

ALAN

Volumen 51. N° 4. Diciembre 2001

ARCHIVOS

Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

LATINOAMERICANOS

Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición

DE NUTRICION




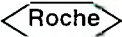
Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN) es editado como órgano oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), para la divulgación de conocimientos en el campo de la alimentación y de la nutrición principalmente en el Hemisferio Americano. En sus páginas se acogen manuscritos en español, inglés, portugués y francés, tanto de miembros como de aquellos que no sean miembros de la Sociedad, y de cualquiera de las siguientes categorías: 1. Trabajos generales (revisiones científicas críticas); 2. Trabajos de investigación (originales); 3. Trabajos de nutrición aplicada (resultados analíticos de programas de intervención y discusión de recomendaciones de aplicación práctica), y 4. Cartas al Editor (comentarios cortos de interés general o relacionados con resultados o conceptos científicos publicados previamente en *Archivos*).

Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN) is the official publication of the Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), for the dissemination of knowledge in the fields of food and nutrition, principally throughout the American Hemisphere. Articles in Spanish, English, Portuguese and French are accepted, both from the Society members and from nonmembers, in the following categories: 1. General articles (critical scientific reviews); 2. Research articles (originals); 3. Papers in applied nutrition (analytical results from intervention programs and discussion of recommendations of practical application), and 4. Letters to the Editor (short comments of general interest or about scientific facts and concepts previously published in *Archivos*).

Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Apartado 62.778, Chacao,
Caracas 1060, Venezuela, S.A.
Fax (58.212) 286.00.61

ENTIDADES PATROCINANTES

- **Fundación para la Alimentación y Nutrición “José María Bengoa”**
Caracas, Venezuela
- **Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)**
Guatemala, Guatemala C.A.
- **INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION**, Venezuela
- **CONICIT**, Venezuela
-  **Kellogg's** América Latina
-  **Roche** **PRODUCTOS ROCHE**, América Latina
- **Fundación POLAR**
- **Protein Technologies International**
Caracas, Venezuela
- **Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo. CANIA**
- **Alimentos LE BISCUIT C.A.**
- **PARMALAT de Venezuela**
- **BASF Venezolana S.A.**
- **Cadipro Milk Products, C.A.**
- **ADM Protein Specialties**
- **Coca-Cola de Venezuela**
- **Juan Van Heel, C.A.**

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION se complace en destacar y agradecer el apoyo económico recibido del CONICIT para la edición sostenida de la revista.

Bajo la responsabilidad del Capítulo Venezolano de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición.

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 51

DICIEMBRE 2001

Nº 4

Contenido

ARTICULOS GENERALES

La nutrición en la práctica deportiva: Adaptación de la pirámide nutricional a las características de la dieta del deportista

Marcela González-Gross, Angel Gutiérrez, José Luis Mesa, Jonatan Ruiz-Ruiz, Manuel J. Castillo..... 321

Oligosacáridos de la leche humana. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante

Montserrat Gudiel-Urbano e Isabel Goñi..... 332

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

Total dietary fiber in urban and rural Costa Rican adolescents' diets

Rafael Monge-Rojas, Hilda Nuñez Rivas 340

Efectividad de dos indicadores antropométricos en el diagnóstico nutricional de gestantes eutróficas y desnutridas

Ingrid Rached de Paoli, Gladys Henríquez Pérez, Arelis Azuaje Sánchez 346

Cambios en las variables antropométricas durante la gestación en mujeres eutróficas

Ingrid Rached de Paoli, Arelis Azuaje Sanchez, Gladys Henríquez Pérez 351

Bioquímica Nutricional

Obesidade mórbida em mulheres - Estilos alimentares e qualidade de vida

Graziela Aparecida Nogueira de Almeida, Sonia Regina Loureiro, José Ernesto dos Santos 359

Microbiología de Alimentos

Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, *Staphylococcus* sp. y hongos en ensaladas para perro caliente expandidas en la ciudad de Maracay, Venezuela

Laura Acevedo, Clever Mendoza y Rafael Oyón..... 366

Cinética de crecimiento y producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* en leche cruda a temperaturas de refrigeración

Costa M., Gómez M.F., Molina L.H. y Romero A. 371

Tratamientos de desinfección de lechugas (*Lactuca sativa*) y frutillas (*Fragaria chiloensis*)

Luis López V, José Romero R. y Fernando Ureta V. 376

Ciencia de Alimentos

Efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*)

Vilma Quiral, Lilian Abugoch, Julia Vinagre y M^a Angélica Larraín 382

Atividade inibitória de tripsina do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): avaliação crítica dos métodos de determinação

Maria Inés Genovese and Franco M. Lajolo 386

LatinFood. Composición de Alimentos

Carotenoid composition and vitamin A value of an Argentinian squash (*Cucurbita moschata*)

González Evangelina, Montenegro Mariana A., Nazareno Mónica A., López de Mishima Beatriz A. 395

Acidos grasos en sardina en salsa de tomate de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano

María Isabel castro González , Sara Montaña Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo 400

Acidos grasos del atún de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano, en aceite y agua

María Isabel Castro González, Sara Montaña Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo 407

INFORMACION PARA LOS AUTORES 414

INDICE GENERAL DEL VOL. 51, 2001 421

INDICE DE AUTORES 426

INDICE DE MATERIA 434

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 51

DECEMBER 2001

Nº 4

Contents

Pages

GENERAL ARTICLES

Nutrition and sport practice. Adaptation of the food guide pyramid to the characteristics of sport diet
Marcela González-Gross, Angel Gutiérrez, José Luis Mesa, Jonatan Ruiz-Ruiz, Manuel J. Castillo..... 321

Human milk oligosaccharides. Their role in breast-fed infants health and development
Montserrat Gudiel-Urbano e Isabel Goñi..... 332

RESEARCH PAPERS

Human Nutrition

Total dietary fiber in urban and rural Costa Rican adolescents' diets
Rafael Monge-Rojas, Hilda Nuñez Rivas 340

The effectiveness of two anthropometric indicators in the nutritional diagnosis in pregnant women
Ingrid Rached de Paoli, Gladys Henríquez Pérez, Arelis Azuaje Sánchez 346

Changes of the anthropometric variables during gestation in well-nourished women
Ingrid Rached de Paoli, Arelis Azuaje Sanchez, Gladys Henríquez Pérez 351

Nutritional Biochemistry

Morbid obesity in women - Eating style and quality of life

Graziela Aparecida Nogueira de Almeida, Sonia Regina Loureiro, José Ernesto dos Santos 359

Food Microbiology

Total and fecal coliforms, some enterobacteria, *Staphylococcus* sp. and moulds in salads for hot dogs sold in Maracay city, Venezuela

Laura Acevedo, Clever Mendoza y Rafael Oyón..... 366

Growth kinetics and proteases production of *Pseudomonas fluorescens* in raw milk at refrigeration temperatures

Costa M., Gómez M.F., Molina L.H. y Romero A. 371

Disinfection treatments for lettuces (*Lactuca sativa*) and strawberries (*Fragaria chiloensis*)

Luis López V, José Romero R. y Fernando Ureta V. 376

Food Science

Effect of high temperature treatments on the available lysine of mora crab meat

Vilma Quitral, Lilian Abugoch, Julia Vinagre y M^a Angélica Larraín..... 382

Trypsin inhibitory activity of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.): critical evaluation of methods for determination

Maria Inés Genovese and Franco M. Lajolo 386

LatinFoods. Food Composition

Carotenoid composition and vitamin A value of an Argentinian squash (*Cucurbita moschata*)

González Evangelina, Montenegro Mariana A., Nazareno Mónica A., López de Mishima Beatriz A. 395

Fatty acids in sardine canned in tomato sauce from different fishing areas of the Mexican Pacific

María Isabel Castro González , Sara Montañó Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo 400

Fatty acids of the tuna of different fishing areas of the Mexican Pacific, canned in oil and water

Maria Isabel Castro González, Sara Montañó Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo 407

INFORMATION FOR AUTHORS 414

GENERAL INDEX OF VOLUMEN 51, 2001 421

AUTHOR INDEX 426

SUBJECT INDEX 434

La nutrición en la práctica deportiva: Adaptación de la pirámide nutricional a las características de la dieta del deportista

Marcela González-Gross, Angel Gutiérrez, José Luis Mesa, Jonatan Ruiz-Ruiz, Manuel J. Castillo

Universidad de Granada. Granada- España, Rheinische Friedrich-Wilhelm Universitaet. Bonn. Germany

RESUMEN. A pesar de los avances registrados en el campo de la nutrición deportiva y la importancia que una adecuada alimentación tiene para mejorar el rendimiento físico-deportivo, los deportistas tanto recreacionales como profesionales olvidan con frecuencia incluir la planificación de una dieta y una pauta de hidratación óptimas dentro de la estrategia global de preparación para la práctica deportiva. Las adaptaciones fisiológicas y metabólicas del organismo como consecuencia del ejercicio físico conducen a la necesidad de aumentar la ingesta de calorías (de acuerdo al gasto energético) y de proteínas (en base a las necesidades tróficas del organismo). Igualmente, es preciso prestar una mayor atención a la ingesta de vitaminas y minerales, especialmente las vitaminas del grupo B, así como al cinc y al cromo. Esto permite optimizar el metabolismo de los hidratos de carbono, limitantes últimos de la duración del ejercicio. Durante la fase de entrenamiento, la dieta debe aportar un 60% carbohidratos, la ingesta proteica se cifra en torno a 1,2- 2 g/kg/día y, en general, se deben seguir las recomendaciones de la pirámide nutricional. Durante las fases pre-, per- y post-competición, el aspecto saludable de la dieta se complementa con la necesidad de obtener unos buenos rendimientos físico-deportivos así como garantizar una rápida y eficaz recuperación. De nuevo son los hidratos de carbono de índice glucémico alto o medio y el agua los elementos de la dieta a los que hay que prestar mayor atención. En conclusión, el deportista debe someterse a un régimen dietético adecuado al incremento del gasto que sufre y al mayor recambio metabólico a que se ve sometido. La pirámide nutricional es una representación gráfica que facilita la comprensión y el seguimiento de una dieta saludable. En el presente trabajo se adapta y presenta dicha pirámide a las características de la alimentación del deportista, considerando de una manera eminentemente práctica los tipos y cantidades de alimento que deben ser ingeridos en base al aporte nutricional que determinan para el sujeto que realiza actividad físico-deportiva. **Palabras clave:** Deporte, nutrición, rendimiento, pirámide nutricional.

SUMMARY. Nutrition and sport practice. Adaptation of the food guide pyramid to the characteristics of sport diet. In spite of all the advances in sport nutrition and the importance of an adequate food intake in order to improve sport performance, both recreational and professional athletes forget frequently to include planning an optimum diet and fluid intake in their global strategy for performance. Physiological and metabolic adaptations produced as a consequence of physical exercise lead to the necessity of increasing caloric (in accordance to energy output) and protein (based on the trophic needs of the organism) intake. Likewise, paying major attention to vitamin and mineral intake, specifically B vitamins and zinc and chromium, is required, in order to optimize carbohydrate metabolism, the ultimate limiting factor for sport performance. During the training phase, 60% of calories should come from carbohydrates, protein intake should be 1.2 – 2 g/kg/day and athletes should follow the recommendations of the food guide pyramid. During the pre-, per- and post-competition phase the healthy aspect of the diet passes to a second level, in order to obtain good sport performance and to guarantee a fast and effective recovery. Again, carbohydrates with a high or medium glycaemic index and water are the nutrients which have to be calculated more thoroughly. In conclusion, athletes have to follow a diet that is adequate to their higher energy output and to their higher metabolic turnover. The food guide pyramid is a graphic expression which facilitates the comprehension and following of a healthy diet. In the present article, the authors introduce the pyramid adapted to the characteristics of sports nutrition, with easy-to-follow practical recommendations regarding the kind and amounts of foodstuffs that should be consumed in order to cover nutrient needs of people who exercise regularly.

Key words: Sports, nutrition, performance, food guide pyramid.

INTRODUCCION

En las últimas dos décadas, los avances en Medicina Deportiva, Biomecánica, Fisiología y Psicología deportiva han determinado importantes cambios en el mundo del deporte, particularmente en el deporte de alta competición. Así, se han conseguido establecer los principales

determinantes del rendimiento deportivo y la forma de optimizar los estímulos que conllevan la mejor adaptación para conseguir metas y records cada vez más altos. Entre esos condicionantes se encuentra, lógicamente, una nutrición adecuada a las características del sujeto, a la actividad física que realiza y a las condiciones medioambientales en las que se desarrolla la práctica deportiva (1-3). Una adecuada

alimentación constituye, en primer lugar, una condición previa para poder efectuar un esfuerzo físico de cierta intensidad y/o duración. En segundo lugar, tratará de equilibrar la pérdida hidroelectrolítica y energética durante el ejercicio físico, mediante el aporte exógeno de nutrientes justo al inicio y a lo largo del mismo, contribuyendo a preservar el glucógeno muscular en esfuerzos continuos y prolongados, interválicos, y esfuerzos de corta duración y elevada intensidad (80-95%) (4). En tercer lugar, una adecuada alimentación asegura una rápida y eficiente reposición de los sustratos energéticos deplecionados durante el ejercicio y potencia los procesos anabólicos, lo que nos permite una correcta recuperación y realizar nuevas sesiones de entrenamiento o competición en las mejores condiciones (5-7). A pesar de los avances científicos registrados, sigue existiendo un importante desfase entre los conocimientos que hoy día se posee en materia de nutrición deportiva, las recomendaciones que los deportistas reciben de personas expertas en nutrición o de los propios entrenadores y las prácticas dietéticas que, en realidad, siguen dichos deportistas (8-10). Consideramos, pues, oportuno y de especial interés práctico disponer de una revisión que aborde de una manera sencilla y práctica la problemática de la alimentación del deportista.

Adecuación de la ingesta de energía y nutrientes a la práctica deportiva

La realización regular de ejercicio físico a una intensidad media-alta (60-70% de la capacidad aeróbica máxima o VO_2 máx) conduce a una serie de cambios metabólicos y fisiológicos, que marcan las diferencias nutricionales con respecto a las personas sedentarias. Estos cambios están influenciados por el tipo, frecuencia, intensidad, duración del ejercicio y condiciones ambientales en las que se realiza la práctica deportiva, además de las características propias del atleta como son edad, sexo, peso, altura, estado de nutrición y entrenamiento (8,11,12). Es preciso tener en cuenta todos estos factores con el fin de aportar la adecuada cantidad de energía (calorías) y nutrientes (carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas, minerales y agua), que permitan al deportista entrenar en óptimas condiciones, obtener los mejores resultados en la competición y facilitar una pronta y eficaz recuperación tras el esfuerzo (7,12).

Energía

La ingesta energética diaria adecuada para un deportista es la que mantiene un peso corporal adecuado para un óptimo rendimiento y maximiza los efectos del entrenamiento. Es teóricamente posible considerar unas pautas generales de incremento calórico que, en comparación con la población sedentaria, es necesario aportar en función del tipo de actividad realizada y tiempo que se dedica a realizar dicha actividad. En nuestra opinión, estas pautas resultan de poca

utilidad práctica ya que la cantidad de energía consumida depende en gran medida de las características del propio deportista (edad, sexo, peso, altura, estado de nutrición y entrenamiento) y del tipo, frecuencia, intensidad y duración del ejercicio, así como de condiciones ambientales a las que se realiza dicho ejercicio (1,8,11,12). Por tanto, cada deportista ajustará el aporte de energía aumentando o disminuyendo las cantidades ingeridas según sus necesidades individuales, recomendándose, en términos generales, la ingesta de 45-50 kcal/kg de peso corporal / día para los deportistas que entrenen durante más de 75-90 min/día (13), pudiendo alcanzar unas 6000-7000 kcal/ día cuando se han de realizar duros entrenamientos o competiciones (i.e. Tour de Francia) (14). Con frecuencia, son el propio sistema de control de peso corporal y la sensación de apetito los que en última instancia condicionan la cantidad a ingerir. En general, y puesto que se trata de sujetos deportistas que se encuentran en un peso adecuado, se debe perseguir mantener una constancia en la masa y composición corporal. No obstante, en aquellos deportes donde el bajo peso corporal puede condicionar el éxito del deportista (gimnasia rítmica, gimnasia deportiva, patinaje artístico, etc) se producen fuertes restricciones energéticas, poco controladas por los entrenadores y/o equipo técnico. Así, se han encontrado (15) ingestas de 28.5 ± 5.6 kcal/kg de peso corporal, en 20 gimnastas del equipo nacional italiano de gimnasia rítmica, a lo que se sumaban déficit de minerales (calcio, hierro y cinc), lo que ponía en peligro su rendimiento y su salud. Resultados similares se obtuvieron al estudiar las ingestas calóricas de 161 patinadores de élite (80 hombres y 81 mujeres), resultando cantidades de 2,329 kcal/día para los hombres y 1,545 kcal/día para las mujeres (16), y en 28 gimnastas del equipo nacional de Estados Unidos (17). Al estudiar los hábitos dietéticos de 62 atletas de élite seleccionados para participar en el Campeonato de Asia, se apreció que los sprinters, saltadores y lanzadores (54% hombres y 65% mujeres) presentaban déficit de al menos uno de los micronutrientes (i.e., vitaminas o minerales). La dosis energética media fue de 3,141 kcal (± 592) para los atletas masculinos y 2,508 kcal (± 537) para los femeninos (18). Estos resultados ponen de manifiesto el peligro de malnutrición sufrido por este sector de población, lo que unido a los altos regímenes de actividad física que practican les podría conducir a un riesgo de inmunosupresión (19).

Los conocimientos en materia de alimentación y nutrición entre deportistas y entrenadores suelen ser escasos. Así, Smith-Rockwell y col. (9) estudiaron los conocimientos sobre nutrición deportiva de un grupo de entrenadores de atletismo de 1ª división de la Universitaria. Los resultados mostraron que más del 30% de los atletas habían padecido desajustes dietéticos durante el año anterior, y tan sólo un 6% de ellos no tomaban suplementos nutricionales de una forma habitual.

Otros datos (20) resultan ser más alentadores. Así, tras estudiar a 3,540 sujetos de entre 9-19 años de edad, encontraron que aquellos atletas que realizaban actividad física regular ingerían una dosis diaria energética acorde con los requerimientos de su grupo de edad/género.

Respecto al total de calorías ingeridas, los hidratos de carbono deben aportar un 55-60% de las mismas, las proteínas un 10-15% y las grasas un 20-25%, no superando los ácidos grasos saturados el 10% del aporte calórico total, debiendo ser el aporte calórico del ácido linoleico el 3-5% y el del ácido linolénico el 0.5-1% (21). En las fases de mayor entrenamiento, se debe aumentar el porcentaje de hidratos de carbono hasta el 65-70% (1). Recientemente se ha propuesto la denominada *zone diet*, un régimen dietético para mejorar el rendimiento físico (22, 23). La *zone diet* se basa en el reparto 40/30/30. Esto corresponde a una ingesta del 40% de las calorías procedentes de carbohidratos, un 30% procedente de triglicéridos y un 30% procedente de proteínas. De hecho, la ingesta proteínica es de 1.8-2.2 g/kg masa magra/día. Esta distribución supuestamente disminuye la relación insulina/glucagón y aumenta los eicosanoides vasoactivos, lo que permite una mayor liberación de oxígeno a los músculos, mejorando el rendimiento en resistencia, si bien de ello no existen datos científicos concluyentes (22,23). En la medida de lo posible, el deportista ha de prescindir de los alimentos que proporcionan calorías vacías, hecho que requiere una re-educación, dado que con frecuencia se recurre a refrigerios y *snacks* para cubrir una mayor demanda energética (1, 16), ante cuyo abuso pueden aparecer deficiencias en micronutrientes.

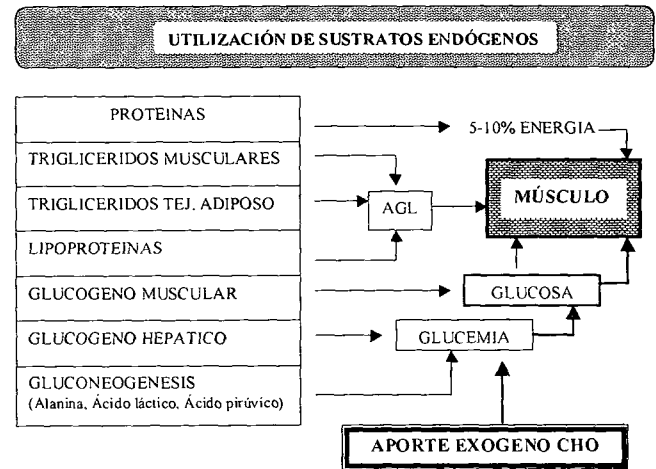
Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono son los combustibles más importantes como fuente energética rápida para el organismo, ya que su oxidación produce 6.3 moles de ATP por mol de O₂ frente a los 5.6 moles de ATP por mol de O₂ utilizado para oxidar grasas. La mayoría de los deportes se realizan a intensidades superiores al 60-70% del VO₂max, es decir, cerca del límite de la capacidad máxima de absorción de oxígeno del organismo, por lo que la fuente energética principal son los carbohidratos provenientes del glucógeno muscular y glucosa sanguínea (24). Aunque los depósitos corporales de carbohidratos son limitados, el tipo de alimentación puede incrementar estas reservas (24) (Figura 1). El uso de esas reservas variará con la intensidad y duración del ejercicio, el grado de entrenamiento, y las condiciones ambientales (25). Entre los diferentes tipos de carbohidratos que consumimos podemos destacar los monosacáridos (glucosa, fructosa y galactosa), disacáridos (maltosa, sacarosa y lactosa), y los polímeros de glucosa como son las maltodextrinas y el almidón (una serie de moléculas de glucosa acopladas). Sus diferencias en la osmolaridad y estructura repercutirán en la

palatabilidad, digestión, absorción, liberación de varias hormonas y disponibilidad de la glucosa para ser oxidada en el músculo (25).

FIGURA 1

Disponibilidad de sustratos energéticos del músculo. CHO: hidratos de carbono; AGL: ácidos grasos libres; TEJ: tejido



Una persona puede almacenar alrededor de 1500-2000 kcal como glucosa sanguínea y glucógeno (1). En la sangre sólo se dispone de 50 kcal de glucosa para uso inmediato. El glucógeno hepático puede proporcionar alrededor de 250-300 kcal. El glucógeno muscular en corredores de larga distancia entrenados se cifra alrededor de 130 mmol/kg, encontrándose en ellos valores superiores a los sujetos sedentarios o que practican otros deportes de menor duración (26). Los almacenes de carbohidratos, además de ser escasos, ocupan mucho volumen, pues cada gramo de glucógeno se almacena con 2.6 g de agua (27). Debido a que los carbohidratos son limitantes del ejercicio incluso en los casos en los que las grasas son utilizadas como principal fuente de combustión (28), la dieta del deportista debe ser rica en carbohidratos para hacer frente al elevado consumo y mantener repletas las reservas de glucógeno. Se recomienda la ingesta de 5-7 g/kg de peso corporal/día de carbohidratos para reemplazar la pérdida provocada por el entrenamiento diario, lo que sube a 7-10 g/kg de peso corporal /día para necesidades incrementadas por entrenamientos de resistencia extremos (10).

Grasas

Aunque es preciso consumir grasas para asegurar el aporte de ácidos grasos esenciales (29) y vitaminas liposolubles, no está recomendada una dieta muy rica en grasas. El metabolismo de las grasas durante el ejercicio depende de

varios factores como son: a) tipo, duración e intensidad del ejercicio (la entrada de ácidos grasos de cadena larga a la mitocondria se inhibe con altas intensidades de ejercicio (30), a la vez que se inhibe (31) la actividad de la acetil-CoA carboxilasa durante el ejercicio); b) reservas de glucógeno (a menores reservas de glucógeno (32), mayor oxidación de ácidos grasos); c) preparación física del individuo (los atletas entrenados oxidan más ácidos grasos durante el ejercicio (33)); d) composición de la dieta ingerida los días previos al ejercicio (una dieta alta en grasas incrementa la oxidación de éstas durante el ejercicio (34). A esto hay que añadir el status hormonal y el flujo glucolítico (inversamente proporcional a la oxidación de ácidos grasos de cadena larga (35). Con el entrenamiento se produce una mayor oxidación de grasas (25), debido a una mayor facilitación de entrada de los ácidos grasos libres a la mitocondria (36).

Proteínas

La ingesta proteica adecuada para obtener un óptimo rendimiento deportivo ha sido tema de discusión de científicos y expertos desde hace más de un siglo. Es obvio que el ejercicio físico regular incrementa las necesidades de proteínas debido a la contribución del catabolismo proteico al requerimiento de combustible del ejercicio y al balance nitrogenado negativo que resulta de la intensificación de los procesos que liberan energía en el transcurso de la actividad muscular (37). De ahí que una ingesta rica en carbohidratos y proteínas, antes y después del ejercicio, reduzca el catabolismo durante el ejercicio y promueva un perfil hormonal más anabólico tras él (38). La ingesta recomendada de proteínas en la dieta (39) dependerá de: a) la composición de la misma; b) la ingesta energética total; c) la intensidad y duración del ejercicio; d) el entrenamiento; e) la temperatura (las bajas temperaturas incrementan la oxidación de proteínas (40)); f) el sexo; g) la edad. Se recomienda una ingesta entre 1,2 y 2 g/kg peso corporal/día, en función de la edad, actividad y grado de entrenamiento del deportista, debiendo proveer el 10-15% del total de las calorías (1). Esto debe repartirse a partes iguales entre proteínas de origen animal y de origen vegetal (29).

