. Both had values very similar to casein, the NPU being slightly higher in the north american sample. Supplementation with methionine resulted in an increase of the biological value of

the sample tested. Supplementation of white wheat flour or white bread with fish meal resulted in an marked increase of the net biological value. This increase was higher, when the supplement was added to bread after baking, than to the wheat flour prior to the panification.

When pregnant female rats were fed a diet of 80% corn meal and 20% fish flour without any other supplement, there were no statistically significant differences observable in the reproduction performance and the growth of the litters as compared with a control group fed a Purina diet, not even in the second generation, indicating the absence of any toxic effect of the fish flour.

TABLA N° 1

EFICIENCIA PROTEICA Y VALOR PROTEICO NETO DE LAS HARINAS DE PESCADO UTILIZADAS

Producto	No. de series experimentales	P.E.R. ¹	D.S. ²	N.P.U. ³	D.S. ²
Harina de pescado venezolana	3	2.70	0.618	74.8	6.3
Harina de pescado norteamericana	6	2.63	0.68	80.1	3.22
Harina de pescado americana + metionina	3	3.53	0.116	84.3	3.68
Caseína	11	2.65	0.32	76.3	4.72

1 Eficiencia Proteica.

2 Desviación Standard.

3 Utilización Proteica Neta.

Cada serie experimental tenía 6 ratas machos de 40 a 45 gramos.

TABLA Nº 2
CRECIMIENTO DE RATAS ALIMENTADAS CON LAS DISTINTAS DIETAS EXPERIMENTALES

No. del experimento	No. de dieta y composición	Crecimiento por animal y día	Crecimiento por gramo de dieta consumida	Eficiencia proteica P.E.R.	N. %
1	280a Harina de trigo.	0.176 ± 0.029	0.038 ± 0.028	0.23 ± 0.013	1.80
2	280b Id. + 0.2% de l-lisina HCl	1.81 ± 0.082	0.148 ± 0.005	1.29 ± 0.043	1.83
3	295 Harina de trigo + 2.25% de harina de pescado.	1.50 ± 0.083	0.156 ± 0.059	1.33 ± 0.502	1.88
4	302 Harina de trigo + 3.75% de harina de pescado.	2.08 ± 0.315	0.162 ± 0.013	1.50 ± 0.120	1.93
5	303 Pan blanco.	0.186 ± 0.0346	0.0315 ± 0.0063	0.26 ± 0.053	1.91
6	304 Id. + 1.6% leche descremada en polvo.	0.738 ± 0.084	0.075 ± 0.037	0.63 ± 0.30	1.97
7	305 Id. + 3.1% de leche descremada en polvo.	1.07 ± 0.077	0.105 ± 0.026	0.85 ± 0.21	1.99
8	307 Id. + 1.6% de harina de pescado.	1.04 ± 0.061	0.116 ± 0.0041	0.89 ± 0.0031	2.10
9	306 Id. + 3.1% de harina de pescado.	1.59 ± 0.071	0.135 ± 0.0112	1.01 ± 0.083	2.16
10	318 Pan blanco hecho con 2.5% de harina de pescado.	0.405 ± 0.0255	0.056 ± 0.0038	0.53 ± 0.036	2.05
11	299 Pan blanco hecho con 10% de harina de pescado.	1.86 ± 0.22	0.152 ± 0.0133	1.05 ± 0.091	2.33
12	301 Almidón + 12% de harina de pescado.	2.31 ± 0.18	0.182 ± 0.0121	1.98 ± 0.13	1.75

Cada experimento se efectuó con 8 ratas machos y duró 6 semanas. Las dietas 304-307 consistían de pan blanco secado, molido y suplementado con los suplementos indicados, además de vitaminas, minerales y aceite, como se indica en el texto. Las dietas 299 y 318 se prepararon con panes hechos de harina de trigo y harina de pescado.

TABLA N° 3
COMPARACION DE LA REPRODUCCION DE RATAS CON DIETAS DE HARINA DE MAIZ MAS HARINA DE PESCADO
(EXPERIMENTAL) Y DIETA COMERCIAL PARA RATAS (CONTROL)

PRIMERA GENERACION

Dieta	N° de madres	N° de animales/cría	N° de destetados	Peso al nacer	Peso a las 4 semanas en gr.		Cambio de peso de la madre en gr.	Edad de la madre en días
Experimental	10	8.9 ± 1.14	5.6 ± 1.23	5.82 ± 0.21	70.7 ± 3.85	62.6 ± 4.28	-6.25 ± 5.48	
Control	10	8.3 ± 0.8	4.7 ± 1.34	5.15 ± 0.35	66.8 ± 4.2	57.6 ± 4.3	+6.0 ± 7.4	

SEGUNDA GENERACION

Experimental	16	8.7 ± 0.58	6.2 ± 0.72	6.1 ± 0.12	72.6 ± 4.04	62.0 ± 2.97	+8.77 ± 5.0	92 ± 4.2
Control	16	8.9 ± 0.73	6.7 ± 0.70	6.0 ± 0.2	66.1 ± 3.1	58.6 ± 2.6	+0.2 ± 6.3	97 ± 5.0

BIBLIOGRAFIA

- (1) Sure, B.—*J. Nutr.* 61, 547 (1957), *J. Nutr.* 63, 409 (1957).
- (2) Morrison, A. B., y Campbell, J. A.—*Can. J. Biochem. Physiol.* 38, 467 (1960).
- (3) Santa María, J. V.—*Arch. Venez. Nutr.* 1 (1), 13 (1956).
- (4) Schiller, K.—*Arch. f. Tierernährung* 7, 244 y 250 (1957).
- (5) Miller, D. S., y Bender, A. E.—*Brit. J. of Nutr.* 9 (4), 382 (1955).
- (6) Autret, M., y Van Veen, A. G.—*Am. J. Clin. Nutr.* 3, 234 (1955).
- (7) Costamaillere, L., y Ballester, D.—*Arch. Venez. Nutr.* 7 (1), 37 (1956).
- (8) Beck, F.—*Münch. med. Wschr.* 100, 934 (1958).
- (9) Jaffé, W. G., Nolberga, B., Embden, C., García, S., Olivares, H., y Gross, M.—*Arch. Venez. Nutr.* 7 (2), 163 (1956).
- (10) Jaffé, W. G.—*Zeitschr. f. Lebensmittel-Untersuchung u. Forschung* 113, 472 (1960).