Vitaminas y minerales

Las vitaminas y los minerales son importantes reguladores metabólicos, por lo que la práctica de actividades deportivas va acompañada de un aumento en los requerimientos de las vitaminas implicadas en el metabolismo energético, recomendándose ingestas de 0,4, 1,1 y 6,6 mg /1000 kcal de tiamina, riboflavina y niacina, respectivamente (1,29). Al aumentar la ingesta de proteínas habrá que incrementar el consumo de piridoxina, que debe ser de 2 mg/día cuando la ingesta proteica diaria supere los 100 g (41). Debido al fuerte estrés oxidativo inducido por el ejercicio físico, es aconsejable

el consumo de antioxidantes, como por ejemplo, las vitaminas E (ver revisión Takanami, (42) y C (43, 44). Esta ingesta no hay que realizarla de manera aguda o episódica (45), sino de manera continuada.

Clarkson (46) propuso al cinc, cobre, selenio, cromo y hierro como potenciadores del rendimiento. De todos ellos, el que presenta mayor problema para los deportistas es el hierro (47-49). Su déficit puede verse favorecido por la hemólisis intravascular, que puede ser debida en parte al impacto repetido del pie con el suelo, especialmente en corredores (50), bailarinas (47) y triatletas (51), dependiendo del tipo de superficie, intensidad del impacto y frecuencia de las sesiones (52). A esto se suma el mayor recambio de hierro que se produce a nivel de la mioglobina muscular. La anemia, además, se ve potenciada por la expansión del volumen plasmático (46, 48), dando lugar a lo que se conoce como *anemia del deportista*. En el estudio de Hinton y colaboradores (53), la suplementación de 100 mg diarios de sulfato ferroso en mujeres deportistas con deficiencia de hierro, pero no anémicas, mejoró la adaptación al ejercicio aeróbico. Se han descrito pérdidas aumentadas de minerales en deportistas en comparación con sedentarios, tanto por sudor como por orina (54). Lo cual puede afectar al rendimiento y determinar manifestaciones clínicas. Así, por ejemplo, Micheletti y colaboradores (55) destacaron como posibles efectos de un déficit de cinc los siguientes: anorexia, pérdida significativa de peso corporal, fatiga latente, disminución de la resistencia y riesgo de osteoporosis.

Sabiendo que los micronutrientes están inmersos en la mayoría de los procesos bioquímicos que sostienen la vida, tales como respiración celular, reproducción del DNA, conservación de la integridad de la membrana, detección y destrucción de radicales libres, se debe prestar una especial atención, tanto a su posible déficit como a proporcionar una suplementación inadecuada.

Agua

El agua es una prioridad durante el ejercicio. Una pérdida del ~2% del peso corporal, altera la homeostasis del volumen intracelular y extracelular en el organismo, provocando un descenso de la funcionalidad celular y de la volemia efectiva. Como consecuencia de esto último, disminuye la presión arterial media y el gasto cardíaco. Se reduce así la liberación de O₂ a los músculos activos, lo que potencia la activación de las rutas glucolíticas anaerobias, con la consiguiente formación de lactato intramuscular y sanguíneo (12,56,57). En consecuencia, los sistemas cardiovascular, termorregulador, metabólico, endocrino o excretor, se encuentran mermados, lo que puede afectar a la aparición temprana de fatiga física y mental durante el ejercicio (58-60). Cuando la deshidratación alcanza niveles del 7-10%, puede provocar un paro cardíaco e incluso la muerte (11,59).

Por este motivo, el deportista no debe olvidar incluir el agua dentro de su alimentación no solo de manera diaria, sino también y de manera específica, antes, durante y después de la sesión de entrenamiento o la práctica de actividad física (29).

Pautas dietéticas básicas para el sujeto deportista

La alimentación del deportista es similar a la establecida para toda la población, aunque con ligeros matices. De una manera gráfica e intuitiva se ha representado en forma de pirámide, lo que supone una adaptación de la pirámide nutricional de la población general a las necesidades específicas que conlleva la práctica físico-deportiva (Figura 2). La mayor diferencia en relación con las personas sedentarias radica en las cantidades, ya que un mayor aporte calórico implica un mayor volumen de alimentos. Con frecuencia, el deportista encuentra dificultades en cubrir sus necesidades energéticas, por lo que se puede recurrir a preparados comerciales, especialmente diseñados para cubrir las necesidades de energía y nutrientes. Cuando se trata de ingestas energéticas inferiores a 1800 kcal se tienen que planificar dietas con elevada densidad de nutrientes. Aun así, suele ser difícil cubrir las necesidades de micronutrientes, por lo que en estos casos se recomienda un suplemento polivitamínico-mineral (2,15).

cereales/arroz/pasta. Cada ración corresponde a 50g/30g/60g / 80 g, en crudo, respectivamente. Con un aporte importante en carbohidratos pero también rico en vitaminas, minerales y agua, nos encontramos las frutas y las verduras y hortalizas. De las primeras se recomienda de 2 a 4 raciones al día, lo que equivale a una media de 250 g en crudo. De las segundas se recomienda la ingesta de 3 a 5 raciones al día, esto es, una pieza mediana de unos 150 g (o el equivalente en peso en caso de frutas en baya). Es preciso asegurar una adecuada ingesta proteica lo que se consigue con 2 a 3 a tres raciones del grupo de carnes/pescados/huevos, a lo que se suman 3 a 4 raciones de leche y productos lácteos (1,61). Cada ración del primer grupo corresponde a 100 g/ 150 g (limpio) / 2 piezas, respectivamente; cada ración del segundo grupo corresponde a 1 vaso de leche/ 2 yogures/ 50 – 250 g queso, en función de su materia grasa. Con estos grupos se aportan también vitaminas (A, E, B₁, B₂, B₁₂) y minerales (Ca, Fe, Zn) así como una cierta cantidad de grasa y ácidos grasos esenciales, particularmente y con el pescado del grupo omega-3. Para garantizar un adecuado aporte de grasa se recomienda recurrir al aceite de oliva, a incluir en la preparación de la comida y aderezo de ensaladas, en cantidad de 2-4 raciones al día, correspondiendo cada ración a 10 g. Son importantes también incluir con frecuencia o incluso a diario 1 ración (30 g) de frutos secos y leguminosas (50 - 60 g), y ello porque aportan ácidos grasos esenciales (omega-6), vitaminas (E, B₆, folato) y minerales (Mg, Zn, Ca). Los alimentos grasos deben estar restringidos tal y como se ha indicado anteriormente. En algunos casos puede ser recomendable la administración de suplementos minerales o vitamínicos, por lo que también es preciso tenerlo presente y así se señala en la pirámide.

FIGURA 2

Pirámide nutricional adaptada a las características de la población deportista



En la base de la pirámide se ha querido destacar el papel de una adecuada hidratación, a la que se debe estar especialmente atento el sujeto que realiza actividad física. A título meramente orientativo se sugiere una ingesta diaria mínima de 2 litros de agua y/o bebidas rehidratantes. Dado el importante papel de los carbohidratos como fuente energética, se proponen de 6 a 11 raciones del grupo de pan/

Esta pauta de alimentación estimamos que no sólo cumple los requerimientos nutricionales que se consideran saludables sino que también hace frente a las necesidades específicas y características de la alimentación del sujeto que realiza actividad físico-deportiva de manera intensa. En función de la naturaleza de la actividad y las características fisiológicas del sujeto mencionadas, las cantidades deberán ser adaptadas. Los días de entrenamiento no existe ninguna restricción alimentaria especial. Es conveniente adaptar el horario de las comidas a las sesiones de entrenamiento. Como pauta se puede decir que el desayuno debe aportar el 25% de la ración diaria, la comida el 35%, la merienda el 15% y la cena el 25% restante. Tan sólo mencionar la importancia de una buena hidratación. En los periodos de descanso es necesario reducir el aporte energético para evitar una acumulación no deseable en forma de grasa. En los periodos de recuperación tras sesiones intensivas de entrenamiento, una adecuada alimentación con suficiente aporte de proteínas, minerales y vitaminas es fundamental para garantizar una adecuada regeneración tisular.

Pautas dietéticas para la competición

Durante la fase de competición, el aspecto saludable de la dieta pasa a un segundo plano, y el objetivo se centra en conseguir el aporte de nutrientes necesario para un óptimo rendimiento, como se detalla a continuación. Una vez terminada la competición y realizada una adecuada dieta postcompetición, se debe volver cuanto antes a la dieta básica que nos garantiza un entrenamiento de calidad y una recuperación intersesión eficaz.

Dieta precompetición

Las cantidades relativas de carbohidratos ingeridas durante los días anteriores a la competición son determinantes de la cantidad de carbohidratos acumulados en el hígado y en el músculo como glucógeno (25). En consecuencia, si el glucógeno almacenado al comienzo del ejercicio es bajo, debido por ejemplo a una insuficiente ingesta de

carbohidratos, se limitará la cantidad de energía disponible para el trabajo muscular durante el ejercicio por lo que el rendimiento será menor. En este sentido es importante que la cena previa al día de la competición sea rica en carbohidratos. La comida previa a la competición tiene como objetivo principal conseguir un mantenimiento de los depósitos de glucógeno y un óptimo nivel de hidratación. Nunca se debe acudir a la competición en ayunas.

La comida previa al ejercicio debe realizarse entre las 3 y 6 horas que preceden al mismo. Se recomienda (Tabla 1) que esta comida incluya una ingesta de 200-350 g de carbohidratos (62, 63). Con ello se pretende optimizar los almacenes de glucógeno y aumentar el rendimiento. Se ha formulado que una comida alta en carbohidratos preejercicio *per se* disminuye la utilización del glucógeno muscular durante el subsiguiente ejercicio (24).

TABLA 1
Pautas dietéticas para deportistas antes de la competición

	Dieta precompetición		
	Cena	3-6 horas	60-30 min.
Ingesta CHO	250-350 g	200-350 g	35-50 g
Índice glucémico	Medio-alto	Medio-alto	Alto
Alimentos	Copos de avena Maíz, patatas asadas, pasta, arroz	Copos de avena maíz, patatas asadas, pasta, arroz	Glucosa, sacarosa polímeros de glucosa
Modo	Sólido	Sólido	Líquido 500-600 ml
Ingesta de grasa	No Recomendable/pobre	No Recomendable/pobre	No Recomendable
Ingesta de proteína	Pobre	No Recomendable/pobre	No Recomendable
Ingesta de fibra	No Recomendable/pobre	No Recomendable	No Recomendable
Ingesta de líquidos	1L agua	500 ml agua o zumo	***

Los alimentos consumidos deben ser pobres en grasa, en fibra, en proteína, bien tolerados y no muy voluminosos, con un índice glucémico alto o medio (14). Buenas fuentes son por ejemplo, zumo de frutas con copos de avena o maíz, arroz, patatas, pastas. Durante las dos horas que preceden al ejercicio, se aconseja la ingesta de 500-600 ml de líquido (2). Se propone una bebida equilibrada y agradable, con una temperatura entre 8-12°C, y que no retrase el vaciamiento

gástrico. La adición de 6-8% de carbohidratos (2,64) incluso hasta 10% (65), se ha demostrado que no provoca hiperinsulinemia ni produce debilidad muscular (14,66,67). Se han obtenido, incluso, aumentos en el rendimiento de corta duración cuando se administra una solución con una concentración de carbohidratos 8-10% (glucosa y fructosa) durante los 15-30 min previos a la competición (68,69). La adición de 10-20 mmol/l de Na⁺ y de 5-10 mmol/ de K⁺ (70)

tendrá como principal objetivo aumentar la palatabilidad de la bebida (65). En ningún caso se debe estar en ayunas (41,61,71).

Dieta percompetitiva

El aporte de carbohidratos justo al inicio, y a lo largo del ejercicio, puede contribuir a preservar el glucógeno muscular en esfuerzos prolongados, en esfuerzos interválicos y en esfuerzos de corta duración y elevada intensidad (80-95%) (4, 26). Si el ejercicio se desarrolla en menos de 60 minutos, no es necesario dar ningún aporte específico de carbohidratos. No obstante, la ingesta de 300-500 ml de bebida con una concentración de carbohidratos del 6-10%, cada 15 min y a una temperatura de 8-12°C puede ayudar a preservar el glucógeno muscular y equilibrar la pérdida de fluido corporal (65), máxime si el ejercicio se realiza a altas temperaturas (64) (Tabla 2). Para eventos de entre 1 y 3 h, se recomienda la ingesta de 800-1400 ml/h de fluido con una concentración de carbohidratos similar a la anterior (6-8%), y con 10-20 mmol/L de Na⁺. Cuando la duración del ejercicio se extiende

por encima de las 3 h, se reduce la cantidad de fluido a 1000 ml/h y se aumenta la cantidad de Na⁺ a 23-30 mmol/L (44, 72). La efectividad de las bebidas durante el ejercicio depende de la velocidad de vaciamiento gástrico y de la absorción intestinal (73). La presencia de Na⁺ y carbohidratos en la bebida mejora su absorción mutua debido al mecanismo de co-transporte por el que glucosa y sodio se absorben a nivel intestinal, lo que se potencia con la adición de cloruro (71). El Na⁺, además, mejora la palatabilidad de las soluciones aumentando su consumo "ad libitum" (65). Ya en 1967, Fordtran y Saltin (75) indicaban que las soluciones salinas isotónicas se absorbían antes que el agua. La velocidad de vaciado gástrico depende (76) de la osmolalidad de la disolución, pH, temperatura, volumen de la ingesta y aporte calórico, siendo éste último, un factor decisivo hasta el extremo que existe una relación lineal entre densidad calórica y velocidad de vaciamiento gástrico (77,78). La intensidad del ejercicio puede retrasar la velocidad de vaciado gástrico cuando se eleva por encima del 70% del VO₂ max o acelerarlo a intensidades menores (79).

TABLA 2
Pautas dietéticas para deportistas durante la competición

Duración del ejercicio	Volumen de fluido (ml/h)	Frecuencia de ingesta	Dieta percompetición			
			Vol (ml)	Temp °C	Composición del fluido	Dosis de CHO (g/h)
<1h	300-500	10-15 min	150-200	8-12	6-10% CHO	30-35
1-3h	800-1400	15-20 min	150-200	8-12	6-8% CHO + 3-4g/l Na ⁺ + 1-2g/l K ⁺	75-80
>3h	1000	20-30 min	150-200	8-12	6-8% CHO + 5-6g/l Na ⁺ + 1-2g/l K ⁺	60-65

CHO: carbohidratos

En el ejercicio intermitente de alta intensidad, la hidratación y la dieta percompetitiva son igual o más importantes que en el ejercicio físico continuo y prolongado, debido a la especial exigencia de fuerza, coordinación motora y gran capacidad de resistencia que se requiere, dado que estas actividades pueden tener una duración de 90 o más minutos (baloncesto, balonmano, voleibol, fútbol, etc.). En estas circunstancias, las mayores pérdidas de sudor y la depleción de glucógeno se potencian por la elevada intensidad y cantidad de los intervalos así como por la elevada temperatura ambiental, especialmente en los deportes practicados en interior. Esto hace que debamos prestar una mayor atención a las manipulaciones dietéticas para anular estos factores limitantes del rendimiento. En definitiva, se

debe ingerir una dosis de carbohidratos de alrededor de 60-70 g/h diluida en 800-1400 ml de fluido, con una adición de 3-4g/l de Na⁺ y de 1-2g/l de K⁺, a 8-12 °C de temperatura.

Dieta postcompetición

Tras realizar un esfuerzo físico de más de 1 hora de duración, las reservas de glucógeno muscular pueden quedar deplecionadas con una pérdida que puede estar en torno al 90% (2, 26). Como consecuencia, se precisa un aporte exógeno de sustratos para alcanzar los niveles de glucógeno previos al ejercicio. La recarga completa de las reservas de glucógeno muscular tras el ejercicio transcurre entre las 24 y 48 primeras horas (35), siendo el ritmo de resíntesis directamente proporcional a la cantidad de carbohidratos en

la dieta durante las primeras 24 horas (26). Dietas de 200 g/día de carbohidratos (cantidad necesaria para una actividad habitual) difícilmente podrán restablecer las reservas de glucógeno, por lo que se hace necesario doblar o incluso triplicar la ingesta en situaciones de duros entrenamientos o competiciones seriadas (vuelta ciclista) si se quiere provocar una alto grado de repleción (26). Para que la velocidad de resíntesis de glucógeno sea óptima se deben consumir carbohidratos de alto índice glucémico (patata asada, judías blancas, copos de maíz, copos de avena, pasta, etc) (65, 80).

Durante las primeras horas (Tabla 3), se deben ingerir comidas con un 70-80% de hidratos de carbono, para evitar ingerir muchas proteínas, fibras y grasas, que además de suprimir la sensación de hambre y limitar la ingesta de hidratos de carbono, pueden provocar problemas gastrointestinales (14), en cuyo caso son preferibles los preparados líquidos. Hay que tener presente que tras realizar un esfuerzo físico exhaustivo, es normal que el deportista no esté hambriento, prefiriendo ingerir líquidos antes que comidas sólidas.

TABLA 3
Pautas dietéticas para deportistas después de la competición

	Dieta postcompetición		Total 24 h
	0-90 min	120-240 min	
Ingesta de CHO	1.5-2 g/kg/h de la ingesta total	70-80% de la ingesta total 400-600g	70-80%
Índice glucémico	Alto	Alto	Medio / alto
Alimentos	Glucosa, sacarosa, polímeros de glucosa pasta, plátano	Patata asada, copos de maíz o avena, pasta, arroz	Patata asada, copos de maíz o avena,
Modo	Líquido (200 ml/15 min) <i>ad libitum</i>	Sólido	Líquido / sólido
Ingesta de líquidos	500 ml de peso perdidos por sudor	450 – 680 ml/ 450 g peso perdido por sudor	150% del total de
Ingesta de electrolitos 1-2 g/l K ⁺	12-24 g/l Na ⁺ 3 mmol/l K ⁺	20 mmol/L Na ⁺	6 g NaCl
Alimentos ricos en agua y bebidas	Bebidas carbohidratadas eletrolíticas	Sandía, pomelo, piña	Agua, zumos, caldos
Ingesta de proteínas	Prescindible	10-15%	1.2-2g/kg/día
Ingesta de grasas	No recomendable	10-15%	10-15%

Las bebidas deportivas, cuyo objetivo es provocar fundamentalmente un ambiente anabólico, deberán inducir un aumento de la glucemia y, en consecuencia de la insulina, potenciando así el efecto de las distintas hormonas anabólicas (insulina, testosterona, hormona del crecimiento) para estimular la síntesis de glucógeno hepático y muscular. Por este motivo, es cada vez más frecuente la adición de proteínas hidrolizadas y aminoácidos (glutamina, leucina, fenilalanina)

a las bebidas carbohidratadas, resultando en mayores índices de reinstauración de glucógeno hepático y muscular (6,81,82). Sin embargo, estudios recientes no muestran diferencias significativas en la síntesis de glucógeno hepático y muscular con la adición de proteínas o aminoácidos a la bebida carbohidratada (83,84).

En lo referente al Na⁺, debido a su implicación en el mecanismo de co-transporte (absorción) intestinal de la

molécula de glucosa y la palatabilidad que confiere, se hace imprescindible su presencia en las bebidas postejercicio, recomendándose la ingesta de 50-60 mmol/L, pudiéndose aumentar hasta 100 mmol/L (59, 65). Se han descrito pocos casos de hipokalemia inducida por el ejercicio (54); en consecuencia, la función de K⁺ presente en la bebidas de rehidratación es la de ayudar a retener una mayor cantidad de agua intracelular, recomendándose dosis de 10 mmol/L. Esto garantiza que, aunque la pérdida hídrica sea elevada, no se compense la hipovolemia con una deshidratación intracelular que puede dar lugar a importantes trastornos neurológicos.

Por lo tanto, se recomienda la ingesta de fluido *ad libitum* a razón de 1.5-2g/kg/h de carbohidratos (glucosa, sacarosa, polímeros de glucosa) al que se añadirán 50-60 mmol/L de Na⁺, o incluso 100 mmol/L (~24g/L) en situaciones de grandes pérdidas de fluido por sudor, y 1-2 g/L de K⁺. La adición de proteínas hidrolizadas o aminoácidos es prescindible.

En conclusión, tanto el deportista como el equipo técnico en el que se apoya deben ser conscientes de la importancia de una alimentación correcta sobre el rendimiento físico-deportivo y la salud del deportista. Adaptar la dieta a las fases de entrenamiento y competición, y buscar consejo profesional del nutricionista, médico o dietista, en especial en lo referente a una posible suplementación, pueden ser de capital importancia. Es preciso prestar particular atención al nivel de hidratación así como al suficiente aporte de carbohidratos antes, durante y después de la competición.

A los que luchan por conseguir un mundo más honesto, tolerante y solidario, apreciando en el deporte un buen camino para llegar a tal fin.

REFERENCIAS

- Clark N. Nancy Clarks Sport Nutrition Guidebook. Champaign: Human Kinetics Publishers, 1997.
- American College of Sports Medicine. Joint Position Statement: nutrition and athletic performance. American College of Sports Medicine, American Dietetic Association, and Dietitians of Canada. Med Sci Sports Exerc 2000;32(12):2130-2145.
- Paquot N. L'alimentation du sportif. Rev Med Liege 2001;56(4):200-3.
- Balsom PD, Wood K, Olsson P, Ekblom B. Carbohydrate intake and multiple sprint sports: With special reference to football (soccer). Int J Sports Med 1999; 20, pp. 48-52.
- Delgado M, Gutiérrez A, Castillo M. Entrenamiento físico-deportivo y alimentación. De la infancia a la edad adulta. 2ª ed. Barcelona: Paidotribo, 1999.
- van Loon LJ, Saris WH, Kruijshoop M, Wagenmakers AJ. Maximizing postexercise muscle glycogen synthesis: carbohydrate supplementation and the application of amino acid or protein hydrolysed mixtures. Am J Clin Nutr 2000; 72(1): 106-111.
- Wagner L. A recipe for nutrition and hydration. Provider 2001; 27(1), 20-28, 30-31.
- Barr SI. Effects of dehydration on exercise performance. Can J Appl Physiol 1999; 24(2): 164-172.
- Smith-Rockwell M, Nickols-Richardson SM, Thye FW. Nutrition knowledge, opinions, and practices of coaches and athletic trainers at a division I university. Int J Sport Nutr Exerc Metab 2001; 11(2): 174-185.
- Burke LM, Cox GR, Culmings NK, Desbrow B. Guidelines for daily carbohydrate intake: do athletes achieve them?. Sports Med 2001; 31(4): 267-299.
- Naghii MR. The significance of water in sport and weight control. Nutr Health 2000; 14(2): 127-132.
- Febbraio M. Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. Sport Med 2001; 31(1): 47-59.
- Economos DE, Bortz SS, Nelson ME. Nutritional practices of elite athletes. Practical Recommendations. Sports Med 1993; 16: 381-399.
- Coyle EF. Timing and method in increased carbohydrate intake to cope with heavy training competition and recovery. J Sports Sci 1991; 9: 29-52.
- Cupisti A, D'Alessandro C, Castrogiovanni S, Barale A, Morelli E. Nutrition survey in elite rhythmic gymnasts. J Sports Med Phys Fitness 2000; 40(4): 350-355.
- Ziegler P, Nelson JA, Barratt-Fornell A, Fiveash L, Drewnowski A. Energy and macronutrient intakes of elite figure skaters. J Am Diet Assoc 2001; 101(3):319-325.
- Jonnalagadda SS, Benardot D, Dill MN. Assessment of under-reporting of energy intake by elite female gymnast. Int J Sport Nutr Exerc Metab 2000; 10(3): 315-325.
- Sugiura K, Suzuki I, Kobayashi K. Nutritional intake of elite Japanese track-and-field athletes. Int J Sport Nutr 1999; 9(2): 202-212.
- Lopez-Varela S, Montero A, Chandra RK, Marcos A. Nutritional status of young female elite gymnasts. Int J Vitam Nutr Res 2000; 70(4): 185-190.
- Cavadini C, Decarli B, Grin J, Narring F, Michaud PA. Food habits and sport activity during adolescence: differences between athletic and non-athletic teenagers in Switzerland. Eur J Clin Nutr 2000; 54 Suppl 1: S16-20.
- Jequier E. Response to and range of acceptable fat intake in adults. Eur J Clin Nutr 1999; 53 Suppl 1: S84-93.
- Chevront SN. The zone diet and athletic performance. Sports Med 1999; 27(4), 213-228.
- Sears B. The Zone Diet and athletic performance. Sports Med 2000; 29(4): 289-294.
- Tsintzas K, Williams C. Human muscle glycogen metabolism during exercise. Effect of carbohydrate supplementation. Sports Med 1998; 25(1): 7-23.
- Jeukendrup AE, Jentjens R. Oxidation of carbohydrate feedings during prolonged exercise. Current thoughts guidelines and directions for future research. Sports Med. 2000; 29(6): 407-424.
- Villa Vicente JG, González Gallego J. Papel de la suplementación energética en el rendimiento deportivo. En: Culebras J, García de Lorenzo A. y González Gallego J.

- Nutrición por vía enteral. Madrid: Aula Médica, 1994.
27. Williams MH. Ayudas ergogénicas nutricionales. Actas del Simposium sobre Metabolismo y Nutrición en el Deporte. Barcelona, 1992
 28. Ivy JL. Role of carbohydrate in physical activity. *Clin Sports Med* 1999; 18(3): 469-484.
 29. DACH. Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE). Frankfurt am Main: Umschau/Braus, 2000.
 30. Sidossis LS, Gastaldelli A, Klein S, Wolfe RR. Regulation of plasma fatty acid oxidation during low- and high-intensity exercise. *Am J Physiol* 1997; 272(6 Pt 1): E1065-1070.
 31. Dean D, Daugaard JR, Young ME, Saha A, Vavvas D, Asp S et al. Exercise diminishes the activity of acetyl-CoA carboxylase in human muscle. *Diabetes* 2000; 49(8): 1295-1300.
 32. Weltan SM, Bosch AN, Dennis SC, Noakes TD. Influence of muscle glycogen content on metabolic regulation. *Am J Physiol* 1998; 274(1 Pt 1), E72-82.
 33. Coggan AR, Raguso CA, Gastaldelli A, Sidossis LS, Yeckel CW. Fat metabolism during high-intensity exercise in endurance-trained and untrained men. *Metabolism* 2000; 49(1): 122-128.
 34. Schrauwen P, Wagenmakers AJ, van Marken-Lichtenbelt WD, Saris WH, Westerterp KR. Increase in fat oxidation on a high-fat diet is accompanied by an increase in triglyceride derived fatty acid oxidation. *Diabetes* 2000; 49(4): 640-646.
 35. Coyle EF, Jeukendrup AE, Wagenmakers AJ, Saris WH. Fatty acid oxidation is directly regulated by carbohydrate metabolism during exercise. *Am J Physiol* 1997; 273: 238-275.
 36. Sidossis LS, Wolfe RR, Coggan AR. Regulation of fatty acid oxidation in untrained vs. trained men during exercise. *Am J Physiol* 1998; 274(3 Pt 1): E510-515.
 37. Lemon PW. Beyond the zone: protein needs of active individuals. *J Am Coll Nutr* 2000; 19(5 Suppl): S13S-S21S
 38. Kreider RB. Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise. *Sports Med* 1999; 27(2), 97-110.
 39. Lemon PWR. Effect of exercise on protein requirements. *J Sports Sci* 1991; 9: 53-70.
 40. Dolny DG, Lemon PWR. Effect of ambient temperature on protein breakdown during prolonged exercise. *J Appl Physiol* 1988; 64: 550-555.
 41. González-Ruano E. Alimentación del deportista. Madrid: Marban, 1986.
 42. Takanami Y, Iwane H, Kawai Y, Shimomitsu T. Vitamin E supplementation and endurance exercise. Are there benefits?. *Sports Med* 2000; 29: 73-83.
 43. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222(3). 283-292.
 44. Maughan RJ. Role of micronutrients in sport and physical activity. *Br Med Bull* 1999; 55(3): 683-690.
 45. Kaikkonen J, Kosonen L, Nyssonen K, Porkkala-Sarataho E, Salonen R, Korpela H, Salonen JT. Effect of combined coenzyme Q10 and d-alpha-tocopheryl acetate supplementation on exercise-induced lipid peroxidation and muscular damage: a placebo-controlled double-blind study in marathon runners. *Free Radic Res* 1998; 29(1): 85-92.
 46. Clarkson PM. Minerals: exercise performance and supplementation in athletes. *J Sports Sci* 1991; 9: 91-116.
 47. Williford HN, Scharff M, Keith R et al. Iron status in women aerobic dance instructors. *Int J Sports Nutrition* 1993; 3: 387-397.
 48. Chatard JC, Mujika I, Guy C, Lacour JR. Anaemia and iron deficiency in athletes. Practical recommendations for treatment. *Sports Med* 1999; 27(4): 229-240.
 49. Constantini NW, Eliakim A, Zigel L, Yaaron M, Falk B. Iron status of highly active adolescents: evidence of depleted iron stores in gymnasts. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2000; 10(1): 62-70.
 50. O'Toole ML, Douglas W, Hiller B, Roalstad MS, Douglas PS. Hemolysis during triathlon races: Its relation to race distance. *Med Sci Sports Exerc* 1988; 20: 272-275.
 51. Gastmann U, Dimeo F, Huonker M, Bocker J, Steinacker JM, Petersen KG, Wieland H, Keul J, Lehmann M. Ultra-triathlon-related blood-chemical and endocrinological responses in nine athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 1998; 38(1): 18-23.
 52. Schwellnus MP, Penfold GK, Cilliers JF, Kuyf JF, van den Heever DP. Intravascular hemolysis in aerobic dancing: The role of the floor surface and type of routine. *Phys Sportsmed* 1989; 17(8): 55-67.
 53. Hinton PS, Giordano C, Brownlie T, Haas JD. Iron supplementation improves endurance after training in iron-depleted, nonanemic women. *J Appl Physiol* 2000; 88(3), 1103-1111.
 54. Marins JC, Dantas EH, Navarro SZ. Variaciones del sodio y potasio plasmáticos durante el ejercicio físico: Factores asociados. *Apunts, Educación Física y Deportes* 2001; 62: 48-55.
 55. Micheletti A, Rossi R, Rufini S. Zinc status in athletes: relation to diet and exercise. *Sports Med* 2001; 31(8): 577-582.
 56. González Alonso J, Calbet JAL, Nielsen B. Muscle blood flow is reduced with dehydration during prolonged exercise in humans. *J Physiol* 1998; 513, 895-905.
 57. González Alonso J, Calbet JAL, Nielsen B. Metabolic and thermodynamic responses to dehydration-induced reductions in muscle blood flow in exercising humans. *J Physiol* 1999; 520, 577-589.
 58. Kovacs EM, Senden JM, Brouns F. Urine colour, osmolality and specific electrical conductance are not accurate measures of hydration status during postexercise rehydration. *J Sports Med Phys Fitness* 1999; 39(1): 47-53.
 59. Armstrong LE, Epstein Y. Fluid-Electrolyte Balance During Labor and Exercise: Concepts and Misconceptions. *Int J Sport Nutr* 1999; 9(1): 1-12.
 60. Downey D, Seagrave RC. Mathematical modelling of the human body during water replacement and dehydration: body water changes. *Ann Biomed Eng* 2000; 28(3): 278-290.
 61. Institute of European Food Studies (IEFS). Food-based dietary guidelines. A staged approach. *Brit J Nutr* 1999; 81 (suppl 2): S29-S153.
 62. Coggan AR, Swanson SC. Nutritional Manipulation Before and During Endurance Exercise. Effects on Performance. *Med Sci Sports/Exerc* 1992; 24:9(Suppl): S331-S335.
 63. Maffucci DM, McMurray RG. Towards optimizing the timing of the pre-exercise meal. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*

- 2000; 10(2): 103-13.
64. Sawka MN, Montain SJ. Fluid and Electrolyte Supplementation for Exercise Heat Stress. *Am J Clin Nutr* 2000; 72 Part 2(2): 564S-572S.
 65. Ruiz JR, Mesa JLM, Mula FJ, Castillo MJ, Gutiérrez A. Hidratación y rendimiento: pautas para una elusión efectiva de la deshidratación por ejercicio. *Apunts: Educación Física y deportes* (submitted 2001).
 66. Tarnopolsky MA, Dyson K, Atkinson SA. Mixed carbohydrate supplementation increases carbohydrate oxidation and endurance exercise performance and attenuates potassium accumulation. *Int J Sports Nutr* 1996; 4: 323-336.
 67. Gutiérrez A, Mesa JLM, Ruiz JR, Chiroso JL, Castillo MJ. Use of sauna to induce a rapid weight loss in young healthy athletes competing in weight class events. *Int J Sport Nutr & Exerc Metab* (submitted 2001).
 68. Ventura JL, Estruch A, Rodas G. Effect of prior ingestion of glucose or fructose on the performance of exercise of intermediate duration. *Eur J Appl Physiol* 1994; 68: 345-349.
 69. El-Sayed MS, Balmer J, Rattu AJ. Carbohydrate ingestion improves endurance performance during 1 hour simulated cycling time trial. *J Sports Sci* 1997; 15(2): 223-230.
 70. Coombes JS, Hamilton KL. The Effectiveness of Commercially Available Sports Drinks. *Sports Med* 2000; 29(3): 181-209.
 71. Gutiérrez A, González-Gross M, Delgado M, Castillo MJ. Three days fast in sportsmen decrease physical work capacity but not strength or perception-reaction time. *Int J Sport Nutr & Exerc Metab* 2001; 11: 415-424.
 72. Latzka WA, Montain SJ. Water and electrolyte requirements for exercise. *Clin Sports Med* 1999; 18(3): 513-524.
 73. Gisolfi CV, Summers RW, Scheld HP. Intestinal water absorption from select carbohydrate solutions in humans. *J Appl Physiol* 1992; 73(5): 2142-2150.
 74. Reuss L. One-hundred years of inquiry: The mechanism of glucose absorption in the intestine. *Annu Rev Physiol* 2000; 62: 939-946.
 75. Fordtran JS, Saltin B. Gastric emptying and intestinal absorption during prolonged severe exercise. *J Appl Physiol* 1967; 23:331-35.
 76. Maughan RJ, Leiper JB. Limitations to fluid replacement during exercise. *Can J Appl Physiol* 1999; 24(2), 173-187.
 77. Murray R, Bartoli W, Stofan J, Horn M, Eddy D. A comparison of the gastric emptying characteristics of selected sports drinks. *Int J Sport Nutr* 1999; 9(3), 263-274.
 78. Shi X, Bartoli W, Horn M, Murra YR. Gastric emptying of cold beverages in humans: effect of transportable carbohydrates. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2000; 10(4): 394-403.
 79. Cheung SS, Mclellan TM, Tenaglia S. The thermophysiology of uncompensable heat stress. Physiological manipulations and individual characteristics. *Sports Med* 2000; 29(5): 329-359.
 80. Walton P, Rhodes EC. Glycaemic index and optimal performance. *Sports Med* 1997; 23(3), 164-172.
 81. Calbet JA. Papel de la alimentación como alternativa al dopaje. Conferencia nacional sobre el dopaje, Pamplona 21-22 de Enero, 1999: 58-63.
 82. Bowtell JL, Gelly K, Jackman ML, Patel A, Simeoni M, Rennie MJ. Effect of oral glutamine on whole body carbohydrate storage during recovery from exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 1999; 86(6): 1770-1777.
 83. van Hall G, Shirreffs SM, Calbet JA. Muscle glycogen resynthesis during recovery from cycle exercise: no effect of additional protein ingestion. *J Appl Physiol* 2000; 88(5): 1631-1636.
 84. Carrithers JA, Williamson DL, Gallagher PM, Godard MP, Schulze KE, Trappe SW. Effects of postexercise carbohydrate-protein feedings on muscle glycogen restoration. *J Appl Physiol* 2000; 88(6): 1976-82.

Recibido: 15-02-2001

Aceptado: 07-09-2001

Oligosacáridos de la leche humana. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante

Montserrat Gudiel-Urbano e Isabel Goñi

Universidad Complutense de Madrid. España

RESUMEN. La leche materna es el modelo de alimentación del lactante, utilizado como referencia durante el período de lactancia. El conocimiento de su composición ha permitido fijar las recomendaciones dietéticas para los lactantes. La fracción de hidratos de carbono de la leche materna aporta entre el 40% y el 50% de los requerimientos energéticos del lactante. A pesar de esta importancia cuantitativa, generalmente se ha prestado poco interés a su estudio.

La leche materna contiene mono, di y oligosacáridos. Los oligosacáridos suponen el tercer componente mayoritario de la leche tras la lactosa y la grasa. Están formados por una combinación variable de D-glucosa, D-galactosa, ácido siálico, L-fucosa y N-acetilglucosamina. Su composición cuantitativa y cualitativa presenta gran variabilidad *inter e intraindividual* en función del período de lactancia, momento del día y herencia genética. En la actualidad está surgiendo gran interés por el papel que ejercen estos compuestos en la salud, ya que realizan un papel fisiológico en el organismo, similar a la fracción fibra soluble de la dieta. Su estructura es susceptible de actuar como ligando competitivo protegiendo al lactante frente a patógenos externos. Ejercen un efecto prebiótico y son una fuente de ácido siálico y galactosa esenciales para el desarrollo cerebral.

Por todo ello, hoy en día hay un interés creciente de profesionales de la salud e industrias en el estudio de los oligosacáridos contenidos en la leche de mujer con el objetivo principal de incorporarlos como nuevos ingredientes funcionales a los alimentos para lactantes.

Palabras clave: Alimentación infantil, lactancia, hidratos de carbono, oligosacáridos.

SUMMARY. Human milk oligosaccharides. Their role in breast-fed infants health and development. Breast-feeding is the optimal mode of feeding for the normal full-term infant. Human milk composition knowledge has been basis for recommended dietary allowances for infants. Few studies about human milk carbohydrates have been done until the last decade. However, carbohydrates provide approximately 40-50% of the total energy content of breast milk. Quantitatively oligosaccharides are the third largest solute in human milk after lactose and fat. Each individual oligosaccharide is based on a variable combination of glucose, galactose, sialic acid, fucose and N-acetylglucosamine with many and varied linkages between them, thus accounting for the enormous number of different oligosaccharides in human milk. The oligosaccharides content in human milk varies with the duration of lactation, diurnally and with the genetic makeup of the mother. At present, a great interest in the roles of human milk oligosaccharides is raising. They act as a the soluble fibre in breast milk and their structure is available to act as competitive ligands protecting the breast-fed infant from pathogens and act as well as prebiotic. They may also act as source of sialic acid and galactose, essential for brain development. This is why today there is an increasing health and industrial interest in human milk oligosaccharides content, with the main purpose of incorporating them as new ingredients in infant nutrition.

Key words: Infant nutrition, lactation, carbohydrates, oligosaccharides.

INTRODUCCION

Durante el primer año de vida la alimentación evoluciona en función de las capacidades funcionales, desarrollo psicomotor y necesidades nutricionales del individuo (1). Es por ello que el primer año de vida se divide desde el punto de vista de la nutrición en dos períodos: lácteo y de diversificación o complementario (2). La leche materna es el alimento de elección durante el periodo lácteo ya que el amamantamiento crea lazos afectivos entre madre e hijo, además de aportar la combinación de nutrientes y energía más equilibrada para el crecimiento y desarrollo del lactante.

Los esfuerzos encaminados a racionalizar la alimentación del lactante durante los primeros 4-6 meses de vida, se han dirigidos a conocer más a fondo la composición de la secreción láctea.

La leche materna es una secreción evolutiva en su composición. Varía intra e interindividualmente en función de la duración de la lactancia, la hora del día o si se trata del periodo inicial o final de la toma. Aunque el régimen alimenticio y otros factores maternos influyen en la composición de la leche, parece que los cambios de la misma se adaptan a las necesidades nutricionales del lactante (3).

Los carbohidratos representan el 40-50% del contenido calórico de la leche (4). A pesar de ello, el interés por conocer la composición de la leche materna y poder crear fórmulas artificiales semejantes a la misma, se ha centrado en el conocimiento de otros componentes tales como proteínas o grasas, quedando relegados los hidratos de carbono a un nivel secundario. Sin embargo, hoy en día se considera que algunos componentes de esta fracción son agentes saludables para el bienestar del bebe.

El carbohidrato predominante en la leche es la lactosa cuya concentración es de 6-7 g/100 ml (5). La concentración de lactosa aumenta significativamente hasta el 2^o-3^{er} mes, mientras que el contenido de los otros componentes hidratos de carbono (mono, di y oligosacáridos), es máximo en las primeras semanas de vida y desciende significativamente después (5).

La presencia de hidratos de carbono diferentes a la lactosa fue descrita por primera vez a principios de siglo, aunque hasta la década de los 60 no se aislaron oligosacáridos en la leche humana (OLH) (5).

A pesar de que actualmente se reconoce la importancia biológica de los oligosacáridos presentes en la leche humana para la salud del lactante, se desconocen muchos aspectos estructurales y comportamiento metabólico de estos compuestos.

Estructura

Los OLH están compuestos por una combinación variable de D-glucosa, D-galactosa, ácido siálico (N-acetilneuroamínico), L-fucosa y N-acetilglucosamina con una gran variedad de uniones entre ellos, lo que explica su alta diversidad. Hasta el momento se han aislado y caracterizado 130 OLH diferentes (6). La mayoría de ellos tienen una unidad de lactosa en el extremo reductor, mientras que la fucosa y el ácido siálico son los restos más frecuentes situados en el extremo no reductor (7). Las cadenas de oligosacáridos tienen una longitud de 3-11 residuos de monosacáridos (5,6).

En la clasificación más sencilla, se considera que existen 3 principales categorías: oligosacáridos neutros, que incluye a los oligosacáridos fucosilados; oligosacáridos ácidos, con predominio en el contenido de ácido siálico y que a pH neutro se presentan en forma aniónica y sialil fucosil-oligosacáridos, que contienen fucosa y ácido siálico (8).

Síntesis

Los oligosacáridos se sintetizan en el aparato de Golgi de las células secretoras de los alvéolos de la glándula mamaria. La α -lactoalbúmina regula la enzima galactosiltransferasa, que cataliza la reacción entre uridin-5'-difosfato-galactosa y glucosa para producir lactosa. Posteriormente, otra transferasa (galactosil, N-acetilglucosaminil, fucosil o sialiltransferasa)

adiciona monosacáridos sobre la lactosa para formar los oligosacáridos (9), lo cual origina un elevado número de estructuras primaria (*core oligosaccharides*), que se muestran en la Tabla 1. Sobre estas estructuras tiene lugar la elongación debida a la acción de fucosiltransferasas y sialiltransferasas que dan lugar a los más de 130 oligosacáridos caracterizados (10) (Tabla 2).

El desarrollo de técnicas de caracterización bioquímica y elucidación estructural ha permitido obtener una cuantificación precisa de muchos de los OLH. Estas técnicas combinan la cromatografía en capa fina, la cromatografía de intercambio iónico y la espectrometría de masas (5,8,10-12).

Los oligosacáridos: un componente variable de la leche materna

Los oligosacáridos son el componente más variable de la leche humana. Su síntesis depende de la herencia genética de la madre (13), del período de lactancia (14) y del momento del día (15), pero no se afecta por la dieta materna (9).

Los niveles de OLH son más elevados en el calostro que en la leche madura. Aumentan los 5 primeros días para descender a lo largo de los tres meses siguientes. También se han observado variaciones en su composición cualitativa. Durante las primeras 13 semanas de lactancia, el ácido siálico disminuye en un 71%, la N-acetilglucosamina en un 56 % y la fucosa en un 35%. Como consecuencia de los cambios, el resto de N-acetilglucosamina pasa a ser el componente mayoritario, seguido de fucosa y ácido siálico. La importancia biológica de esta variación en el perfil de oligosacáridos es aún desconocida, pero parece lógico pensar que los oligosacáridos formados a partir de dichos restos de monómeros serán diferentes a los del inicio de la lactancia, ya que la composición de la leche se adapta a las necesidades del niño (14).

La concentración de OLH no varía durante la toma, pero sí se observan variaciones a lo largo del día. La síntesis de oligosacáridos requiere la presencia de lactosa. Esto explica la existencia de una relación inversamente proporcional entre las concentraciones de oligosacáridos y lactosa en la leche humana (9).

Concentración cuali-cuantitativa de los oligosacáridos en leche materna

La bibliografía es coincidente sobre el contenido total en OLH. La leche madura contiene 12-14g/l, mientras que en el calostro se encuentran valores de 20-22 g/l (16).

Los estudios realizados sobre la composición cualitativa de los OLH son escasos e incompletos ya que en la metodología no se indica el período de lactancia (17), el número de muestra analizadas (6) o las características genéticas de la madre (6).

TABLA 1
Estructura primaria de los oligosacáridos de la leche materna. Adaptado de Kunz y Rudloff (6)

Nombre	Estructura
Lactosa	Gal β 1-4Glu
Lacto-N-tetrosa	Gal β 1-3N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
Lacto-N-neo-tetrosa	Gal β 1-4N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
Lacto-N-hexosa	Gal β 1-4N-AcGlu β 1-6Gal β 3-1N-AcGlu β 3-1Gal
	 β 1-4Glu
para-Lacto-N-hexosa	Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 Glu
para-Lacto-N-neo-hexosa	Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 Glu
Lacto-N-octosa	Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3
	 β 1-4Glu
Lacto-N-neo-octosa	Gal Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-6 Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3
	 β 1-4Glu

D-glucosa (Glu), D-galactosa (Gal) y N-acetilglucosamina (N-AcGlu).

TABLA 2
Oligosacáridos complejos en leche pretérmino. Adaptado de Kunz y Rudloff (6)

Nombre	Estructura
Lactosa	Gal β 1-4Glu
2'-Fucosil-lactosa	Fuc β 1-2 Gal β 1-4Glu
3'-Fucosil-lactosa	Gal β 1-4Glu α 1-3 Fuc
3'-sialil-3-fucosil-lactosa	AcNeu α 2-3 Gal β 1-4 Glu α 3-1 Fuc
Difucosil-lactosa	Fuc α 1-2 Gal β 1-4 Glu α 3-1 Fuc
Lacto-N-tetrosa	Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
Lacto-N-neo-tetrosa	Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
Lacto-N-fucopentosa I	Fuc α 1-2 Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
Lacto-N-fucopentosa II	Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 Glu
	 α 4-1Fuc
Lacto-N-fucopentosa III	Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
	 α 4-1Fuc
Lacto-N-fucopentosa V	Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 Glu α 3-1 Fuc
Lacto-N-difucohexosa I	Fuc α 1-2 Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
	 α 4-1Fuc
Lacto-N-difucohexosa II	Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 Glu
	 α 4-1Fuc α 3-1Fuc
Trifucosillacto-N-hexosa ^a	
3'Sialil-lactosa	AcNeu α 2-3 Gal β 1-4 Glu
6'Sialil-lactosa	AcNeu α 2-6 Gal β 1-4 Glu
Sialil-lacto-N-tetrosa a	AcNeu α 2-3 Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
Sialil-lacto-N-tetrosa b	Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3Gal β 1-4Glu
	 α 6-2AcNeu
Sialil-lacto-N-tetrosa c	AcNeu α 2-6 Gal β 1-4 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4Glu
Sialil-fucosil-lacto-N-tetrosa I ^a	
Sialil-fucosil-lacto-N-tetrosa II	
Disialil-lacto-N-tetrosa	AcNeu α 2-3 Gal β 1-3 N-AcGlu β 1-3 Gal β 1-4 Glu
	 α 6-2AcNeu

^aEstructura sin determinar.

D-glucosa (Glu), D-galactosa (Gal) y N-acetilglucosamina (N-AcGlu), ácido siálico (AcNeu), L-fucosa (Fuc).

Coppa y col. (8) analizaron muestras de leche de 18 madres hasta el tercer mes de lactancia (Tabla 3). En el grupo de los oligosacáridos fucosilados, 2'-fucosil-lactosa, difucosil-lacto-N-hexaosa y trifucosil-lacto-N-hexaosa, representan entre el 60-70%. Entre los oligosacáridos primarios, el 90% lo componen lacto-N-treosa y lacto-N-neotreosa. En el grupo de los oligosacáridos ácidos los más representativos son sialil-lacto-N-tetrosa c, disialil-lacto-N-tetrosa y 6'-sialil-lactosa (8).

TABLA 3
Evolución del contenido en oligosacáridos primarios (g/l) en la leche materna (8) (N = 18)

	4 días	10 días	30 días	60 días	90 días
Oligosacáridos primarios					
Lacto-N-tetrosa	0.84 ± 0.23	0.73 ± 0.17	0.71 ± 0.21	1.56 ± 0.57	1.28 ± 0.54
Lacto- neo-tetrosa	2.04 ± 0.55	1.83 ± 0.75	1.40 ± 0.55	0.95 ± 0.83	1.37 ± 0.92
Lacto-N-hexosa	0.07 ± 0.07	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.05	0.09 ± 0.02	0.17 ± 0.01
Lacto-N-neohexosa	0.18 ± 0.11	0.1 ± 0.06	0.09 ± 0.04	0.13 ± 0.08	0.28 ± 0.03
Total	3.13	2.71	2.26	2.73	3.10
Fucosil-oligosacáridos					
Lacto-N-difucohexosa II	0.19 ± 0.08	0.22 ± 0.09	0.20 ± 0.08	0.19 ± 0.07	0.19 ± 0.14
Trifucosillacto-N-hexosa	2.73 ± 0.22	3.05 ± 1.37	3.10 ± 1.40	2.60 ± 0.70	2.60 ± 0.60
Difucosillacto-N-hexosa	2.45 ± 0.72	2.40 ± 0.88	2.62 ± 0.82	2.61 ± 0.84	1.74 ± 0.90
Difucosillacto-N-hexosa b	0.51 ± 0.25	0.32 ± 0.20	0.12 ± 0.08	1.02 ± 0.19	0.74 ± 0.10
Difucosillacto-N-hexosa I	0.79 ± 0.25	0.79 ± 0.35	0.43 ± 0.25	1.18 ± 0.22	0.92 ± 0.10
3'-Fucosil-lactosa	0.34 ± 0.06	0.22 ± 0.06	0.28 ± 0.12	0.71 ± 0.07	0.53 ± 0.29
Lacto-N-fucopentosa II	0.29 ± 0.22	0.48 ± 0.46	0.43 ± 0.15	0.29 ± 0.16	0.33 ± 0.12
2'-Fucosil-lactosa	3.93 ± 1.11	3.02 ± 0.88	2.78 ± 0.94	1.84 ± 0.39	2.46 ± 0.44
Lacto-N-fucopentosa I	1.36 ± 0.18	1.36 ± 0.22	0.99 ± 0.25	0.97 ± 0.61	1.35 ± 0.69
Monofucosil-lacto-N-hexosa II	1.06 ± 0.77	0.58 ± 0.54	0.48 ± 0.19	0.33 ± 0.18	0.18 ± 0.02
Total	13.88	12.60	11.59	12.13	11.45
Sialil-oligosacáridos					
Monofucosilmonosialil-lacto-N-hexosa	0.42 ± 0.34	0.55 ± 0.34	0.29 ± 0.15	0.26 ± 0.10	0.28 ± 0.07
Sialil-lacto-N-tetrosa c	1.05 ± 0.30	0.47 ± 0.27	0.21 ± 0.08	0.21 ± 0.09	0.12 ± 0.06
6'-sialil-lactosa	0.59 ± 0.15	0.55 ± 0.18	0.44 ± 0.14	0.30 ± 0.11	0.24 ± 0.10
Sialil-lacto-N-tetrosa a	0.18 ± 0.06	0.12 ± 0.06	0.11 ± 0.03	Nd	Nd
3'-sialil-lactosa	0.09 ± 0.06	0.11 ± 0.07	0.09 ± 0.04	0.13 ± 0.12	0.09 ± 0.05
Sialil-lacto-N-tetrosa b	0.17 ± 0.09	0.18 ± 0.09	0.23 ± 0.21	0.25 ± 0.13	0.20 ± 0.12
Disialil-lacto-N-tetrosa	0.80 ± 0.24	0.74 ± 0.40	0.67 ± 0.57	0.64 ± 0.16	0.63 ± 0.24
Total	3.30	2.70	2.14	1.79	1.58

Oligosacáridos en la leche de otros mamíferos

La leche de los mamíferos contiene como carbohidrato mayoritario lactosa, a excepción de la leche de Monotremas (echidna, platypus (*Ornithorhynchus anatinus*), marsupiales como el canguro (*Macropus eugenii*), los osos y los pinnípedos (16,18,19).

Comparando la leche materna con la de otras especies, tales como vaca, cerdo, caballo y mono rhesus (20,21), éstas presentan en general los perfiles de oligosacáridos más simples, con baja cantidad de oligosacáridos ácidos. La leche de mono es la excepción, ya que contiene diversos oligosacáridos fucosilados (0,5-1 g/l), pero en menor concentración que en la leche humana (5-8 g/l) (20).

La leche humana y la de elefante son las más parecidas entre sí, con respecto a la variedad de oligosacáridos neutros y ácidos que presentan (12).

Sin tener en cuenta la lactosa, la leche de vaca contiene baja cantidad de disacáridos libres y la sialil-lactosa (0.2-0.6 g/100 ml) es el único hidrato de carbono complejo, que se

encuentra también en la leche humana (11). Sin embargo, contiene numerosos carbohidratos complejos formando glucoconjugados con proteínas y lípidos.

Efectos de los oligosacáridos en la salud del lactante

La mayor parte de los efectos fisiológicos de los oligosacáridos están relacionados con su capacidad para ser digeridos en el intestino delgado. Aquellos que no son degradados por los enzimas digestivos son considerados como la fibra dietética de la leche materna, ya que ejercen un efecto fisiológico similar a la fracción soluble de dicha fibra (8,22).

Los oligosacáridos encontrados en orina y heces de lactantes alimentados con leche materna son similares a los presentes en la propia leche (23). Se estima que un 40% de los oligosacáridos ingeridos se excretan en heces, mientras que 1% es absorbido y excretado en la orina. Esto indica que aproximadamente el 60% de los oligosacáridos ingeridos son utilizados parcial o totalmente por la microbiota colónica (9).

La leche humana presenta enzimas (fucosidasas y N-

acetilglucosaminidasas) capaces de degradar los OLH, pero en cantidades no significativas (9). Los estudios sobre la presencia de sialasas en la saliva y el intestino del lactante son contradictorios. Sin embargo, los hallazgos de oligosacáridos en la orina de lactantes justifican la absorción intestinal de pequeños oligosacáridos como fucosil-lactosa y difucosil-lactosa. Aunque los mecanismos de absorción que utilizan los OLH no se conocen con exactitud se ha demostrado que estos hidratos de carbono no son digeridos en el intestino delgado. Por otro lado, la absorción de OLH intactos solamente parece posible durante las primeras semanas de vida, debido a la alta permeabilidad del tracto intestinal y la elevada concentración de OLH durante esta etapa (22).

La presencia de un gran número de enzimas bacterianas entre las que se encuentran las fucosilasa y las sialasas de las bacterias colónicas (24,25), hace pensar que son los responsables de la hidrólisis de los OLH y que éstos son substratos de la fermentación colónica. Los estudios de Brand Miller y col. (26) a través de pruebas de producción de metano demostraron que los OLH fermentan y que esta fermentación es similar a la de la lactulosa, compuesto totalmente fermentable por las bacterias intestinales humanas.

Efecto antiinfeccioso

Durante el primer año de vida los lactantes necesitan una protección adicional frente a patógenos, debido a que presentan un mayor pH gástrico y a la inmadurez de su sistema inmune.

Varios estudios han demostrado que existe una mayor resistencia a las infecciones gastrointestinales, respiratorias y urinarias en los niños alimentados con lactancia natural frente a los que consumen fórmulas infantiles (27,28). Esto es debido a la presencia en la leche materna de: inmunoglobulinas, sustancia P, citoquinas, prolactina, leucocitos, lactoferrina y lisozimas (2).

Los oligosacáridos ejercen un efecto antiinfeccioso a través de 2 mecanismos: inhibiendo la colonización y el crecimiento de patógenos, ya que actúan como análogos de los receptores celulares y ejerciendo un efecto prebiótico, es decir favoreciendo el desarrollo de algunas bacterias beneficiosas para el individuo.

Los OLH inhiben la colonización y el crecimiento de patógenos

Los OLH presentan estructuras análogas a la de los receptores de las células epiteliales dado que en la síntesis de los OLH intervienen enzimas semejantes a las que catalizan la síntesis de las glucoproteína y glucolípidos que forman los receptores de la superficie celular (7). Es por ello, que los OLH actúan como ligandos competitivos para bacterias, virus, hongos y protozoos, inhibiendo así el primer paso de la

colonización y la infección (29).

Hay más de 20 oligosacáridos en la leche materna capaces de unirse competitivamente a patógenos del tracto intestinal, respiratorio y urinario. Estos microorganismos se encuentran menos frecuentemente en las deposiciones de los niños alimentados con leche materna (6).

Lacto-N-treosa y lacto-N-neotetraosa inhiben la adhesión de *Streptococcus pneumoniae* a su célula diana in vitro (30-32), y algunos oligosacáridos fucosilados son capaces de inhibir la adhesión de *E. coli* enteropatógeno y de géneros invasivos de *Campylobacter jejuni* a las células epiteliales (33). Otros oligosacáridos ácidos inhiben la unión de *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma pneumoniae* y de los virus influenza A, B y C (6,32) a su célula hospedadora (Tabla 4).

La cantidad y tipo de oligosacáridos presentes en la leche materna son característicos de cada especie. Por ello, cuando el lactante se alimenta con leche de fórmula, ésta no suele aportar oligosacáridos cualitativa y funcionalmente comparables a los presentes en la leche humana, por lo que no pueden ejercer las mismas acciones sobre los receptores celulares.

Efecto prebiótico

La colonización bacteriana del tracto gastrointestinal del recién nacido se inicia en el momento del parto, cuando entra en contacto con la flora bacteriana de la madre. En un primer momento, el recién nacido presenta una flora semejante a la presente en la vagina y el área perianal de la madre, caracterizada por el predominio de bacterias aerobias o de anaerobios facultativos, tales como *E. coli* y otras enterobacteriáceas, enterococos y estafilococos (34). A medida que estos organismos consumen el oxígeno, el entorno se vuelve más adecuado para las bacterias anaerobias (*Bifidobacterium* sp., *Lactobacillus* sp. y *Bacteroides* sp.). Con una alimentación exclusiva de leche materna entre el primer y tercer mes de vida se incrementa el número de bifidobacterias (aproximadamente hasta 10^{10}) haciéndose predominante, en el conjunto de la microbiota bacteriana. Con la diversificación de la dieta, el número de colonias de *Enterococci* y *Bacteroides* aumenta, disminuyendo el número de bifidobacterias.

Los alimentos que ingiere el lactante son en parte los responsables de los cambios que tienen lugar en la microflora colónica. Se ha visto que los niños alimentados con lactancia artificial presentan un menor número de bifidobacterias que los niños alimentados con lactancia natural. Al finalizar la primera semana de vida, el género *Bifidobacterium* sp. representa 95% del total de la población bacteriana en heces de los lactantes alimentados exclusivamente a pecho mientras que en los lactantes alimentados con leche de fórmula suponen menos del 70% (34).

TABLA 4
Oligosacáridos de la leche materna que inhiben agentes enteropatógenos (42)

Estructura	Bacteria	Mecanismo de inhibición
Gal(β 1 β 4) N-AcGlu (β 1 β 3)Gal((β 1 β 4)Glu	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Adhesión <i>S.pneumoniae in vitro</i>
Pentasacárido fucosilado	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	Adhesión <i>E. coli in vitro</i>
Oligosacáridos fucosilados Fuc(β 1 β 2)Gal((β 1 β 4) N-AcGlu...	<i>Campylobacter jejuni</i>	Adhesión <i>C.jejuni in vitro</i> Infección <i>in vivo</i> Unión a la adhesina de <i>C. jejuni</i>
Oligosacáridos fucosilados Fuc(β 1 β 2)Gal...	Enterotoxina termoestable de <i>E. coli</i> (ST)	Unión de ST al receptor <i>in vitro</i> . Diarrea inducida por ST <i>in vivo</i> . Unión al receptor de la toxina

D-glucosa (Glu); D-galactosa (Gal), L-fucosa (Fuc) y N-acetilglucosamina (N-AcGlu).

Los oligosacáridos no digeribles y la lactosa son la principal fuente de energía y carbono de las bacterias colónicas durante el período de lactancia (14). Los oligosacáridos no digeribles son sustratos específicos para las bifidobacterias. Estas bacterias se caracterizan porque metabolizan la glucosa por la vía de la fructosa-6-fosfato (ruta bífida), debido a la presencia de enzimas 2,1-beta-D-fructan-fructanohidrolasas, que hidrolizan la fructosa del extremo no reducido de algunos azúcares en posición beta-2,1, originando como productos finales acetato y lactato (35).

El resto de N-acetilglucosamina es el precursor del ácido murámico componente de la pared del *Bifidobacterium bifidum var pennsylvanicus*, por ello, este compuesto es uno de los que forman parte del denominado factor Bífido, ya que favorece la proliferación de *Bifidobacterium sp.* (9, 34).

El cambio en la composición de la microbiota del lactante, se ve reflejado en las modificaciones del pH y en el perfil de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (36).

Los efectos de la fermentación colónica son beneficiosos para la salud. Suponen un aporte calórico importante para el crecimiento bacteriano y para el huésped (37). Los AGCC (acetato, propionato y butirato), el lactato y el succinato hacen disminuir pH intestinal, lo que crea un medio ácido desfavorable para el crecimiento de algunas bacterias patógenas como son *E. coli*, *Shigella sp*, *Streptococcus fecalis* y *Clostridium sp.* que se convierten en predominantes tras el período de diversificación (9). Ejercen también un efecto vasodilatador local, por lo que se incrementa la absorción de agua y sales en el intestino grueso. La mayor reabsorción de agua protege frente a la diarrea y además los AGCC también constituyen estímulos químicos de la motilidad intestinal, que junto con los estímulos mecánicos producidos por el incremento de gases y la masa bacteriana, estimulan la velocidad de tránsito (38).

Efecto sobre la maduración del sistema nervioso central

Se ha estimado que la ingesta diaria de oligosacáridos del lactante es de 170 mg/kg durante las 2 primeras semanas de vida, disminuyendo hasta 20 mg/kg al tercer mes (39), de los cuales la mitad corresponde a oligosacáridos ácidos.

El ácido siálico se presenta en la naturaleza en forma de glucoconjugados y es importante para el funcionamiento de membranas celulares y receptores de membrana. Su síntesis tiene lugar en el hígado, pero las cantidades producidas son inferiores a los requerimientos de los lactantes durante los primeros meses de vida (9).

Se piensa que el ácido siálico ejerce un papel esencial en la sinapsis, en la formación de la memoria y en la comunicación celular (40). Una disminución en la concentración de estas sustancias durante el período de crecimiento se asocia con un daño irreversible en la capacidad de aprendizaje en ratas (41).

Para que el ácido siálico de los oligosacáridos sea disponible es necesario que se produzca la hidrólisis enzimática en el extremo terminal del OLH. En diferentes especies se ha encontrado una elevada actividad de neuroaminidasa intestinal durante el período de lactancia (15).

Por otro lado, la galactosa de los galactooligosacáridos puede contribuir en el desarrollo del sistema nervioso formando galactocerebrósidos, glucolípidos predominantes en la mielina (12).

CONCLUSIONES

Los OLH representan aproximadamente el 16% de los hidratos de carbono totales de la leche materna. Se estima que el 60% de los OLH ingeridos son metabolizados por la

microbiota colónica. Es en el tracto gastrointestinal donde parecen ejercer efectos beneficiosos para la salud del lactante, principalmente relacionados con un aumento de las defensas inmunitarias y un efecto prebiótico. Una pequeña fracción se absorbe y en su mayoría se excreta por orina (el 1% de lo ingerido). A esta fracción se la asocia con la función de sintetizar glicolípidos presentes en la neurona. Lo cual podría tener importancia en el desarrollo postnatal del sistema nervioso.

REFERENCIAS

1. OMS. Código internacional de comercialización de sucedáneos de la leche materna. OMS. Ginebra, 1981.
2. Cervera P. Necesidades nutricionales y alimentación en el primer año de vida. En: Cervera P, eds. Alimentación materno infantil. Masson, Barcelona, 1994: 79-119.
3. Garza C, Butte NF, Goldman AS. Human milk and infant formula. En: Suskin R. M., eds. Textbook of Paediatric Nutrition 2 ed, Raven Press: New York, 1993: 33-42.
4. Suskind RM, Lewinter-Suskind L. Textbook Paediatric Nutrition. 2^a ed. Raven Press, New York, 1993.
5. Coppa GV, Gabrielli O, Pierani P, Catassi C, Carlucci A, Giorgi PL. Changes in carbohydrate composition in human milk over 4 months of lactation. Pediatrics. 1993; 91: 637-641.
6. Kunz, C, Rudloff S. Biological functions of oligosaccharides in human milk. Acta Paediatr. 1993; 82: 903-912.
7. Kobata A. Milk glycoproteins and oligosaccharides. En: Horowitz, M., Pigman, W., eds. Mammalian glycoprotein and glycolipids vol. I, 1978:423-440.
8. Coppa GV, Pierani P, Zampin L, Carloni I, Carlucci A, Gabrielli O. Oligosaccharides in human milk during different phases of lactation. Acta Paediatr. 1999; 430: 89-94.
9. McVeagh P, Brand Miller J. Human milk oligosaccharides: Only the breast. J Pediatr Child Health. 1997; 33: 281-285.
10. Nakhla T, Fu D, Zopf D, Brodsky N, Hurt H. Neutral oligosaccharide content of preterm human milk. Br J Nutr. 1999; 82: 361-367.
11. Richard-Nesser J-M, Golliar M, Del Vedovo S. Quantitative determination of complex carbohydrates in bovine milk and in milk-based infant formulas. J Dairy Sci. 1991; 77: 2860-2871.
12. Kunz C, Rudloff S, Schad W, Braun D. Lactose-derived oligosaccharides in the milk of elephants: comparison with human milk. Br J Nutr. 1999; 82: 391-399.
13. Viverge D, Grimmonprez L, Cassanas G, Bardet L, Bonnet H, Solere M. Variations of lactose and oligosaccharides in milk from women of blood types secretor A or H, secretor Lewis, and secretor H/ non secretor Lewis during the course of lactation. Ann Nutr Metab. 1985; 29: 1-11.
14. Miller JB, Bull S, Miller J, McVeagh P. The oligosaccharides in human milk: temporal and individual variations in monosaccharides components. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1994; 19: 371-376.
15. Arke J. Lactation. WHO Bull 1989; 67: 2.
16. Newburg DS, Neubauer SH. Carbohydrates in milk. En: Jensen R. G., ed. Handbook of milk composition. Academic Press: San Diego, 1995: 273-349.
17. Thurl S, Werner BM, Swatzki G. Quantification of individual oligosaccharide compounds from human milk using high-pH anion exchange chromatography. Ann Biochem. 1996; 235: 202-206.
18. Egge H. The diversity of oligosaccharides in human milk. En: Renner, B., Sawatzki, G. eds. New Perspectives in infant nutrition. Thieme Verlag: Stuttgart, 1993: 16-26.
19. Montreuil J. The saga of human milk gynolactose En: Renner, B., Sawatzki, G. eds. New Perspectives in infant nutrition. Thieme Verlag: Stuttgart, 1993: 3-11.
20. Kunz C, Rudloff S, Pohlentz G, Egge H. Oligosaccharides in milk of different species including man, rhesus monkey, cow and pig. FASEB Journal 1996; 10: A748.
21. Rudloff S, Braun D, Schad W, Kunz C. Oligosaccharides in milk- a relationship to brain development?. FASEB. Journal. 1998; 12: A235.
22. Engfer MB, Stahl B, Finke B, Sawatzki G, Daniel H. Human milk oligosaccharides are resistant to enzymatic hydrolysis in upper gastrointestinal tract. Am J Clin Nutr. 2000; 71: 1589-1596.
23. Rudloff S, Polentz O, Dielman L, Egge H, Kunz C. Urinary excretion of lactose and oligosaccharides in preterm infants fed human milk or infant formula. Acta Paediatr 1996; 85: 598-603.
24. Rhodes JM, Gallimore R, Elias E, Allan RN, Kennedy JF. Faecal mucus degrading glycosidases in ulcerative colitis and Crohn's disease. Gut. 1985; 26: 761-765.
25. Corfield AP, Wagner SA, Clamp JR, Kriaris MS, Hoskins LC. Mucin degradation in human colon production of sialidase, sialate O-acetyltransferase, N-acetylneuraminidase, arylesterase, and glycosulfatase activities by strains of fecal bacteria. Infect Immun. 1992; 60: 3971-3978.
26. Brand Miller JC, McVeagh P, McNeill Y, Messer M. Digestion of human milk oligosaccharides by healthy infants evaluated by lactulose hydrogen breath test. J Paediatr. 1998; 133: 95-98.
27. Feachem RG, Koblisky M. A Interventions of the control of diarrhoeal disease among young children; promotion of breastfeeding. Bull WHO. 1984; 62: 271-263.
28. Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P y col. Intestinal colonization with enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital-delivered infants. Acta Paediatr Scand. 1990; 80: 602-610
29. Newburg DS. Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization. J Pediatr Gastr Nutr. 2000; 30: 8-17.
30. Anderson B, Porras O, Hanson LA, Lagergard T, Svanborg-Eden C. Inhibition of attachment of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* by human milk. J Infect Dis. 1986; 153: 704-712.
31. Idanpaan-Heikkila I, Simon PM, Zopf D, Vullo T, Cahill P, Sokol K. et al. Oligosaccharides interfere with the establishment and progression of experimental pneumococcal pneumonia. J Infect Dis. 1997; 176: 704-712.
32. Cravioto A, Tello A, Villafan H, Ruiz J, del Vedovo S, Nesser J. R. Inhibition of attachment of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* by human milk and receptor oligosaccharides. J Infect Dis. 1991; 4: 27.

33. Ruiz-Palacios GM, Cervantes LE, Newburg DS, Lopez-Vidal JJ. In vitro models for studying *Campylobacter jejuni*. En: Blaser M. J., Tomkins L. S., ed. *Campylobacter jejuni*. Current Status and future trends American Society of microbiology: Washington, D.C. 1992: 176-183.
34. Yoshioka Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infant. *Pediatrics*. 1983; 72: 317-332.
35. Orrhage K, Nord CE. Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. *Acta Paediatr*. 1999; 430: 47-57.
36. Wang X, Gibson GR. Effect of in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J Appl Bacteriol*. 1993; 75: 373-380
37. Oku T. Oligosaccharides with beneficial health effects: a Japanese perspective. *Nutr Rev*. 1996; 54: S56-S59.
38. Kien CL, McClelland RE, Cordero L Jr. Effects of lactose intake on lactose digestion and colonic fermentation in preterm infants. *J Pediatr*. 1998; 133: 401-405.
39. Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in immature human gut *Adv Pediatr*. 1999; 46: 353-382.
40. Rosenberg A. editor. *Biology of the sialic acids*. New York, NY: Plenum Press 1995.
41. Morgan BL, Winick M. Effects of administration of N-acetyl neuraminic acid on brain NANA content and behaviour. *J Nutr*. 1980; 110: 416-424.
42. Newburg DS. Oligosaccharides and glycoconjugates in human milk: their role in host defense. *J Mammary Gland Biol. Neoplasia* 1996; 1: 271-283.

Recibido: 03-11-2000

Aceptado: 20-09-2001

Total dietary fiber in urban and rural Costa Rican adolescents' diets

Rafael Monge-Rojas, Hilda Nuñez Rivas

Costa Rican Institute for Research and Education on Nutrition and Health (Inciensa). Tres Rios. Costa Rica

SUMMARY. Dietary fiber has important health benefits in adolescence, especially in promoting normal laxation and reducing the future risk of some chronic diseases. The purpose of this survey was to examine the dietary fiber intake among Costa Rican adolescents. Prospective 3-d diet records were used for dietary fiber data collection. The "age + 5 rule" was used as criterion for adequate fiber intake. Mean daily reported fiber intake was 23.8 ± 12.6 grams. Mean fiber intake was higher in rural areas than in urban areas either for direct intake data or for values adjusted per 1,000 Kcal (13.6 ± 7.7 and 8.2 ± 2.9 respectively, $p < 0.001$). On the contrary, no differences were found among males and females when mean fiber intake was adjusted per 1,000 kcal. On average, only 45% of the total adolescents studied showed an adequate fiber intake. This percentage was higher in rural areas than urban areas. Adolescents who met the "age + 5 rule" have healthier diets than those with inadequate fiber intake. This study suggests that nutritionists working with adolescents should focus their efforts on promoting the consumption of fiber-rich foods, especially legumes, fruit and vegetables, in order to reduce the risk of diet-related chronic diseases during adulthood.

Key words: Dietary fiber, age + 5 rule, adolescents, Costa Rica.

RESUMEN. Fibra dietética total en la dieta de adolescentes costarricenses del área urbana y rural. La fibra dietética tiene importantes beneficios para la salud en la adolescencia, especialmente en la laxación normal y reducción del riesgo futuro de algunas enfermedades crónicas. Por tal razón este estudio se propuso estudiar el consumo de fibra en los adolescentes costarricenses. El consumo de fibra dietética se midió por medio del registro de alimentos de tres días. La regla "edad + 5" fue usada como criterio para definir el consumo adecuado de fibra. El consumo promedio de fibra fue 23.8 ± 12.6 gramos. Este consumo fue mayor en el área rural que en la urbana, aun cuando el consumo fue ajustado por 1000 Kcal (13.6 ± 7.7 y 8.2 ± 2.9 respectivamente, $p < 0.001$). Por el contrario, no se observaron diferencia por sexo cuando el consumo de fibra se ajustó por 1000 Kcal. Solamente 45% del total de adolescentes estudiados consumió una cantidad adecuada de fibra. Este porcentaje fue significativamente mayor en el área rural. Los adolescentes quienes alcanzaron la regla "edad + 5" mostraron una dieta más saludable que aquellos con inadecuado consumo de fibra. Este estudio sugiere que los(as) nutricionistas que trabajan con adolescentes, deben enfocar sus esfuerzos a la promoción de alimentos ricos en fibra, especialmente leguminosas, frutas y vegetales, con el propósito de reducir el riesgo de enfermedades crónicas relacionadas con la dieta durante la edad adulta.

Palabras clave: Fibra dietética, regla "edad + 5", adolescentes, Costa Rica.

INTRODUCTION

During the last 25 years the role of fiber in the diet has been recognized by numerous health organizations (1). The consumption of dietary fiber is associated with important health benefits, especially with respect to promoting normal laxation (2). Dietary fiber also may help reduce the future risk of several chronic diseases, including some types of cancers (breast, colon, pancreas, ovary, endometrium, and prostate), cardiovascular disease, obesity, and diabetes mellitus, among others (3-6).

Because lifetime dietary patterns are established early in life, young children and adolescents should be encouraged to make nutritious high-fiber foods part of their daily diets to achieve optimum health (7). Therefore, primary prevention

programs are required to encourage fiber intake from an early age. This appears to be quite important in countries such as Costa Rica where ischemic disease and stomach cancer are the leading causes of death among Costa Rican adults (8) and the prevalence of obesity and diabetes mellitus has shown a tendency to increase during the past years (8,9).

The ideal dietary fiber intake has not been defined, nor has a Recommended Dietary Allowance been established. Nevertheless, recently the American Health Foundation (10) recommended that a reasonable goal for minimal intake of dietary fiber for children and adolescents 3 to 20 years of age be the equivalent of the age of the child or adolescent plus 5 g of dietary fiber per day ("age + 5"). However, a safe range of dietary fiber for children and adolescents is suggested to be between age plus 5 and age plus 10-g/d (10). This range

of fiber intake is thought to be safe even for adolescents with marginal intake of some micronutrients (10,11).

Information on dietary fiber intake in the Costa Rican population is very limited and available only for adults. In 1990 alone the consumption of dietary fiber in a group of adolescents 13-16 years of age was evaluated. Although the sample was very small ($n=40$) and specific, for two urban studies the study warned of the tendency of this population to have a low consumption of fiber (12).

For more than a decade, the consumption of fiber in adolescents was not the object of study; however, recently it has been considered that current information on the subject could constitute input material for the formulation of an action plan directed at promoting healthy eating habits in adolescents.

This survey was designed to examine the dietary fiber intake among urban and rural Costa Rican adolescents based on the "age + 5 rule".

METHODS

A sample of 275 adolescents, 13-18 year-olds, 48% from urban areas and 52% from rural areas, were selected from 10 public high schools. The high schools were chosen from the province of San José, Costa Rica. In each high school, adolescents were selected at random. Written parental and adolescent consent were required to participate in the study.

Dietary fiber intake was determined with three-day food records (13). The three days of dietary intake included one weekend day and the previous or next two days (Sunday, Monday and Tuesday or Thursday, Friday and Saturday). A series of six photographs of food usually consumed in Costa Rica were used to estimate portion size while keeping the food record.

Food records were verified by trained nutritionists who reviewed them in detail with each youngster. Foods and three-dimensional food models were used to verify the size of some portions reported by the adolescents. The Food Processor® for Windows version 6.0 (Esha Research, Salem-Oregon) was used to perform fiber calculation from dietary data. The nutrient information in the ESHA database is a compilation of the latest USDA data and of over a thousand additional scientific sources (14). The nutritional value, including fiber content, of approximately 60 food preparations commonly consumed in Costa Rica was incorporated into this database. The School of Nutrition at the University of Costa Rica provided the information.

To evaluate fiber intake, it was compared with the minimum recommended fiber consumption per day for each adolescent. The minimum recommended consumption was determined using the "age + 5 rule" (11), i.e., adding 5 g of dietary fiber to the age of each of the young participants in

the study. Following this rule, the minimum fiber consumption for an adolescent 14 years old was 19 grams, as an example.

Fiber consumption less than that determined using the "age + 5 rule" was considered inadequate. Based on this information, two groups of adolescents were made up; one with an adequate consumption of fiber and another with an inadequate consumption. The average consumption of various nutrients was determined for each group, as well as the percentage energy derived from total fat, saturated fat, protein, carbohydrates, and sucrose. Thus 9 was multiplied by the amount of fat consumed and then the result was multiplied by 100 and divided by the total calories consumed by the adolescent ($(\text{grams} \times 9) \times 100$)/Kcal. In the case of the other macronutrients and sucrose, a similar procedure was used, but multiplying the grams consumed by 4: $(\text{grams} \times 4) \times 100$ /Kcal.

Food groups were created to identify dietary sources of fiber. The contribution of total dietary fiber by each food group was determined using the following formula: $(\text{total grams of dietary fiber from all foods in a group}) / (\text{total grams of dietary fiber from all foods})$. Given the importance of legumes in the Costa Rican diet, their contribution to the total consumption of fiber was analyzed outside the group of vegetables. Likewise, considering the seasonal consumption of the peach palm *Bactris gaspae*s), its contribution to fiber was analyzed separately from the group of fruits.

Analysis of variance tests was used to determine significant differences in energy intake and energy-adjusted macro and micronutrient intakes between those adolescents who consumed adequate dietary fiber according to the "age + 5 rule" and those who did not. A level of $p < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

The sample consisted of 131 urban and 144 rural adolescents; 52% were males and 48% females for each area. All adolescents were from the same ethnic background (mestizo). The adolescents' mean age was 15 ± 1.6 years-old with no differences between urban and rural areas. The proportion of adolescents in each age group was similar for both areas.

Mean daily reported fiber intake was 23.8 ± 12.6 grams (Table 1). Mean intake was higher in rural areas than in urban areas (29.0 ± 11.4 and 18.5 ± 8.2 respectively, $p < 0.0001$). This pattern was similar even when fiber intake was adjusted per 1,000 Kcal (13.6 ± 7.7 and 8.2 ± 2.9 respectively, $p < 0.0001$). Mean daily fiber intake was higher in males than in females (26.8 ± 11.6 and 20.8 ± 9.8 respectively, $p < 0.05$). Nevertheless when mean fiber intake was adjusted per 1,000 kcal no differences were found ($p > 0.05$). Although total energy intake was higher in males than in females ($p < 0.0001$) the fiber density of the diet was similar.

TABLE 1

Mean (\pm standard deviation) daily intake of total fiber by Costa Rican adolescents

Population	n	Energy, Kcal	Total fiber, g	Fiber/1,000 Kcal, g
Urban adolescents				
Males	69	2445 \pm 723	19.6 \pm 9.8	7.9 \pm 2.9
Females	62	2078 \pm 516	17.3 \pm 5.6	8.5 \pm 2.8
<i>p</i> value		0.001	0.096	0.270
Rural adolescents				
Males	75	2329 \pm 673	33.9 \pm 19.8	14.2 \pm 9.2
Females	69	1918 \pm 644	24.2 \pm 11.5	12.8 \pm 5.4
<i>p</i> value		0.000	0.006	0.299
Total				
Urban	131	2261 \pm 657	18.5 \pm 8.2	8.2 \pm 2.9
Rural	144	2123 \pm 688	29.0 \pm 11.4	13.6 \pm 7.7
<i>p</i> value		0.088	0.000	0.000
Males	144	2387 \pm 697	26.8 \pm 11.6	11.3 \pm 7.7
Females	131	1998 \pm 590	20.7 \pm 9.8	10.8 \pm 4.9
<i>p</i> value		0.000	0.003	0.000
Total population	275	2192 \pm 672	23.8 \pm 12.6	11.2 \pm 5.3

Among the urban adolescents, 70% did not meet the "age + 5 rule". In comparison, the proportion of rural adolescents who did not meet the "age + 5 rule" was significantly lower (40%, $p < 0.001$) than the proportion of urban youngsters. On average, only 45% of the total adolescents studied consumed adequate fiber levels according to the "age + 5 rule".

In urban areas, only 33% of males and 26% of females met the "age + 5 rule". On the contrary, a significantly higher percentage ($p < 0.0001$) of rural males and females met the aforementioned rule (54% and 60% respectively). In both areas, 31% of adolescents aged 13-14 years, 23% of 15 year olds and 46% of youngsters aged 16 to 18 years have inadequate fiber consumption.

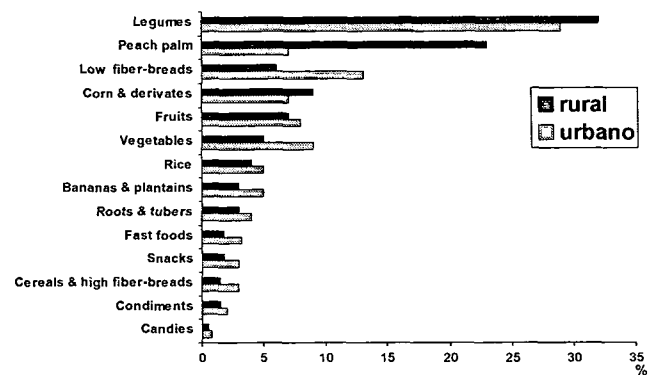
For urban adolescents legumes and low fiber breads were the two major groups contributing dietary fiber (Figure 1). Legumes provided 29% and low fiber breads 13% of the total dietary fiber eaten. Other notable sources of dietary fiber in the urban adolescents' diet included vegetables (9%), fruits (8%), and corn and derivatives (7%). Rice and bananas and plantains each contributed 5%, and roots and tubers provided 4% of total dietary fiber.

For rural youngsters, legumes provided 32% of total dietary fiber, whereas peach palm (*Bactris gasypaes*) contributed 23% of the total fiber intake. Peach palm contribution reflects the widespread availability of this food during the harvest season. Additional sources of dietary fiber in the rural adolescents' diet were corn and derivatives (9%), fruits (7%), low fiber breads (6%) and vegetables (5%). Together rice, bananas and plantains and the root and tuber

group contributed about 10% to fiber intake. Paradoxically in both groups of adolescents, the contribution of fruits and vegetables to total dietary fiber intake is very low, even though there is a wide variety and availability of these foods throughout the year in Costa Rica.

FIGURE 1

Food sources of total fiber in Costa Rican adolescents' diet



Other food groups such as fast foods, snacks, condiments, candies, cereals and high fiber breads each contributed between 0.5% - 3% of the total fiber intake of urban and rural youngsters. These food groups contributed more fiber to urban adolescents' diet ($p < 0.001$).

Of the total fiber consumed by both groups of adolescents studied, 14% to 17% came from breakfast, 25% to 32% from lunch, 22% from dinner, and 31% to 35% from snacks.

When urban and rural adolescents were stratified based on satisfaction of the "age + 5 rule" (Table 2), significant differences were noted in the dietary composition of the total daily intake of selected nutrients between those adolescents who met the "age + 5 rule" and those who did not meet it. The energy intake of adolescents who met the "age + 5 rule" was about 640 kcal greater ($p < 0.001$) than the energy intake of the adolescents who consumed low-fiber diets. Likewise, mean 1,000 kcal-adjusted intakes of folate, iron and

magnesium were significantly ($p < 0.001$) greater among those with an adequate fiber intake. In contrast, energy-adjusted intakes of total fat and saturated fat were significantly ($p < 0.001$) higher among the adolescents with fiber-poor diets; furthermore, urban adolescents who consumed inadequate fiber had significantly higher ($p < 0.05$) energy-adjusted intake of sodium. Cholesterol and sucrose intakes were lower, but not significantly among those adolescents who met the "age + 5 rule". The opposite was true for protein and vitamin A intake.

TABLE 2
Mean (\pm standard deviation) daily intake of nutrients by urban and rural adolescents who consumed inadequate and adequate amounts of total fiber^a

Nutrient	Urban adolescents		<i>p</i> value	Rural adolescents		<i>p</i> value
	Inadequate intake (n=92)	Adequate intake (n=39)		Inadequate intake (n=58)	Adequate intake (n=86)	
Energy (Kcal)	2080 \pm 536	2721 \pm 703	0.000	1744 \pm 533	2393 \pm 649	0.000
Dietary fiber (g) ^b	7.2 \pm 2.0	10.7 \pm 3.3	0.000	9.3 \pm 2.6	16.4 \pm 8.7	0.000
Protein (g) ^b	30.8 \pm 6.0	32.4 \pm 5.8	0.161	27.8 \pm 6.2	28.2 \pm 4.4	0.651
Total fat (g) ^b	35.1 \pm 5.9	30.5 \pm 6.4	0.000	28.9 \pm 9.5	24.2 \pm 6.9	0.000
Saturated fat (g) ^b	12.7 \pm 3.1	9.6 \pm 2.2	0.000	11.8 \pm 3.2	8.2 \pm 2.4	0.000
Carbohydrates (g) ^b	137.9 \pm 16.2	145.3 \pm 16.7	0.019	140.9 \pm 22.7	153.6 \pm 16.7	0.000
Sucrose (g) ^b	52.3 \pm 16.1	49.2 \pm 18.7	0.388	46.3 \pm 15.3	46.1 \pm 12.5	0.931
Cholesterol (g) ^b	111.2 \pm 5.3	105.4 \pm 44.8	0.238	113.8 \pm 70.2	98.9 \pm 52.8	0.148
Vitamin A (RE) ^b	399.5 \pm 289	486.4 \pm 290	0.119	339.9 \pm 271	381.2 \pm 255	0.355
Vitamin E (mg α TE) ^b	9.3 \pm 7.1	8.7 \pm 5.9	0.643	16.0 \pm 13.8	14.2 \pm 9.9	0.364
Folate (μ g) ^b	101.7 \pm 33.2	156 \pm 53.4	0.000	122.9 \pm 36.3	156.8 \pm 50.4	0.000
Iron (mg) ^b	4.6 \pm 2.0	5.0 \pm 2.1	0.000	4.2 \pm 2.1	5.0 \pm 2.0	0.022
Magnesium (mg) ^b	102.3 \pm 20	125.4 \pm 22.8	0.000	116.7 \pm 24.8	130.7 \pm 27.0	0.003
Sodium (mg) ^b	820 \pm 220	716 \pm 299	0.029	560 \pm 280	522 \pm 235	0.221
Energy from:						
Total fat (%)	33.1 \pm 5.4	30.2 \pm 5.8	0.009	33.2 \pm 8.6	29.0 \pm 6.3	0.000
Saturated fat (%)	14.0 \pm 3.1	9.8 \pm 2.5	0.000	12.3 \pm 3.2	8.9 \pm 2.6	0.000
Protein (%)	12.3 \pm 2.4	12.9 \pm 2.3	0.188	11.5 \pm 2.5	11.2 \pm 1.8	0.404
Carbohydrate (%)	55.2 \pm 6.4	57.1 \pm 6.7	0.021	56.4 \pm 9.1	61.4 \pm 6.7	0.000
Sucrose (%)	20.9 \pm 6.4	19.7 \pm 7.5	0.353	18.5 \pm 5.0	18.4 \pm 5.0	0.914

^a Adequacy was judged based on the age +5 rule, ^b Adjusted per 1,000 kcal

DISCUSSION

According to the "age + 5 rule", this study made clear that most of the adolescents included in the sample reported inadequate dietary fiber intake. These results deserve prompt attention since consumption less than the "age + 5 rule" represents a consumption less than the recommended

minimum. A healthy intake of dietary fiber should range from "age plus 5" to "age plus 10" g/d (11).

Low fiber intake is noteworthy in Costa Rican adolescents, particularly considering that their diet is rich in saturated fat (> 11% Kcal) and low in polyunsaturated fat (< 5% Kcal), folic acid and calcium (15,16). This suggests that the adolescents' diet have several characteristics related to chronic

disease development. Therefore, primary prevention programs are required to improve the food habits. This appears to be quite important in developing countries, such as Costa Rica, which have a delayed epidemiological model where chronic and infectious diseases coexist (17,18).

The life expectancy in developing countries has increased; however, the possibility of improving it will depend not only on a decrease in the infant mortality, but also on a decrease in chronic non-transmissible disease associated with premature mortality. An increase in the dietary fiber consumption from early life could contribute toward achieving this goal. As has been widely demonstrated, it is possible to reduce the proportion of deaths due to chronic disease and even more so, prevent the occurrence of new cases by applying strategies directed to the modification of lifestyle risk factors (i.e., dietary intake) (19-21).

This study confirms that youngsters with high fiber intake have healthier diets. Even after controlling for total energy intake, adolescents who met the age + 5 rule still consumed significantly more energy-adjusted amounts of folate, magnesium and iron and less saturated fat and sodium. This evidence suggests that adolescents who met the "age + 5 rule" made better food choices than those who did not meet the rule.

Nutritionists working with adolescents should focus their efforts on promoting the consumption of fiber-rich foods, especially, fruits and vegetables. The consumption of these foods among Costa Rican adolescents is well below the recommended 5 servings per day. Current intake averages around 1.5 servings and only 2% of adolescents consume at least 5 servings of vegetables and fruits daily (22).

Several studies show that social norms and eating patterns at home may contribute substantially to an individual's eating habits (23,24). In addition, barriers to healthy eating posed by family preferences for fruits and vegetables have been found to be associated with individual consumption of fruits and vegetables (23). Therefore, family interventions appear to be a promising strategy for increasing fiber-rich food consumption among adolescents.

Since it was frequently consumed, low-fiber bread was a considerable source of dietary fiber for all of the adolescents in this study, especially urban youngsters. It may be assumed that substituting high-fiber breads would go a long way toward improving adolescents' dietary fiber intakes and, with the wide variety available, should be relatively easy to accomplish. However this represents a difficult change in the Costa Rican food pattern, because high-fiber breads are not popularly consumed in the country. The promotion of legume and plantain consumption (high-fiber foods) could be a better strategy because of their marked influence on the youngsters' diets.

In that sense, the need to promote the consumption of beans in the young Costa Rican population stands out, since

in the past years there has been evidence of a reduction in their consumption at the family level (25). On the other hand, it is necessary to consider that although the peach palm (*Bactris gassepaes*) represented the second source of dietary fiber for the rural youths, this finding is solely a direct effect of the seasonal availability of this food. Therefore, in order to maintain adequate fiber consumption in the adolescent population, it is necessary to promote the consumption of fiber-rich foods, such as fruits, vegetables, and legumes, whose availability is constant throughout the year.

A modification in the menus offered at high school cafeterias could be another strategy for providing a larger selection of fiber-rich foods. In addition, the availability of fruits in high school cafeterias could contribute to increasing the consumption of these foods.

REFERENCES

1. National Academy of Sciences/ National Research Council. Diet and health. Implications for reducing chronic disease risk. Washington DD: National Academy Press; 1989.
2. Hillemeir G. An Overview of the Effects of Dietary Fiber on Gastrointestinal Transit. *Pediatrics* 1995; 96: 997-999.
3. The American Dietetic Association: Position of The American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. *J Am Diet Assoc* 1993; 93: 1446-1447.
4. Ascherio A, Willet W. New Directions in Dietary Studies of Coronary Heart Disease. *J Nutr* 1995; 125: 647S-655S.
5. Viertanen SM, Aro A. Dietary Factors in the Etiology of Diabetes. *Ann Med* 1994; 26:469-478.
6. Kimm S. The role of dietary fiber in the development and treatment of childhood obesity. *Pediatrics* 1995; 96: 1010-1014.
7. Curry KR, Jaffe A. Nutrition counseling and communication skills. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1998.
8. Morice A. Situación de las enfermedades crónicas no transmisibles en Costa Rica. Tres Ríos, Costa Rica: Inciensa, 1998.
9. Ministerio de Salud. Encuesta nacional de nutrición. Fascículo antropometría. San José, Costa Rica: Ministerio de Salud, 1996.
10. William C, Bollella M, Wynder E. A New Recommendation for Dietary Fiber in Childhood. *Pediatrics* 1995; 96: 985-988.
11. Hampl J, Betts N, Benes B. The "age +5" rule: Comparisons of Dietary Fiber Intake among 4 to 10 Year Old Children. *J Am Diet Assoc* 1998; 98:1418-1423.
12. Barboza YE. Consumo de fibra dietética en adolescentes. *Rev Cost Cien Med* 1995, 16: 17-22.
13. Aráuz AG. Método de Registro de Alimentos de Tres Días. In: Madrigal H, Martínez H (Eds). *Manual de Encuestas de Dieta*. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 1990: 83-98.
14. ESHA Research. The food processor for windows: Nutrition & fitness software, version 6.0. Salem, Oregon: ESHA, 1995.

15. Monge R, Beita O. Prevalence of coronary heart disease risk factors in Costa Rican adolescents. *J Adolesc Health* 2000, 27: 210-217.
16. Monge R. Dietary intake as a cardiovascular risk factor in Costa Rican adolescents. *J Adolesc Health* 2001, 28: 328-337
17. renk J, Frejka T, Bobadilla JL, Stern C, Lozano R, Sepúlveda J, José M. La Transición Epidemiológica en América Latina. *Bol Of Sanit Panam* 1991; 111:485-496.
18. Mosley WH, Bobadilla JL, Jamison DT. The Health Transition : Implications for Health Policy in Developing Countries. In: Jamison DT, Mosley WH, Meashan AR, Bobadilla JL, Eds. *Disease Control Priorities in Developing Countries*. Washington:Oxford University Press, 1993:673-699.
19. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. *Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective*. Menasha, Wi: BANTA Book Group, 1997.
20. World Health Organization. *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Disease*. Thecnical Report Series 797, Geneva:WHO, 1990.
21. Twisk J, Kemper H, van Mechelen W, Post G. Tracking of Risk Factors for Coronary Heart Disease over a 14-Year Period: A Comparison between Lifestyle and Biologic Risk Factors with Data from The Amsterdam Growth and Health study. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 888-898.
22. Monge R. Fruit and vegetable consumption among Costa Rican adolescents. *Arch Lat Nutr* 2001; 15: 81-85.
23. Dittus K, Hillers V, Beerman K. Benefits and barriers to fruit and vegetable intake-relationship between attitudes and consumption. *J Nutr Educ* 1995; 27: 120-126.
24. Hertzler AA. Children's food patterns - a review: Family and group behaviors. *J Am Diet Assoc* 1983; 83: 555-560
25. Meza N, Rodríguez N. II Encuesta nacional sobre consumo aparente de alimentos, 1991: *Análisis de tendencias en el consumo de alimentos, 1989-1991*. Ministerio de Salud, Costa Rica, 1993.

Recibido: 12-12-2000

Aceptado: 20-09-2001

Efectividad de dos indicadores antropométricos en el diagnóstico nutricional de gestantes eutróficas y desnutridas

Ingrid Rached de Paoli, Gladys Henriquez Pérez, Arelis Azuaje Sánchez

Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo (CANIA). Caracas, Venezuela

RESUMEN. Para analizar la efectividad de los indicadores peso preconcepcional e índice de masa corporal preconcepcional en la categorización del estado nutricional de la embarazada, se evaluaron 109 gestantes en el primer trimestre del embarazo en el "Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo". En cada una de ellas el estado nutricional fué clasificado en base a tres criterios: diagnóstico nutricional integral, peso preconcepcional e índice de masa corporal preconcepcional. Para la evaluación de la efectividad de los criterios diagnósticos se compararon con el diagnóstico nutricional integral los otros dos criterios. Se realizó análisis de frecuencia, sensibilidad, especificidad y valores predictivos. El diagnóstico nutricional integral evidenció: 75,2% (n = 82) eutróficas y 14,8% (n = 27) desnutridas. La sensibilidad del peso preconcepcional fue 0,93 y la del índice de masa corporal 0,52 con un valor predictivo positivo de 0,60 y 0,82 respectivamente. La especificidad del primer indicador fue 0,79 y la del segundo 0,96, con valores predictivos negativos 0,97 y 0,86 respectivamente. El peso preconcepcional demostró ser efectivo para diagnosticar las mujeres desnutridas.

Palabras clave: Embarazo, índice de masa corporal, peso preconcepcional, estado nutricional.

SUMMARY. The effectiveness of two anthropometric indicators in the nutritional diagnosis in pregnant women. The objective was to evaluate the effectiveness of the indicators prepregnancy weight and prepregnancy body mass index in the categorization of the nutritional state of the pregnant woman. The study group was formed by 109 pregnant women. They were evaluated in the first trimester of the pregnancy, at the "Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo". In each one of them the nutritional state was classified according to three criteria: integral nutritional diagnosis, prepregnancy weight and prepregnancy body mass index. For the evaluation of the effectiveness of the diagnostic criteria, the other two approaches were compared with the integral nutritional diagnosis. The analysis of the frequency, sensibility, specificity and predictive values were applied. The integral nutritional diagnosis showed: 75.2% (n = 82) well-nourished and 14.8% (n = 27) undernourished. The sensibility of the prepregnancy weight was 0.93 and of the prepregnancy body mass index was 0.52, with a positive predictive value of 0.60 and 0.82 respectively. The specificity of the first indicator was 0.79 and of the second was 0.96, with negative predictive value of 0.97 and 0.86 respectively. The prepregnancy weight demonstrated to be effective to diagnosis undernourished women.

Key words: Pregnancy, body mass index, prepregnancy weight, nutritional state.

INTRODUCCION

La evaluación del estado nutricional al inicio y durante la gestación es fundamental para identificar el estado nutricional materno, dar a la gestante las recomendaciones dietéticas pertinentes, así como iniciar la intervención nutricional desde etapas muy tempranas, de ser ésto preciso, y evaluar su resultado (1-3).

Algunos autores han relacionado un estado nutricional deficiente en la mujer embarazada con una elevada incidencia de peso bajo al nacer, incremento de la tasa de mortalidad neonatal, retardo o detención del crecimiento y riesgo de déficit psicomotor posterior (4-7), por lo que la evaluación del estado nutricional de la embarazada se ha convertido en una prioridad.

Diferentes medidas e índices antropométricas han sido

utilizados para clasificar el estado nutricional de la mujer gestante, entre ellos se encuentran el peso preconcepcional (PP), la circunferencia media del brazo izquierdo (CMBI) y el índice de masa corporal (IMC) (1).

La OMS utiliza el percentil (P_{25}) del peso preconcepcional como punto de corte para la clasificación de la embarazada como eutrófica (7). Otros autores han utilizado los valores de referencia de Frisancho AR. para su interpretación; en estos valores de referencia el peso preconcepcional está relacionado con la edad de la madre (8).

El Instituto de Medicina de los Estados Unidos, Subcomité del Estado Nutricional y Ganancia de Peso de la Embarazada y la OMS recomiendan la clasificación del estado nutricional de las mujeres gestantes, tanto en déficit como en exceso, al inicio de la gestación, utilizando el indicador índice de masa corporal preconcepcional (7,9). Otro autor ha señalado

además a este indicador como una herramienta útil en el monitoreo del estado nutricional a lo largo de la misma (10).

Por otra parte, siempre se ha discutido la importancia de la evaluación integral del estado nutricional a nivel clínico (11-13), lo cual implica insumos y recursos humanos no disponibles en todos los niveles de atención en salud en países en desarrollo, de allí la importancia de probar la efectividad diagnóstica de herramientas de bajo costo y de fácil aplicación para la evaluación nutricional, por lo que se propone una investigación con el siguiente Objetivo: evaluar la efectividad de los indicadores peso preconcepcional e índice de masa corporal preconcepcional en la categorización del estado nutricional de la embarazada.

MATERIALES Y METODOS

El grupo de estudio estuvo constituido por 109 mujeres, con edades entre 16 y 40 años, evaluadas en el primer trimestre del embarazo en el Centro de Atención Nutricional Infantil "Antímano" (CANIA), en el lapso comprendido entre octubre de 1.998 y junio del 2.000, las cuales pertenecen al proyecto "Fortalecimiento al Centro de Atención Nutricional Infantil Antímano". Se excluyeron las mujeres con edad ginecológica menor o igual a 2 años y con embarazo gemelar. En cada una de ellas el estado nutricional fué clasificado en base a tres criterios diagnósticos: diagnóstico nutricional integral (DNI), peso preconcepcional (PP) e índice de masa corporal preconcepcional (IMCP).

Para obtener el primero en cada una de ellas se realizó una evaluación clínica y antropométrica, aplicada por uno de los investigadores (IRP). La primera incluyó la búsqueda de los signos clínicos de malnutrición por déficit (14). Las medidas antropométricas fueron realizadas por técnicos antropometristas previamente entrenadas y estandarizadas cada 4 meses, siguiendo las técnicas señaladas en el Manual de Antropometría de FUNDACREDESA (15), con error técnico de medición intraobservador de 0,00 para peso y 0,06 para talla y error técnico interobservador de 0,01 y 0,56 para peso y talla respectivamente. Además del peso preconcepcional (kg) y el índice de masa corporal preconcepcional (kg/m^2) para el DNI, se consideraron las siguientes variables e indicadores antropométricos: circunferencia media del brazo izquierdo (CMBI) (cm), pliegues subcutáneos: tricipital (Ptr) (mm), subescapular (PSE) (mm) y sumatoria de ambos (Σ Ptr-PSE) (mm), área muscular (AM) (cm^2), porcentaje de grasa (PG) (%), área grasa (AG) (cm^2), índice graso del brazo (IGB) (%), área total del brazo (AB) (cm^2) y contextura (C). La clasificación antropométrica se hizo aplicando un software diseñado para tal fin que utilizó la metodología sistematizada para la evaluación nutricional de la mujer en Venezuela (16). Para la interpretación de los indicadores tradicionales y de composición corporal se utilizaron los estándares antropométricos derivados por Frisancho AR. a partir de los datos del NHANES I y NHANES II (8), ya que los nacionales solo incluyen datos hasta los 19 años.

Las categorías consideradas por cada uno de los criterios diagnósticos aplicados (DNI, PP, IMCP) fueron las siguientes:

Diagnóstico nutricional integral: eutrófica y desnutrida, resultaron de las siguientes combinaciones:

Categoría nutricional	Clínica	Antropometría	
		Indicador	Punto de corte
Eutrófica	Presencia o no de palidez cutáneo mucosa, xerosis y caries dentales	IMC Indicadores de composición corporal	Ubicado en $\geq P_{15} - < P_{75}$ Ubicado en $\geq P_{15} - < P_{75}$
Desnutrición	Presencia de uno o más de los siguientes signos clínicos: palidez cutáneo mucosa, xerosis, caries dentales y disminución del pánfculo adiposo	IMC 2 ó más indicadores de composición corporal	Ubicado por debajo del P_{15} Ubicados por debajo del P_{15}

Peso preconcepcional: desnutrida cuando el peso para la edad gestacional es $\leq P_{15}$ y eutrófica $> P_{15}$. Para esta categorización se utilizaron los valores de referencia de Frisancho AR. (8), que clasifica el peso preconcepcional materno según la edad de la madre.

Índice de masa corporal preconcepcional: bajo cuando oscila entre 16,5 y 19,7 kg/m^2 ; y normal entre 19,8 y 26,0 kg/m^2 (7). Para esta categorización se utilizaron los puntos de corte recomendados por el Instituto de Medicina de los Estados Unidos, Subcomité del Estado Nutricional y Ganancia de Peso de la Embarazada (7).

Para determinar la efectividad de los dos criterios diagnósticos estudiados contra el diagnóstico nutricional integral considerado como diagnóstico definitivo, se analizó la sensibilidad y la especificidad de los mismos. La sensibilidad es un método diagnóstico que se refiere a la capacidad de la prueba de identificar correctamente a los enfermos y la especificidad a la de identificar a los individuos sanos que forman parte de una población. Para determinar el grado de confiabilidad de los métodos diagnósticos se calculó el valor predictivo positivo y negativo (13). Valor predictivo positivo: representa la probabilidad de que el paciente tenga la enfermedad al obtenerse un resultado positivo y valor predictivo negativo: representa la probabilidad de que el sujeto no tenga la enfermedad al obtenerse un resultado negativo. De igual manera, se calcularon los verdaderos positivos: total de gestantes diagnosticadas como desnutridas según el criterio diagnóstico en estudio y los verdaderos negativos: total de gestantes diagnosticadas como normales (eutróficas) según el criterio diagnóstico en estudio. Falsos positivos: gestantes categorizadas como desnutridas según el criterio diagnóstico en estudio y como eutróficas según el diagnóstico nutricional integral. Falso negativo: gestantes categorizadas como eutróficas según el criterio diagnóstico en estudio y como desnutridas según el diagnóstico nutricional integral. Por último, para evaluar la significancia de los resultados obtenidos se aplicó el contraste de McNemar para proporciones correlacionadas, que consiste en calcular un Chi cuadrado, en base solamente a los valores en que los dos métodos diagnósticos en estudio (peso preconcepcional e índice de masa corporal preconcepcional) no concuerdan (17).

RESULTADOS

La clasificación de las gestantes según el diagnóstico nutricional integral evidenció: 75,2% eutróficas y 14,8% desnutridas actuales. La prevalencia de desnutrición según el criterio diagnóstico peso preconcepcional fue mas alta (38,5%) que la observada al utilizar el índice de masa corporal preconcepcional Tabla 1.

TABLA 1

Distribución de frecuencia de las categorías nutricionales según los tres criterios diagnósticos

Categoría nutricional	DNI		PP		IMCP	
	n	%	n	%	n	%
Desnutrida	27	14,8	42	38,5	17	15,6
Eutrófica	82	75,2	67	61,5	92	84,4
Total	109	100,0	109	100,0	109	100,0

DNI = diagnóstico nutricional integral, PP = peso preconcepcional, IMCP = índice de masa corporal preconcepcional

En la Tabla 2 se observan los resultados de sensibilidad, especificidad y los valores predictivos de los dos criterios diagnósticos en estudio. La sensibilidad del peso preconcepcional fue mas alta que la del índice de masa corporal preconcepcional, con un valor predictivo positivo más bajo, esto último producto del alto número de pacientes diagnosticados como desnutridos al aplicar el PP (TPP=42), algunos de los cuales resultaron eutróficos cuando se utilizó el DNI.

TABLA 2

Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de los dos criterios diagnósticos en estudio

Indicadores	Criterios diagnósticos en estudio	
	PP	IMCP
Total de procedimiento positivo	42	17
Total de procedimiento negativo	67	92
Verdaderos positivos	25	14
Verdaderos negativos	65	79
Falso positivo	17	3
Falso negativo	2	13
Valor predictivo positivo	0,60	0,82
Valor predictivo negativo	0,97	0,86
Sensibilidad	0,93	0,52
Especificidad	0,79	0,96

PP = peso preconcepcional, IMCP = índice de masa corporal preconcepcional

Al aplicar la prueba de McNemar se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en la proporción de casos diagnosticados como desnutridos por el criterio diagnóstico peso preconcepcional y el índice de masa corporal preconcepcional.

DISCUSION

Desde hace algunos años el Instituto de Medicina de los Estados Unidos, Subcomité del Estado Nutricional y Ganancia de Peso de la Embarazada recomienda la utilización del índice de masa corporal preconcepcional para la clasificación del estado nutricional de las mujeres gestantes en el primer trimestre (7) y la OMS además incluye al peso preconcepcional (1). Aunque existen otros indicadores para evaluar el estado nutricional de la embarazada como son la circunferencia media del brazo y de la pierna, no existen publicaciones sobre la validación de la efectividad de alguno de ellos.

Este trabajo evidenció que el peso preconcepcional es sensible para diagnosticar a las gestantes desnutridas, lo cual es de gran utilidad especialmente en los niveles de atención

primaria por la escasa disponibilidad de herramientas diagnósticas. Por otra parte, se demostró en este grupo de estudio que la sensibilidad del índice de masa corporal es muy baja, hecho que resulta preocupante por el alto porcentaje de mujeres desnutridas que dejarían de ser diagnosticadas como tales al utilizar este indicador. A pesar de que el valor predictivo positivo del PP es menor que el del IMCP, la sensibilidad es una cualidad fundamental en los indicadores utilizados para diagnosticar déficit nutricional, ya que si se realiza un diagnóstico nutricional erróneo en la categoría de desnutrición, las recomendaciones de ganancia de peso estarían por debajo de los rangos adecuados que contribuyen a obtener un recién nacido a término acorde para la edad gestacional. Por otra parte, la especificidad fue mayor cuando se utilizó el índice de masa corporal preconcepcional, lo que implica que este indicador es efectivo cuando la mujer es eutrófica.

El IMCP ha sido ampliamente recomendado para la clasificación del estado nutricional de la gestante (1,7,10,18), sin embargo, los resultados encontrados en este grupo de estudio pueden explicarse por la dificultad de comparar valores de referencia debido a la diversidad de criterios de inclusión considerados en el diseño de los estudios, diferencia en las medidas de tendencia central y de dispersión utilizadas para caracterizar las muestras analizadas, metodología y control de calidad de las mediciones, diversidad de las poblaciones en relación a condiciones socioeconómicas, raciales, geográficas y genéticas, además de las discrepancias para definir "normalidad", todo lo cual afecta el resultado de la aplicación de la antropometría en la evaluación nutricional individual en las distintas etapas de la vida (19-21).

Estos resultados permiten concluir que el peso preconcepcional demostró ser efectivo para diagnosticar las mujeres desnutridas en este grupo de estudio. Se requieren estudios donde se validen otros puntos de corte y valores de referencia para la clasificación del IMC preconcepcional. De igual manera, se deben realizar investigaciones donde se evalúe la efectividad de la combinación de dos o más indicadores antropométricos en el diagnóstico nutricional de la gestante.

AGRADECIMIENTO

Al personal integrante de la consulta "Atención nutricional de la mujer embarazada", sin cuya valiosa colaboración no hubiera sido posible la realización de esta investigación, así como a las gestantes que formaron parte de la muestra analizada.

REFERENCIAS

1. WHO. Report of the Expert Committee. Physical Status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva. 1995; 3: 37-120.
2. Krasovec K. Background Issues. In: Krasovec K. and Anderson M editors. Maternal Nutrition and Pregnancy Outcomes. Anthropometric Assessment. Pan American Health Organization and World Health Organization. Washington, D.C. Scientific Publication. Chapter 1991;4: 59-68.
3. Siega-Riz A, Adair L, Hobel C. Maternal Underweight Status and Inadequate Rate of Weight Gain During the Third Trimester of Pregnancy Increases the Risk of Preterm Delivery. J Nutr 1996; 126: 146-153.
4. Lifshitz F, Finch N, Lifshitz J. Children's Nutrition. Boston: Jones and Bartlett Publishers, 1991; Chapter 1: 3-16.
5. Susser M. Maternal weight gain, infant birth weight, and diet: causal sequences. Am J Cl Nutr 1991; 53:1.384-396.
6. Rice R, Serrano C. Características del peso al nacer. Organización Panamericana de la Salud 1988; Capítulo II: 9-44.
7. Institute of Medicine. Subcommittee on Nutritional Status and Weight Gain During Pregnancy. Nutrition during pregnancy: Weight gain and nutrient supplements. National Academy Press. Washington, D.C. 1990; Part I: 27-233.
8. Frisancho AR. Anthropometric Standards for the Assessment of Growth and Nutritional Status. Ann Arbor The University of Michigan Press 1993:1-189
9. World Health Organization. Memoranda/Memorandums. Maternal anthropometry for prediction of pregnancy outcomes: Memorandum from USAID/WHO/PAHO/ Mother Care meeting. 1991; 69 (5): 523-32.
10. Atalah E, Castillo C, Castro R, Aldea A. Propuesta de un nuevo estándar de evaluación nutricional en embarazadas Rev Med Chil 1997;125:1429-36.
11. Contreras J, Essensfeld E. Valor de la evaluación nutricional de la embarazada y posibles implicaciones. Rev. Obst. Gin. Venezuela 1988; Vol. 48: 55-61.
12. Goulet O. Assessment of nutritional status in clinical practice. Bailliere' Clinical Gastroenterology 1998; 12(4):647-69.
13. Peláez M, Torre P, Usunza A. Elentos prácticos para el diagnóstico de la desnutrición. Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán". Centro de Capacitación Integral para Promotores Comunitarios. México. 1993; 1-70.
14. Greenber R, Daniels S, Flanders W, Eley J, Boring J. Epidemiología médica. Editorial El Manual Moderno, SA de CV. México, DF. Santafé de Bogota 1998; Capítulo 6:93-106.
15. Henríquez G, Hernández Y, Correa C. Evaluación Nutricional Antropométrica. En: Manual de Crecimiento y Desarrollo. López de Blanco M, Landaeta de Jimenez M (Eds). SVPP. Capítulo de Crecimiento y Desarrollo, Nutrición y Adolescencia. Laboratorio Serono. FUNDACREDESA. Caracas 1991; Capítulo III: 16-23.
16. Hernández de Valera Y. Manual para simplificar la evaluación antropométrica en adultos. Publicaciones Gangazine Caracas 1.995; Primera edición.

17. Remington RD, Schork MA. Estadística biométrica y sanitaria. 3ª edición Editorial Prentice/Hall Internacional. Bogotá. 1979.
18. Rosso P. Desnutrición materna y retardo del crecimiento fetal. Avances en la comprensión de sus mecanismos. Bol Esc Med 1.993;22(2):85-9.
19. Taller sobre Evaluación Nutricional Antropométrica en América Latina: Informe de la Reunión. Meeting on Anthropometry. López-Blanco M, Hernández-Valera Y, Torún B, Fajardo L. Caracas. Dic 1.995.
20. Falkner F. Monitoring Growth. In Gracery M, Falkner F editors. Nutritional Needs and Assessment of Normal Growth. Nestlé Nutrition Workshop Series Raven Press New York. 1.995; Vol 7:123-38.
21. Dibley MJ, Goldsby JB, Staehling NV, Trowbridge FL. Development of normalized curves for the international growth reference. Historical and technical considerations. Am J Clin Nutr 1987; 46:736-48.

Recibido: 28-03-2001

Aceptado: 17-08-2001

Cambios en las variables antropométricas durante la gestación en mujeres eutróficas

Ingrid Rached de Paoli, Arelis Azuaje Sanchez, Gladys Henriquez Pérez

Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo (CANIA). Caracas, Venezuela

RESUMEN. Para analizar el comportamiento de las medidas antropométricas a lo largo del embarazo en adolescentes y adultas, se evaluaron 81 embarazadas eutróficas, sanas, 14 adolescentes y 67 adultas, en el Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo. Los criterios de inclusión antropométricos fueron, mínimo cinco evaluaciones antropométricas: una en el primer trimestre del embarazo, dos en el segundo y dos en el tercero. En cada una de las embarazadas se obtuvo el promedio trimestral de las variables antropométricas medidas en las consultas correspondientes al primero, segundo y tercer trimestre. Se obtuvieron los descriptivos de las variables del estudio. Se aplicó "t" de Student. Hubo cambios significativos a lo largo del embarazo en peso, circunferencias de: muñeca, cintura, abdomen, cintura-cadera, cadera-glúteo, muslo y pierna e índice de masa corporal en adolescentes y adultas. Se encontró cambios significativos a lo largo del embarazo en la talla acostada en adolescentes y en la circunferencia media del brazo en adultas. Hubo diferencia significativa en el cambio del primero al tercer trimestre del embarazo en la circunferencia de la pierna entre adolescentes y adultas. Las variables antropométricas estudiadas presentan el mismo comportamiento a lo largo de la gestación en adolescentes y adultas, excepto la circunferencia media del brazo. **Palabras clave:** Antropometría, gestación, adolescencia, adulto.

SUMMARY. Changes of the anthropometric variables during gestation in well-nourished women. To analyze the behavior of the anthropometric measures during gestation in teenagers and adults pregnant women. The study group was formed by 81 well nourished, healthy pregnant women, 14 teenagers and 67 adults. They were evaluated at Centro de Atención Nutricional Infantil "Antímamo". The anthropometric criteria included at least five anthropometric evaluations: one in the first trimester of pregnancy, two in the second and two in the third. The anthropometric variable mean was obtained from each one of the pregnant women in each of their corresponding visits during the first, second and third trimester. The descriptive statistics of the studied anthropometric variables were calculated. Student' t test was applied. There were significant changes during pregnancy in weight, wrist, waist, abdomen, waist-hip, hip-gluteal, thigh and calf circumferences and body mass index in teenagers and adults. There were significant changes during gestation in a lyingdown position height in teenagers and mid-arm circumference in adults. There was significant difference in change from the first to the third trimester of gestation, between teenagers and adults in the calf circumference. The studied anthropometric variables presented the same behavior during gestation in adolescents and adults, unless the mid-upper arm circumference.

Key words: Anthropometric, pregnancy, adolescent, adult.

INTRODUCCION

El estado nutricional materno juega un papel importante sobre el producto de la concepción (1). Algunas variables antropométricas reflejan la situación nutricional de la embarazada y permiten predecir el riesgo de peso bajo al nacer, entre ellas se encuentran: el peso preconcepcional materno, el índice de masa corporal, la talla, la circunferencia media del brazo y de la pantorrilla.

Existen publicaciones tanto en los países desarrollados como en los en vías de desarrollo que han determinado la influencia significativa que el peso preconcepcional materno tiene sobre el peso del producto de la concepción (2-7). Por esta razón, el peso preconcepcional de la madre es utilizado para manejar el riesgo inicial de peso bajo al nacer, además de determinar las recomendaciones en relación a la ganancia

de peso materna durante el embarazo y a la intervención requerida desde el punto de vista nutricional (2,3).

Numerosos estudios evidencian la influencia significativa del índice de masa corporal preconcepcional sobre el peso del recién nacido (8-11). En líneas generales este índice es utilizado en la clasificación del estado nutricional, bien sea en déficit o en exceso (12). Por otra parte, es frecuentemente utilizado antes de la concepción en la categorización del estado nutricional pre-concepcional (4) y durante el embarazo, tanto para la clasificación del estado nutricional al inicio de la gestación, como para el monitoreo nutricional a lo largo de la misma (9).

La talla es una variable antropométrica que tiene la ventaja de requerir una sola medición en cualquier momento de la edad reproductiva, excepto en las adolescentes con edad ginecológica menor de 4 años. Las madres con tallas ≤ 143 cm tienen recién

nacidos significativamente más pequeños que las madres más altas (13).

La circunferencia media del brazo ha sido señalada como el indicador de elección en aquellos casos en que no se puede obtener el peso en el primer trimestre del embarazo, por tener una buena correlación con el peso de mujeres no embarazadas (14). Algunos investigadores lo recomiendan como un buen indicador del estado nutricional preconcepcional y actual cuya medición resulta estable durante el embarazo. También es utilizado para identificar la población expuesta al riesgo de retardo de crecimiento intrauterino (RCIU). De igual manera, se han propuesto otras mediciones como indicadores del estado nutricional materno como son la circunferencia del muslo y de la pierna (12). Ambos, son indicadores fáciles y económicos de medir. Las variaciones de la circunferencia del muslo y de la pierna durante la gestación se deben fundamentalmente a modificaciones de la grasa y del contenido de agua específico de la gestación (12). No existen puntos de corte ni valores de referencia para su clasificación.

A pesar de la importancia que tienen las variables antropométricas en el diagnóstico del estado nutricional de la gestante, la mayoría de los estudios se han orientado a investigar la relación de las mismas en la predicción del peso bajo al nacer y el retardo del crecimiento intrauterino. Para la categorización del estado nutricional de la gestante se dispone solamente de los valores puntuales del índice de masa corporal preconcepcional del Instituto de Medicina (4) y de las gráficas de Rosso (10) y Atalah E. (15). Es de hacer notar, que las gráficas de Rosso y Atalah tienen la desventaja de no poder ser utilizada en gestantes menores de 20 y 18 años respectivamente. Por otra parte, como se señaló antes, existen otras variables utilizadas en el diagnóstico nutricional de la gestante cuyos valores se han obtenido en muestras que pudieran no ser las más adecuadas para tal fin, con puntos de corte no validados dado en muchas oportunidades por valores puntuales. A esto se añade la premisa falsa de valores constantes a lo largo de la gestación en algunas de dichas variables, lo cual no ha quedado bien demostrado, por lo que se propone una investigación con el siguiente Objetivo: Analizar el comportamiento de las medidas antropométricas a lo largo del embarazo en adolescentes y adultas.

MATERIALES Y METODOS

El estudio fue de tipo longitudinal, el grupo de estudio estuvo constituido por 81 embarazadas eutróficas, sanas, 14 adolescentes (13 y 19 años) (17,3 %) y 67 adultas (20 y 40 años), evaluadas en el "Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo" (CANIA), en el lapso comprendido entre octubre de 1.998 y agosto del 2.000.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: edad gestacional \leq 13 semanas, certeza de la edad gestacional

calculada en base a fecha de última regla validada, embarazos simples y un mínimo de cinco evaluaciones antropométricas distribuidas así: una evaluación en el primer trimestre de la gestación, dos en el segundo y dos en el tercero. Las medidas antropométricas fueron realizadas por antropometristas previamente entrenadas y estandarizadas cada 4 meses, siguiendo las técnicas señaladas en el Manual de Antropometría de Fundacredesa (16), con control de calidad intra e interobservador dentro del rango considerado como adecuado para cada una de las variables estudiadas. El promedio de edad gestacional fue 11, 20 y 32 semanas para el primero, segundo y tercer trimestre respectivamente, con rangos que oscilaron entre 6 y 13 semanas para el primer trimestre, entre 14 y 26 semanas para el segundo y entre 27 y 40 semanas para el tercero. El número de mediciones realizadas en el primero, segundo y tercer trimestre de la gestación fueron 129, 272 y 258 respectivamente. El 85,3% de las medidas del primer trimestre fueron realizadas entre las semanas nueve y trece, el 14,7% restantes fueron medidas entre las seis y ocho semanas. En el tercer trimestre el 94,54% de las mismas se realizaron entre las semanas 26 y 37, sólo ocho mediciones se realizaron en la semana 38, tres mediciones en la 39 y 1 medición en la 40. El lapso de tiempo entre una medición y otra osciló entre 4 y 6 semanas.

Las variables e índices estudiados fueron: peso (P) (kg), incremento de peso (IP) (kg), talla acostada (TA) (cm), talla parada (TP) (cm), circunferencias: cefálica (CC) (cm), media del brazo (CMB) (cm), muñeca (CM) (cm), cintura (CCi) (cm), abdomen (CA) (cm), cintura-cadera (CCC) (cm), cadera-glúteo (CCG) (cm), muslo (CMu) (cm) y pierna (CP) (cm) e índice de masa corporal (IMC) (kg/m²).

La evaluación del estado nutricional de la gestante se hizo en base a indicadores clínicos y antropométricos. La clasificación antropométrica del estado nutricional en el primer trimestre se hizo aplicando un software diseñado para tal fin que utilizó la metodología sistematizada para la evaluación nutricional de la mujer en Venezuela (17). En ese lapso la interpretación de los indicadores tradicionales y de composición corporal se hizo utilizando los estándares antropométricos derivados por Frisancho AR. a partir de los datos del NHANES I y II (18), ya que los nacionales solo incluyen datos hasta los 19 años. Los puntos de corte considerados como "normales" en las variables antropométricas fueron mayor al percentil 15 y menor o igual al percentil 85. En los siguientes trimestres de la gestación para la categorización del estado nutricional sólo se consideró el IMC de acuerdo a las semanas de gestación, utilizando los valores de referencia validados de la gráfica de Atalah E. y col. (15). Esto debido a que no existen datos publicados sobre el comportamiento de otras variables, ni puntos de corte para su aplicación, en particular respecto a aquellos que reflejan composición corporal.

La categoría eutrónica resultó de las siguientes combinaciones:

Primer trimestre		Segundo y tercer trimestre	
Clínica	Antropometría *	Clínica	Antropometría **
Presencia o no de palidez cutáneo mucosa, xerosis y caries dentales	IMC $\geq P_{15} - < P_{85}$ Indicadores de composición corporal en $\geq P_{15} - < P_{85}$	Presencia o no de palidez cutáneo mucosa, xerosis y caries dentales	IMC (E. Atalah) Zona de normalidad

*Valores de referencia de Frisancho AR. **Valor de referencia de E. Atalah

Para el análisis estadístico se obtuvieron los descriptivos: promedio, mediana y desviación estándar de las variables antropométricas en los tres trimestres de la gestación, en las embarazadas adolescentes y las adultas y los cambios intertrimestrales y totales de las mismas. Se aplicó "t" de Student. ($p = 0,05$).

Las hipótesis formuladas para la prueba t de Student se dan a continuación:

Prueba estadística	Hipotesis formuladas	Regla de decisión
t de Student	Entre adolescentes y adultas H_0 : El promedio del trimestre de la variable antropométrica es igual entre adolescentes y adultas H_1 : El promedio del trimestre de la variable antropométrica es diferente entre adolescentes y adultas	Si p valor $< 0,05$ se rechaza H_0 , Si p valor $> 0,05$ no se puede rechazar H_0 ,
	H_0 : El comportamiento del cambio de la variable antropométrica entre dos trimestres consecutivos es igual entre adolescentes y adultas. H_1 : El comportamiento del cambio de la variable antropométrica entre dos trimestres consecutivos es diferente entre adolescentes y adultas.	
	Intra adolescentes Intra adultas H_0 : No hay cambio de la variable antropométrica de un trimestre al siguiente. H_1 : Hay cambio de la variable antropométrica e un trimestre al siguiente.	

El procesamiento de los datos se realizó con el programa SPSS (Versión 9,0).

RESULTADOS

Los promedios de las variables antropométricas para cada uno de los trimestres del embarazo tanto en adolescentes

como en adultas se señalan en las Tablas 1 y 2. El comportamiento de las variables P, TA, CMB, CMu, CP e IMC, en ambos grupos, se ilustra en el Gráfico 1.

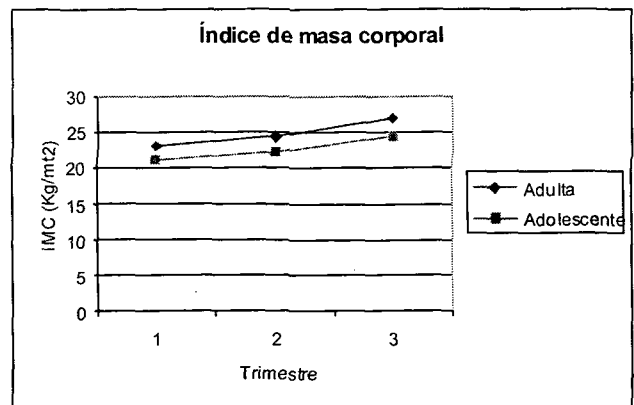
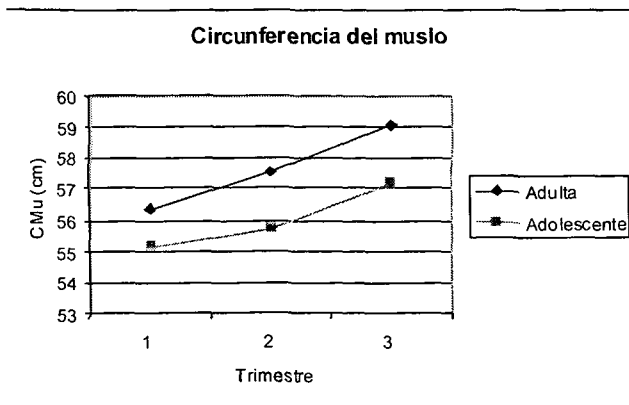
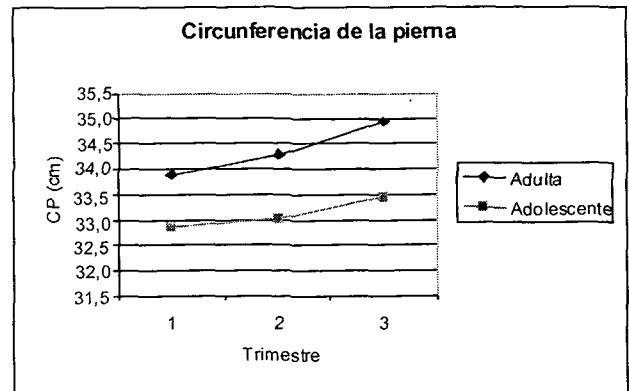
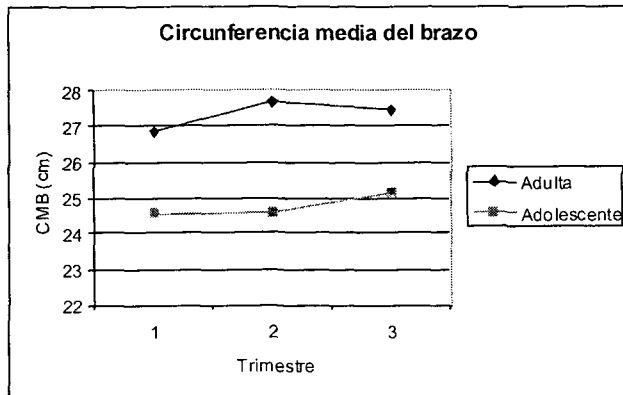
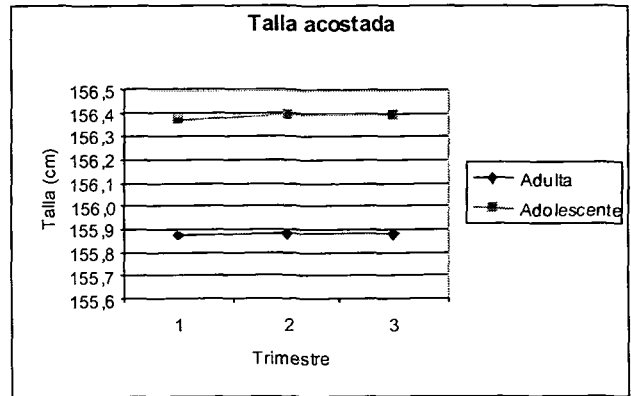
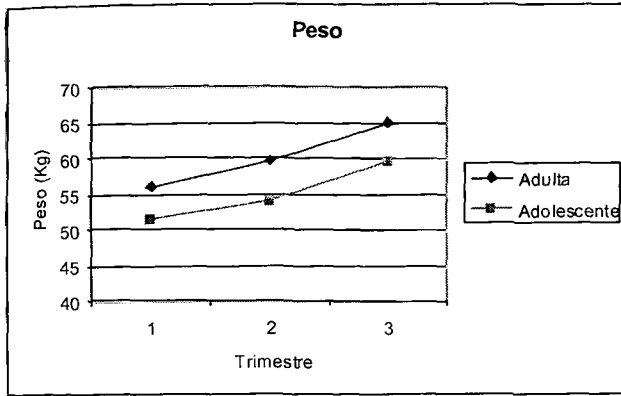
TABLE 1
Promedios y desviación estándar de las variables antropométricas en los tres trimestres del embarazo en las adolescentes

Variable	1 ^{er} Trimestre			2 ^{do} Trimestre			3 ^{er} Trimestre		
	Media	Mediana	Desviación estándar	Media	Mediana	Desviación estándar	Media	Mediana	Desviación estándar
Promedio edad gestacional (semana)	11,57	12,00	1,22	19,82	20,33	1,91	32,36	32,42	1,46
Peso (kg)	51,50	50,85	5,04	54,04	54,32	6,05	59,57	60,00	7,26
Talla acostada (cm)	156,37	155,25	5,31	156,39	155,25	5,31	156,41	155,25	5,30
Talla parada (cm)	156,28	154,80	5,33	156,29	154,80	5,34	156,48	154,80	5,19
Circunferencia cefálica (cm)	53,60	53,35	1,20	53,60	53,35	1,20	53,60	53,35	1,20
Circunferencia media del brazo (cm)	24,54	24,55	1,54	24,60	24,88	1,64	25,12	25,43	2,09
Circunferencia muñeca (cm)	14,40	14,35	0,64	14,42	14,38	0,63	14,55	14,45	0,56
Circunferencia cintura (cm)	71,36	71,45	3,99	77,32	77,40	4,56	87,84	87,85	5,96
Circunferencia abdomen (cm)	76,29	75,45	4,23	82,29	81,75	5,44	92,40	91,82	5,89
Circunferencia cintura-cadera (cm)	82,10	80,80	5,75	85,59	84,32	5,35	93,68	93,47	6,57
Circunferencia cadera-glúteo (cm)	91,31	90,05	3,92	92,88	92,80	4,05	96,05	97,05	4,84
Circunferencia muslo (cm)	55,16	55,35	3,17	55,71	56,02	3,36	57,20	57,82	4,19
Circunferencia pierna (cm)	32,87	32,35	2,23	33,03	32,50	2,30	33,45	33,10	2,39
Índice de masa corporal (kg/mt ²)	21,05	20,85	1,45	22,09	22,00	1,62	24,44	24,40	2,19

TABLE 2
Promedios y desviación estándar de las variables antropométricas en en los tres trimestres del embarazo en las adultas

Variable	1 ^{er} Trimestre			2 ^{do} Trimestre			3 ^{er} Trimestre		
	Media	Mediana	Desviación estándar	Media	Mediana	Desviación estándar	Media	Mediana	Desviación estándar
Promedio edad gestacional (semana)	10,59	11,00	1,46	19,77	19,67	1,20	32,33	32,50	1,62
Peso (kg)	56,06	55,40	6,36	59,61	59,20	6,61	64,92	64,75	6,67
Talla acostada (cm)	155,87	155,90	5,49	155,88	155,90	5,50	155,88	155,90	5,50
Talla parada (cm)	155,69	155,40	5,43	155,69	155,40	5,43	155,69	155,40	5,43
Circunferencia cefálica (cm)	53,75	53,80	1,24	53,75	53,80	1,24	53,75	53,80	1,24
Circunferencia media del brazo (cm)	26,80	26,80	1,83	27,04	26,95	1,77	27,42	27,15	1,67
Circunferencia muñeca (cm)	14,38	14,40	0,72	14,51	14,50	0,76	14,71	14,77	0,83
Circunferencia cintura (cm)	76,52	76,30	5,92	83,25	82,30	5,91	93,91	94,13	5,54
Circunferencia abdomen (cm)	82,07	81,30	5,89	88,50	87,15	5,96	99,04	98,80	5,77
Circunferencia cintura-cadera (cm)	86,91	86,50	6,01	91,84	90,75	5,90	99,62	99,05	6,23
Circunferencia cadera-glúteo (cm)	94,87	94,50	5,56	97,13	97,35	5,40	100,27	100,55	5,88
Circunferencia muslo (cm)	56,35	56,50	4,09	57,53	56,95	3,80	59,08	58,80	3,91
Circunferencia pierna (cm)	33,89	33,80	2,62	34,30	34,00	2,55	34,93	34,60	2,50
Índice de masa corporal (kg/mt ²)	23,06	22,80	2,39	24,44	24,15	2,25	26,84	26,55	2,36

GRAFICO 1
Promedio de las variables antropométricas en los tres trimestres del embarazo



Los incrementos intertrimestrales en todas las variables analizadas en el grupo de adolescentes y adultas fueron superiores entre el segundo y tercer trimestre de la gestación.

Los cambios intertrimestrales y totales de las variables antropométricas en adolescentes y adultas se señalan en las Tablas 3 y 4.

TABLA 3
Media, mediana y desviación estándar de los cambios de las variables durante el embarazo en las adolescentes

Variable	Primero – Segundo			Segundo - Tercero			Primero - Tercero		
	Media	Mediana	Desviación estándar	Media	Mediana	Desviación estándar	Media	Mediana	Desviación estándar
Peso (kg)	2,54*	3,08	1,99	5,53*	5,18	2,14	8,07*	8,04	3,37
Talla acostada (cm)	0,02	0,00	0,03	0,02	0,00	0,04	0,04*	0,00	0,06
Talla parada (cm)	0,01	0,00	0,02	0,19	0,00	0,62	0,20	0,00	0,62
Circunferencia cefálica (cm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Circunferencia media del brazo (cm)	0,06	0,04	0,44	0,52	0,64	0,96	0,58	0,75	1,19
Circunferencia muñeca (cm)	0,02	0,02	0,07	0,13*	0,10	0,19	0,15*	0,13	0,19
Circunferencia cintura (cm)	5,95*	6,22	2,99	10,53*	9,88	2,55	16,48*	15,65	3,89
Circunferencia abdomen (cm)	5,99*	6,47	3,16	10,11*	8,84	2,95	16,11*	15,50	4,08
Circunferencia cintura-cadera (cm)	3,49*	3,73	2,59	8,09*	7,48	3,83	11,58*	10,80	5,46
Circunferencia cadera-glúteo (cm)	1,57*	1,80	2,26	3,18*	3,00	2,31	4,75*	4,30	3,90
Circunferencia muslo (cm)	0,55*	0,33	0,62	1,49*	1,36	1,52	2,04*	1,75	1,79
Circunferencia pierna (cm)	0,17	0,10	0,44	0,41*	0,45	0,36	0,58*	0,58	0,62
Índice de masa corporal (kg/mt ²)	1,04*	1,27	0,82	2,35*	2,13	0,97	3,39*	3,13	1,46

*Diferencia significativa.

TABLA 4
Media, mediana y desviación estándar de los cambios de las variables durante el embarazo en las adultas

Variable	Primero – Segundo			Segundo - Tercero			Primero - Tercero		
	Media	Mediana	Desviación estándar	Media	Mediana	Desviación estándar	Media	Mediana	Desviación estándar
Peso (kg)	3,55*	3,33	2,59	5,31*	5,07	2,57	8,86*	8,70	2,57
Talla acostada (cm)	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00	0,03
Talla parada (cm)	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,02	0,01	0,00	0,02
Circunferencia cefálica (cm)	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01
Circunferencia media del brazo (cm)	0,24*	0,27	0,60	0,38*	0,30	0,61	0,63*	0,50	0,90
Circunferencia muñeca (cm)	0,13*	0,05	0,22	0,21*	0,17	0,27	0,33*	0,20	0,38
Circunferencia cintura (cm)	6,74*	6,27	3,20	10,65*	10,35	3,28	17,39*	17,30	4,24
Circunferencia abdomen (cm)	6,44*	6,60	3,05	10,53*	10,63	2,85	16,97*	16,68	4,33
Circunferencia cintura-cadera (cm)	4,93*	4,87	2,61	7,78*	7,85	2,83	12,71*	12,27	4,31
Circunferencia cadera-glúteo (cm)	2,25*	1,93	1,69	3,15*	3,00	1,85	5,40*	5,30	2,89
Circunferencia muslo (cm)	1,18*	0,95	1,68	1,55*	1,25	1,37	2,73*	2,70	2,10
Circunferencia pierna (cm)	0,41*	0,30	0,51	0,63*	0,55	0,46	1,04*	1,05	0,68
Índice de masa corporal (kg/mt ²)	1,39*	1,33	0,81	2,39*	2,18	0,79	3,78*	3,55	1,16

*Diferencia significativa.

Sólo hubo diferencia significativa en el cambio del primero al tercer trimestre del embarazo en la circunferencia de la pierna ($P = 0,021$) entre el grupo de adolescentes y adultas.

El valor promedio de las variables antropométricas en las adolescentes es inferior en relación a las adultas, sin embargo, el comportamiento de los cambios intertrimestrales de las variables antropométricas es similar en el grupo de adolescentes y adultas.

DISCUSION

El incremento de peso intertrimestral en ambos grupos, estuvo por debajo del límite inferior de la ganancia de peso para una gestante eutrófica (4), pero por encima del observado en los países subdesarrollados en mujeres del mismo estado nutricional (2), este resultado probablemente estuvo afectado porque en la mayoría de los casos el período de observación

se inició al final del primer trimestre y culminó 2 ó 3 semanas antes del parto.

El incremento significativo de la talla acostada del primero al tercer trimestre en el grupo de adolescentes puede interpretarse como reflejo de un proceso de crecimiento ya que algunas de ellas (n = 5) tenían una edad ginecológica menor de 4 años. Sin embargo, no se encontró significancia en el cambio total de la talla parada lo que pudiera explicarse porque la talla acostada a diferencia de esta última no se ve afectada por la lordosis fisiológica del embarazo (12).

Es importante destacar el incremento significativo intertrimestral y total de la circunferencia media del brazo en las adultas, lo cual difiere de lo reportado por otros autores, quienes la han señalado como un buen indicador del estado nutricional durante la gestación, por ser relativamente estable durante la misma (2,12,19,20). Estos resultados hacen reflexionar sobre lo inadecuado de la práctica usual hasta el momento, de utilizar valores puntuales fijos para la interpretación de este indicador y la necesidad de validarlo durante la gestación. Es de hacer notar que el cambio no significativo de la circunferencia media del brazo en el grupo de adolescentes pudiera estar condicionado por el tamaño de la muestra, por lo que se debe ampliar la misma antes de llegar a conclusiones.

Los cambios significativos intertrimestrales y totales de la circunferencia de la muñeca en ambos grupos de gestantes no pudieron ser cotejados con otros estudios por no disponer de ellos. De allí la importancia de realizar investigaciones que permitan establecer tanto los cambios intertrimestrales como la distribución percentilar de las variables antropométricas en mujeres gestantes eutróficas.

Los cambios significativos de las circunferencias: cintura, abdomen, cintura-cadera y cadera-glúteo son obviamente producto del aumento del tamaño del útero. El cambio significativo en la circunferencia cadera-glúteo, también se explica por el acúmulo de grasa en esta zona. Estos resultados fueron bastante menores que los reportados por Kirchengast y col. (1), cuyo grupo de mujeres también eran eutróficas. Las variaciones de la circunferencia del muslo y la pierna entre el primero y tercer trimestre en ambos grupos, se deben fundamentalmente a modificaciones de la grasa y del contenido de agua específico de la gestación, respectivamente (12).

La significancia de la diferencia del mismo cambio en la circunferencia de la pierna entre el grupo de adolescentes y adultas pudiera deberse a que los cambios del contenido de agua en este segmento corporal son mayores en las adultas por la presencia de insuficiencia venosa en este último grupo de mujeres.

Las variaciones intertrimestrales significativas del índice de masa corporal en ambos grupos de embarazadas, coinciden con lo señalado por otros autores (10,12,21,22).

Estos resultados permiten concluir que las variables antropométricas estudiadas excepto la circunferencia media del brazo, presentan el mismo comportamiento a lo largo de la gestación en adolescentes y adultas. El incremento de la talla en el grupo de las adolescentes con edad ginecológica menor de 4 años debe interpretarse como indicativo de crecimiento. El comportamiento de la variable circunferencia media del brazo evidencia la necesidad de realizar estudios que validen los cambios antropométricos en mujeres embarazadas.

AGRADECIMIENTO

Al personal integrante de la consulta "Atención nutricional de la mujer embarazada", sin cuya valiosa colaboración no hubiera sido posible la realización de esta investigación, así como a las gestantes que formaron parte de la muestra analizada.

REFERENCIAS

1. Kirchengast S, and Hartmann B. Maternal prepregnancy weight status and pregnancy weight gain as major determinants for newborn weight and size. *Annals of Human Biology* 1998; 25(1):17-28.
2. Krasovec K. Background Issues. In: Krasovec K, and Anderson M, editors. *Maternal Nutrition and Pregnancy Outcomes. Anthropometric Assessment.* Pan American Health Organization and World Health Organization. Washington, D.C, 1991; Scientific Publication. Chapter 4: 59-68.
3. Garn S. Prepregnancy Weight. In: Krasovec K, and Anderson M, editors. *Maternal Nutrition and Pregnancy Outcomes. Anthropometric Assessment.* Pan American Health Organization. Washington, D.C 1991; Chapter 5: 69-85.
4. Institute of Medicine. Subcommittee on Nutritional Status and Weight Gain During Pregnancy. *Nutrition during pregnancy: Weight gain and nutrient supplements.* National Academy Press. Washington, D.C. 1990; Part I: 27-233.
5. Rice R, Serrano C. Características del peso al nacer. *Organización Panamericana de la Salud* 1988; Capítulo IV: 51-67
6. Kirksey A, Rahmanifar A, Wachs T, McCabe G, Bassily N, Bishry Z, "et al". Determinants of pregnancy outcome and newborn behavior of a semirural Egyptian population. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 657-67.
7. Abrams B, Laros R. Prepregnancy weight, weight gain, and birth weight. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154: 503-9.
8. Walberg S. Prenatal Growth in Pregnancy. In: Walberg S, editor. *Pediatric Nutrition in Chronic Diseases and Developmental Disorders. Prevention, Assessment, and Treatment.* New York: Oxford University Press, 1993; Chapter 1: 5-17.
9. World Health Organization. Memoranda/Mémorandums. *Maternal anthropometry for prediction of pregnancy outcomes: Memorandum from a USAID/WHO/PAHO/*

- Mother Care meeting*. 1991; 69 (5): 523-32.
10. Rosso P. Weight-for-Height and Body Mass Index in Nonpregnant Women. In: Krasovec K, and Anderson M, editors. *Maternal Nutrition and Pregnancy Outcomes. Anthropometric Assessment*. Pan American Health Organization. Washington, D.C 1991; Chapter 15: 173-185.
 11. Krasovec K, Anderson M. Background Issues. In: Krasovec K, and Anderson M, editors. *Maternal Nutrition and Pregnancy Outcomes. Anthropometric Assessment*. Pan American Health Organization and World Health Organization. Washington, D.C. 1991; Scientific Publication N° 529. Chapter 14: 161-72.
 12. WHO. Report of the Expert Committee. *Physical Status: the use and interpretation of anthropometry*. Geneva. 1995; 3: 37-120.
 13. Neel N, Alvarez J. *Maternal Risk Factors for Low Birth Weight and Intrauterine Growth Retardation in a Guatemalan Population*. *Bulletin of PAHO* 1991; 25 (2): 152-165.
 14. Shah K. Evaluación del uso de la circunferencia braquial en la evaluación del estado nutricional materno. En: Krasovec K, Anderson M editoras. *Nutrición materna y productos del embarazo*. Publicación científica N°. 529. Organización Panamericana de la Salud
 15. Atalah E, Castillo C, Castro R, Aldea A. Propuesta de un nuevo estándar de evaluación nutricional en embarazadas *Rev Med Chil* 1997;125:1429-36.
 16. Henríquez G, Hernández Y, Correa C. Evaluación Nutricional Antropométrica. En: *Manual de Crecimiento y Desarrollo*. Lopéz de Blanco M, Landaeta de Jimenez M (Eds). SVPP. Capítulo de Crecimiento y Desarrollo, Nutrición y Adolescencia. Laboratorio Serono. Fundacredesa. Caracas 1991; Capítulo III: 16-23.
 17. Hernández de Valera Y. *Manual para simplificar la evaluación antropométrica en adultos*. Publicaciones Gangazine Caracas 1.995; Primera edición.
 18. Frisancho AR. *Anthropometric Standards for the Assessment of Growth and Nutritional Status*. Ann Arbor The University of Michigan Press 1993:1-189.
 19. Husaini Y, Husaini M, Sulaiman Z, Jahari A, Barizi, Hudono S, and Karyadi D. *Maternal malnutrition, outcome of pregnancy, an a simple tool to identify women at risk*. *food and Nutrition Bulletin* 1984; 8(1):71-6.
 20. Ricalde A, Velásquez-Meléndez G, Tanaka A, Siqueira A. *Mid-upper arm circumference in pregnant women and its relation to birth weight*. *Rev. Saúde Pública* 1.998; 32(2):112-17.ública 1.998; 32(2):112-17.
 21. Scholl T, Hediger M, Schall J, Khoo C, and Fischer R. *Maternal Growth during pregnancy and the competition for nutrients*. *Am J Clin Nutr* 1994; 60:183-8.
 22. Siega-Riz A, Adair L, Hobel C. *Maternal Underweight Status and Inadequate Rate of Weight Gain During the Third Trimester of Pregnancy Increases the Risk of Preterm Delivery*. *J. Nutr* 1996; 126:146-153.

Recibido:28-03-2001

Aceptado: 17-08-2001

Obesidade mórbida em mulheres - Estilos alimentares e qualidade de vida

Graziela Aparecida Nogueira de Almeida, Sonia Regina Loureiro, José Ernesto dos Santos

Universidade de São Paulo

RESUMO. A obesidade mórbida tem sido amplamente estudada em função de sua incidência e por suas conseqüências à saúde. Estudos têm destacado como variáveis relevantes os estilos alimentares e a qualidade de vida. Objetiva-se investigar os estilos alimentares e a qualidade de vida de mulheres com obesidade mórbida, pacientes do Ambulatório de Distúrbios de Conduta Alimentar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Foram sujeitos 60 mulheres, sendo 30 obesas (Índice de Massa Corporal - $IMC \geq 40$ kg/m²) e 30 não-obesas (IMC entre 20 e 25 kg/m²). Procedeu-se à aplicação de uma entrevista semi-estruturada, do Questionário Holandês de Comportamento Alimentar e do Exame de Saúde após tradução para a língua portuguesa e adaptação dos mesmos. Os dados foram cotados e quantificados, procedendo-se à comparação dos grupos através do Teste de Mann-Whitney. Os grupos diferiram significativamente quanto às subescalas alimentação restrita ($p \leq 0.001$) com valores inferiores para o grupo de obesas, e alimentação emocional ($p \leq 0.01$) com valores superiores para o grupo de obesas, não tendo se diferenciado quanto à alimentação externa. Também diferiram quanto às limitações físicas e sociais ($p \leq 0.001$), à presença de indicadores emocionais ($p \leq 0.001$) e ao estado geral de saúde ($p \leq 0.001$), em todas as categorias com valores superiores para o grupo de obesas, caracterizando maior dificuldade. Conclui-se que: a) os três estilos alimentares parecem contribuir para explicar a dificuldade quanto ao controle alimentar, sem contudo terem um caráter exclusivo na caracterização da obesidade; b) as mulheres morbidamente obesas apresentaram maior comprometimento na qualidade de vida, bem como percepção adequada quanto aos prejuízos relativos às condições de saúde, podendo ser este um indicador favorável à abordagem terapêutica. **Palavras-chaves:** Obesidade, alimentação, qualidade de vida.

SUMMARY. Morbid obesity in women - Eating style and quality of life. Morbid obesity has been widely studied due to its high incidence and its bad consequences to health. Studies about obesity have been emphasized some important aspects such as eating styles and quality of life. This study aim to investigate the eating styles and the quality of life of women with morbid obesity, patients in treatment at the Ambulatory of Eating Disorders, University Hospital of the Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo. Sixty women were assessed, 30 obese (Body Mass Index - $BMI \geq 40$ kg/m²) and 30 nonobese (BMI 20 to 25 kg/m²). A semi-structured interview, the Dutch Eating Behaviour Questionnaire and the Short-form Health Survey: Medical Outcomes Study were used for the assessment, after translate to portuguese and adapted. The data were rated and quantified and the groups were statistically analyzed through the Tests of Mann-Whitney. The groups differed significantly as for restrained ($p \leq 0.001$) and emotional eating ($p \leq 0.01$), and did not differ as for external eating. The groups also differed in quality of life, concerning physical and social limitations ($p \leq 0.001$), the presence of emotional indicators ($p \leq 0.001$) and general health condition ($p \leq 0.001$). Findings suggest that eating styles contribute to explain the difficult of eating control - but are not only factor in the obesity characterization. Moreover, morbidly obese women presented a quality of life more compromised and have an adequate perception of their physical, social and emotional limitations. That might favor a therapeutic approach to them.

Key words: Morbid obesity, eating styles, quality of life.

INTRODUÇÃO

A obesidade mórbida, mais recentemente, tem sido objeto de muitos estudos em função de sua incidência na sociedade e também por suas sérias conseqüências à saúde (1). Os efeitos da obesidade na saúde física têm sido amplamente documentados, contudo os correlatos psicológicos do excesso de peso necessitam ainda de mais estudos (2,3).

Neste contexto, tem aumentado o reconhecimento de que a obesidade é heterogênea no que diz respeito à etiologia,

aos efeitos do excesso de peso em variáveis clínicas, e às respostas a diferentes modalidades de tratamentos (2). Considerando a complexidade de fatores envolvidos na obesidade, faz-se necessário identificar aspectos diagnósticos que favoreçam o reconhecimento do estilo e da qualidade de vida destas pessoas.

A investigação acerca dos estilos alimentares tem conquistado um espaço importante em pesquisas com obesos. Wardle (4) aponta para a relevância dos três estilos alimentares - alimentação restrita, emocional e externa - no

desenvolvimento da obesidade. Ao se conhecer mais sobre a forma como os estilos alimentares podem influenciar o peso corporal, pode-se facilitar as modificações no grau de obesidade (5).

Com relação à qualidade de vida, estudos têm mostrado que não apenas a obesidade, mas também o comportamento de emagrecimento por meio de restrição alimentar, podem estar associados a prejuízos (6,7). Estudos sobre qualidade de vida indicam que ela é freqüentemente comprometida em pessoas obesas, devido a prejuízos no funcionamento físico e psicossocial (1,8-13). Além do risco aumentado de morbidade e mortalidade associados ao excesso de gordura corporal, o excesso de peso também pode afetar condições diversas relacionada à saúde (10,14).

Em estudo realizado no Brasil com pacientes morbidamente obesos, Garrido Júnior (15) observou que a maioria destes pacientes sofriam de mais de uma doença associada à obesidade. Pacientes com obesidade mórbida, mais do que outros obesos, parecem sofrer de sérias conseqüências, estas relacionadas à comorbidade com doenças como hipertensão arterial, diabetes melito, entre outras, dificuldades para trabalhar e se divertir, além do impacto psicossocial relacionado ao estigma da obesidade, bem como à discriminação e desprezo social (7,13).

Neste contexto, o presente estudo objetiva investigar os estilos alimentares e os aspectos relativos à qualidade de vida de mulheres com obesidade mórbida, comparativamente a um grupo de mulheres não obesas*.

METODOLOGIA

Sujeitos

Foram estudados 60 sujeitos do sexo feminino, com idade variando de 30 a 60 anos, os quais foram divididos em dois grupos, de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC). O primeiro - Grupo Experimental (GE) - foi formado por pacientes que estavam em tratamento baseado em reeducação de hábitos alimentares e dieta, no Ambulatório de Distúrbios de Conduta Alimentar (ADCA) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), tendo diagnóstico médico de Obesidade Mórbida, ou seja, um IMC igual ou superior a 40 kg/m². O segundo - Grupo Controle (GC) - foi formado por mulheres com IMC variando de 20 a 25 kg/m², condição esta excludente para o diagnóstico de obesidade. Foram contatadas no Centro Médico, Social e Comunitário de Vila Lobato, em Ribeirão Preto, São Paulo, por ocasião de sua presença no serviço, buscando atendimento para si junto à Ginecologia, ou para seus filhos junto à Pediatria, ou ainda quando da participação em cursos profissionalizantes oferecidos à comunidade, quando então era solicitada a sua colaboração na pesquisa.

Quanto à caracterização dos sujeitos, observa-se que 50,0% das mulheres morbidamente obesas e 53,3% das mulheres não obesas apresentaram idade variando de 40 a 49 anos. A média de idade dos sujeitos obesos foi de 46,1 ± 5,95 anos (Md = 45,5), e a dos não obesos foi de 42,6 ± 8,11 anos (Md = 45,5). Quanto à escolaridade, 76,7% das obesas e 60,0% das mulheres com peso normal cursaram apenas o primeiro grau. No que diz respeito ao IMC, todas as obesas apresentaram índices maiores ou iguais a 40 kg/m², enquanto que todas as não obesas apresentaram índices que variaram de 20 a 25 kg/m². O perfil descrito mostra que os sujeitos dos dois grupos são comparáveis em termos de idade e escolaridade e significativamente diferentes em termos de índice de massa corporal.

Instrumentos

Foram utilizados os seguintes instrumentos para a coleta dos dados:

a) uma entrevista semi - estruturada, desenvolvida de acordo com os objetivos da pesquisa, como fonte de dados complementares.

b) Questionário Holandês de Comportamento Alimentar (QHCA) - Dutch Eating Behaviour Questionnaire (4), para avaliar os estilos alimentares, composto de três subescalas abrangendo as seguintes áreas:

- alimentação restrita: estilo alimentar relativo ao conhecimento de hábitos nutricionais adequados;
- alimentação emocional: estilo alimentar relativo ao estado emocional do indivíduo;
- alimentação externa: estilo alimentar relativo aos atrativos de aroma e sabor dos alimentos, bem como com a alimentação associada às situações sociais.

c) Exame de Saúde (ES) - Short-form Health Survey: Medical Outcomes Study (16), como indicador de qualidade de vida.

Procedimento

Os questionários utilizados no estudo - QHCA e ES - primeiramente, foram submetidos a traduções independentes para a língua portuguesa realizadas pela primeira pesquisadora e por dois psicólogos que dominam a língua inglesa e que também usam escalas de avaliações psicológicas em suas rotinas de trabalho. As traduções foram comparadas e os pontos divergentes foram analisados, procedendo-se à avaliação destes, mantendo-se a forma consensual para dois avaliadores. Os instrumentos foram

* Pesquisa aprovada pela comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

comparados aos originais de forma a manter-se a adequação do conteúdo. Em seguida, foi realizada uma testagem preliminar de tais escalas em um estudo piloto, com 10 sujeitos adultos, do sexo feminino, com diagnóstico médico de obesidade mórbida, atendidas no Ambulatório de Distúrbios de Conduta Alimentar do HCFMRP-USP. Tais aplicações foram individuais e, após as mesmas, a pesquisadora conversou com os sujeitos, solicitando sugestões quanto às formulações e esclarecimentos de pontos que não estivessem claros na apresentação das mesmas. Com base nestas etapas citadas, procedeu-se às reformulações necessárias e novamente os instrumentos traduzidos foram comparados aos originais de forma a garantir a preservação do conteúdo.

Os 30 sujeitos do GE foram contatados por carta ou durante o retorno médico. Os instrumentos foram aplicados individualmente pela primeira autora, em duas sessões de avaliação, em um consultório do ADCA do Hospital das Clínicas em condições ambientais adequadas.

Os 30 sujeitos do GC foram contatados no Centro Médico, Social e Comunitário de Vila Lobato. Os instrumentos foram aplicados individualmente pela primeira autora, em sessão única, em um consultório no próprio Centro Médico.

Tratamento dos dados

Para a cotação dos protocolos referentes aos dois instrumentos, estabeleceram-se critérios de avaliação.

Quanto ao QHCA, a pontuação máxima possível nesta escala é de 33 pontos. Considera-se que, quanto maior a pontuação, menor a capacidade de controle alimentar; e, quanto menor a pontuação, maior a capacidade de controle.

No que diz respeito ao ES, a pontuação máxima possível neste instrumento é de 84 pontos. Considera-se que, quanto maior a pontuação, maior o comprometimento da saúde; e, quanto menor a pontuação, menor o comprometimento da saúde.

Visando uma compreensão dos dados de avaliação do ES, procedeu-se a uma divisão do mesmo em três categorias, considerando-se a percepção que os pacientes apresentam com relação aos próprios limites ou dificuldades com a saúde. Para tal, considerou-se as seguintes categorias: 1) limitação ou incapacidade quanto à realização de atividades físicas e sociais; 2) referência a questões emocionais; 3) estado geral de saúde.

Com o objetivo de comparar os grupos foram calculados os valores relativos à média, desvio-padrão e mediana dos escores totais e parciais apresentados pelos sujeitos do GE e do GC nos dois instrumentos, bem como foram calculadas as proporções de respostas dos sujeitos nas subescalas e categorias. Em seguida foram feitos tratamentos estatísticos dos dados, utilizando-se para tal o teste não paramétrico de Mann-Whitney, considerando-se porcentagens significativas

com valores de $p \leq 0.01$.

Visando a compreensão dos perfis dos sujeitos através dos dois instrumentos, foram feitas testagens de correlações, por meio do coeficiente de correlação de Spearman.

RESULTADOS

Inicialmente serão apresentados os dados relativos ao QHCA. Os valores relativos à média, desvio-padrão e mediana dos escores apresentados pelos sujeitos dos dois grupos são mostrados na Tabela 1.

TABELA 1

Valores relativos à média, desvio-padrão e mediana dos escores totais e parciais apresentados pelos sujeitos do GE - obesas, e GC - não obesas, no Questionário Holandês de Comportamento Alimentar (QHCA)

Instrumento/Subescalas	GE - obesas			GC - não obesas		
	M	DP	Md	M	DP	Md
QHCA/Escore Total	12.33	6.0	13	12.67	4.4	12
Alimentação Restrita	2.07	1.3	2	5.83	2.2	7**
Alimentação emocional	5.40	4.2	5	2.73	3.4	2*
Alimentação Externa	4.87	2.6	4	4.10	2.3	4.5

* $p \leq 0.01$ (Teste de Mann-Whitney)

** $p < 0.001$ (Teste de Mann-Whitney)

Quanto aos escores totais do QHCA, o grupo das mulheres morbidamente obesas não apresenta diferenças estatisticamente significativas, quando comparado ao grupo das não-obesas. Contudo, quanto aos escores nas subescalas do questionário analisados isoladamente, verifica-se diferenças significativas. As mulheres com peso normal apresentam escores significativamente mais elevados na subescala alimentação restrita quando comparadas às obesas. Visto que tal subescala avalia o estilo alimentar relacionado ao conhecimento de hábitos nutricionais adequados, os dados sugerem que as não-obesas não detêm estas informações ou não se preocupam de forma mais intensa com as mesmas. Na subescala alimentação emocional, que avalia o estilo alimentar relacionado ao estado emocional do indivíduo, as mulheres obesas apresentam escores mais elevados, sugerindo a presença de dificuldades quanto ao controle alimentar diante de sentimentos ou estados afetivos diversos. Quanto à subescala relativa à alimentação externa, não é observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, o que sugere que ambos lidam de forma semelhante com os atrativos de aroma e sabor dos alimentos, bem como com a alimentação associada às situações sociais.

Os dados relativos ao ES são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2

Valores relativos à média, desvio-padrão e mediana dos escores totais e parciais apresentados pelos sujeitos do GE - obesas, e GC - não obesas, no Exame de Saúde (ES)

Instrumento/Categorias	GE - obesas			GC - não obesas		
	M	DP	Md	M	DP	Md
ES/Escore Total	59.07	11.6	61	32.30	10.82	8.5**
Limitações físicas e sociais	18.47	5.4	17	10.43	2.4	9**
Aspectos emocionais	16.00	5.3	17	10.37	4.3	9.5**
Estado geral de saúde	24.60	5.9	27	11.50	5.7	10**

** $p < 0.001$ (Teste de Mann-Whitney)

Verifica-se que os sujeitos obesos e não-obesos se diferenciam significativamente em todas as comparações entre os escores totais e parciais relativos ao ES. Os resultados sugerem que as mulheres obesas apresentam maiores limitações quanto à realização de atividades físicas e sociais, maior prejuízo emocional, bem como percepção do estado geral de saúde mais prejudicado.

Os resultados relativos à proporção de respostas dos sujeitos em cada subescala do QHCA e em cada categoria do ES são mostrados na Tabela 3.

TABELA 3

Comparações entre as proporções de respostas de cada subescala do Questionário Holandês de Comportamento Alimentar (QHCA) e de cada categoria do Exame de Saúde, relativas ao GE - obesas e ao GC - não obesas, através do Teste de Mann-Whitney

Comparações		GE - obesas	GC - não obesas
QHCA	- AR X Aem	0.006*	0.001**
	- AR X Aex	0.001**	0.005*
	- AEm X Aex	0.76	0.01*
ES	- LFS X QE	0.15	0.72
	- LFS X EGS	0.001**	0.50
	- EGS X QE	0.001**	0.71

AR - alimentação restrita * $p \leq 0.01$
 AEm - Alimentação emocional ** $p < 0.001$
 AEx - Alimentação externa
 LFS - Limitações físicas e sociais
 QE - Questões emocionais
 EGS - Estado geral de saúde

No grupo das mulheres obesas, o estilo alimentar predominante é o relativo à alimentação externa, com diferença estatisticamente significativa com relação à alimentação restrita ($p \leq 0.001$). Quanto ao grupo das mulheres não-obesas, nota-se que o estilo alimentar predominante é o

relativo à alimentação restrita, com diferença estatisticamente significativa com relação à alimentação emocional ($p \leq 0.001$) e à alimentação externa ($p \leq 0.005$).

Ao se tratar do ES, verifica-se que o maior prejuízo encontrado no grupo das mulheres obesas parece se concentrar nas questões relativas ao estado geral de saúde, com diferença estatisticamente significativa com relação aos aspectos emocionais ($p \leq 0.001$) e às limitações físicas e sociais ($p \leq 0.001$). Com relação ao grupo das mulheres não obesas, nota-se que o maior prejuízo parece se concentrar nas questões relativas ao aspecto emocional, porém não se observam diferenças estatisticamente significativas nas comparações.

Por meio do coeficiente de correlação de Spearman não se observam correlações entre os perfis dos sujeitos obesos e não-obesos nos dois instrumentos, o que sugere que a avaliação realizada através dos mesmos aponta para resultados independentes.

DISCUSSÃO

Ao se analisar isoladamente cada subescala do QHCA, verifica-se que os escores referentes à subescala alimentação restrita foram maiores entre as mulheres com peso normal, enquanto que os referentes à alimentação emocional foram maiores entre as obesas. Quanto à alimentação externa não se observam diferenças entre os escores das obesas e não-obesas. Comparativamente ao estudo original com tal instrumento, desenvolvido por Wardle (4), observou-se diferença quanto à subescala alimentação restrita e semelhanças quanto aos escores referentes às subescalas alimentação emocional e externa. Os resultados obtidos aqui também foram diferentes com relação a outro estudo utilizando o mesmo instrumento, onde se verificou que o comportamento alimentar entre grupos de obesos e não obesos era semelhante nas três subescalas (17).

No estudo em questão, os dados sugerem que as pacientes obesas parecem deter mais conhecimentos acerca de hábitos nutricionais adequados do que as mulheres com peso normal. Considerando que as obesas eram pacientes em tratamento, o qual visava a reeducação de hábitos alimentares, possivelmente tal situação influenciou os resultados obtidos. É interessante notar que o estilo alimentar predominante no grupo de mulheres com peso normal foi o relativo à alimentação restrita, sugerindo novamente a falta de conhecimento acerca de hábitos nutricionais adequados por parte destas pessoas ou uma despreocupação com este aspecto.

Ao se tratar do comportamento alimentar diante de sentimentos ou estados afetivos diversos, as obesas se diferenciaram das não-obesas, apresentando escores mais elevados. Este dado é concordante com Campos (8) que

afirma que pessoas obesas apresentam dificuldades de postergar seus desconfortos, quando, então, elas tendem a se alimentar, na tentativa de se sentirem aliviadas.

Quanto ao comportamento alimentar associado a fatores externos, não foi encontrada diferença entre os dois grupos. No entanto, este foi o estilo alimentar predominante no grupo das pacientes obesas. Estes dados parecem concordantes com um estudo relativo aos estilos alimentares, onde se observou que os sujeitos obesos foram mais responsivos à alimentação externa e menos responsivos à alimentação interna, como por exemplo, respostas às sensações de fome e saciedade (4). Concordando com Rodin et al. (5), pode-se supor que a externalidade seja uma característica geral e não comum de pessoas obesas, já que parece existir indivíduos em diferentes categorias de peso que respondem ao ambiente externo, alimentando-se. Ou seja, parecem existir outras variáveis que influenciam no comportamento psicossocial associado à obesidade, já que nem todos os sujeitos que respondem externamente tornam-se obesos. Supõe-se, assim, que os diferentes estilos alimentares apenas contribuem para explicar a dificuldade no que diz respeito ao controle alimentar - interno ou externo - sem, contudo, terem um caráter exclusivo no que diz respeito ao desenvolvimento ou manutenção da obesidade.

Destaca-se, assim, a presença de uma complexidade de questões que envolvem a obesidade. Nota-se, além disso, a dificuldade de isolar variáveis que possam interferir no funcionamento psicossocial de pessoas severamente obesas. Contudo, a presença de um conjunto de variáveis, como por exemplo, prejuízos nas condições de saúde física, social e psicológica, sugerem que a obesidade mórbida está interferindo na qualidade de vida destas pessoas.

A análise dos resultados relativos ao ES, aponta que as mulheres morbidamente obesas apresentaram maiores limitações quanto à realização de atividades físicas e sociais, maior prejuízo emocional, e estado geral de saúde mais prejudicado do que as pessoas com peso normal. Esses resultados vão ao encontro de outros estudos (3,11,12,15) que, avaliando a qualidade de vida de pessoas morbidamente obesas, verificaram a presença de prejuízos no funcionamento físico, emocional e social dessas pessoas. Os dados do presente estudo, de forma semelhante aos achados de estudos prévios, sugerem que a qualidade de vida é frequentemente comprometida em pessoas obesas devido a prejuízos no funcionamento físico e psicossocial (7).

Ao se tratar de aspectos mais específicos da avaliação relativa à qualidade de vida, observa-se que as mulheres com obesidade mórbida referiram limitações relacionadas ao trabalho de uma forma geral, tendo sido observada, através de relatos, a incapacidade destas pacientes de realizar certas atividades - como por exemplo, serviço doméstico - relacionando tais limitações às condições de saúde. Verifica-

se também que a saúde destas mulheres, segundo sua percepção, tem limitado a realização de atividades físicas diversas - desde aquelas que exigem muito esforço físico, como correr, até atividades mais simples, como se vestir, tomar banho ou usar o banheiro. Referiram ainda que a saúde tem limitado as suas atividades sociais, como visitar amigos ou parentes.

Resultados semelhantes a estes foram encontrados por Wadden e Stunkard (13) que verificaram que pessoas morbidamente obesas apresentavam diversas limitações físicas e sociais. Os referidos autores ainda observaram que os obesos estavam constantemente expostos a situações humilhantes em função de suas restrições. Ao se tratar do aspecto relativo ao trabalho, Sullivan et al. (3) consideraram que a obesidade mórbida parece estar associada com uma inabilidade para trabalhar, o que traz conseqüências sérias para o indivíduo obeso em um contexto bastante amplo, já que o trabalho está intimamente relacionado ao status sócio-econômico-cultural das pessoas.

Quanto aos aspectos emocionais associados à obesidade, as pacientes obesas relataram manifestações de nervosismo, desânimo, tristeza e infelicidade com freqüência significativamente maior do que as mulheres com peso normal. Estas mulheres não obesas, apesar de terem apresentado escores significativamente inferiores aos das obesas em todas as outras categorias, o maior prejuízo com relação à saúde foi o relativo ao aspecto emocional.

Supõe-se que o sofrimento psicológico encontrado em obesos possa estar relacionado à depreciação e à discriminação sofrida por estas pessoas¹⁴. Além disso, pelo fato das mulheres obesas estarem fazendo dieta no período referente à avaliação, esta também pode ter sido uma variável que interferiu no estado emocional das mesmas. Tal explicação fundamenta-se nos estudos de Sarlio-Lahteenkorva et al. (7) e Lopez (6), que constataram que pessoas obesas em tratamento para perda de peso com restrição de dieta manifestaram prejuízos na qualidade de vida e no funcionamento psicológico. Supõe-se, assim, que o sofrimento emocional dos obesos pode estar associado aos problemas físicos decorrentes do excesso de gordura corporal, bem como às suas tentativas - através de dietas - de se adaptar aos padrões de aparência. Como uma tentativa de suprir as necessidades psicológicas dos obesos, favorecendo uma melhora no bem-estar físico e emocional, parece importante a utilização de programas de tratamento para perda de peso que associem dieta e/ou atividade física a intervenções psicoterapêuticas.

O presente estudo objetivou investigar os estilos alimentares e a qualidade de vida de mulheres morbidamente obesas, não se propondo, portanto, avaliar, em profundidade, aspectos emocionais relativos às características de personalidade dessas pessoas. Nesse sentido, ao se tratar da

avaliação da qualidade de vida relacionada aos aspectos psicológicos, foi possível apenas constatar a presença de comprometimento emocional por parte das obesas. Considerando que indivíduos obesos participando de tratamento para obesidade apresentam maior prevalência de psicopatologias (2), pode-se supor que a diferença entre os grupos encontrada neste estudo esteja fundamentada no fato de que as obesas estavam sob dieta e que esta variável pode ter influenciado os dados, interferindo negativamente no funcionamento psicológicos destas mulheres.

Ao se tratar do estado geral de saúde, as pacientes com obesidade mórbida se diferenciaram significativamente das mulheres com peso normal, relatando que a sua saúde não estava boa e referindo a presença de dor corporal durante as quatro semanas antecedentes à avaliação. As pacientes também se autodescreveram como pessoas doentes e que estavam se sentindo mal nos últimos tempos. Estes resultados parecem ir ao encontro dos achados de Sullivan et al. (3) e Fontaine et al. (1), onde se observou que indivíduos severamente obesos apresentaram importantes limitações físicas e sociais em consequência do excesso de peso, bem como em função de dores corporais comum entre estas pessoas.

Os dados empíricos aqui apresentados sugerem que as questões relativas aos três estilos alimentares - alimentação restrita, emocional e externa - parecem contribuir para explicar a dificuldade quanto ao controle alimentar interno ou externo. Porém, não parecem explicar por si só o desenvolvimento e/ou a manutenção da obesidade nas pacientes avaliadas. Ambos os grupos parecem ter dificuldades quanto ao controle alimentar externo, ou seja, diante dos atrativos relacionados ao aroma e sabor dos alimentos, bem como diante de situações sociais diversas, onde se tenha oferta de alimentos, parece difícil resistir à vontade de comer. Parece interessante apontar ainda que, mesmo detendo os conhecimentos necessários acerca de hábitos nutricionais adequados, isso não parece suficiente para impedir o desejo de alimentação por parte das mulheres obesas. Também não parece ser suficiente para o controle da obesidade, sugerindo, novamente, a forte influência do ambiente externo. Assim sendo, parece relevante considerar a importância do desenvolvimento do autocontrole - com maior ênfase ao controle externo - como um dos elementos de reeducação de hábitos alimentares na abordagem terapêutica de pacientes com obesidade mórbida. O controle de variáveis externas, bem como a ênfase na responsabilidade do próprio paciente frente ao seu tratamento, parecem fatores importantes para um provável sucesso no tratamento.

Os dados sugerem, ainda, que as mulheres morbidamente obesas apresentaram importantes prejuízos na qualidade de vida relacionada à saúde, sendo esta influenciada por uma diversidade de variáveis que parecem atuar de forma a prejudicá-la, como as dores corporais, as limitações físicas e

sociais, bem como os problemas emocionais. No entanto, as mulheres obesas demonstraram uma percepção adequada quanto às suas limitações físicas, sociais e emocionais, podendo ser este um indicador favorável à abordagem terapêutica dessas pessoas, como complementar aos programas de redução de peso.

Nota-se a importância de tratamentos que sejam voltados não somente para a redução de peso em si, mas também para as necessidades individuais de cada sujeito, como tentativa de melhorar a qualidade de vida relacionada à saúde física e mental. Supõe-se que as utilizações de programas baseados em redução de peso, podem ter seus resultados potencializados quando associados à abordagem psicoterapêutica. Nesse sentido, tais programas deveriam se ajustar às necessidades a aos valores individuais de cada paciente, encorajando-os a se autocontrolarem, a se tornarem independentes e autônomos, bem como a propiciarem seu crescimento pessoal.

Os instrumentos utilizados no presente estudo pareceram de grande relevância, já que permitiram diferenciar variáveis específicas dentro de cada grupo estudado. Do ponto de vista clínico, tanto o QHCA como o ES pareceram instrumentos importantes para a triagem e a seleção de pacientes para programas de tratamento da obesidade baseado em reeducação de hábitos alimentares. Pode-se destacar contribuições específicas dos mesmos, a saber: a) o uso do QHCA pode facilitar a compreensão de áreas específicas relativas aos estilos alimentares que necessitam de intervenção; b) o uso do ES pode facilitar a seleção de pacientes para programas psicoterapêuticos que levem em conta a homogeneidade de prejuízos na qualidade de vida relacionada à saúde física e mental, e c) o uso de instrumentos como estes favorece a sistematização de informações sobre os pacientes de modo a ampliar a compreensão sobre a obesidade mórbida e sobre o impacto dos programas terapêuticos.

REFERÊNCIAS

1. Fontaine KR, Cheskin LJ, Barofsky I. Health - related quality of life in obese persons seeking treatment. *J Family Practice* 1996; 43 (3): 265-70.
2. Friedman MA, Brownell KD. Psychological correlates of obesity: moving to the next research generation. *Psychological Bulletin* 1995; 117 (1): 03-20.
3. Sullivan MB, Sullivan LG, Kral JG. Quality of life assessment in obesity: physical, psychological, and social function. *Gastroenterology Clinical of North America* 1987; 16 (3): 433-42.
4. Wardle J. Eating Style: a validation study of the Dutch Eating Behaviour Questionnaire in normal subjects and women with eating disorders. *J Psychosomatic Res* 1987; 31 (2): 161-69.

5. Rodin J, Schank D, Striegel-Moore R. Psychological Features of Obesity. *Medical Clinics of North America* 1989; 73 (1): 47-66.
6. Lopez KM. Value conflict: the lived experiences of women in treatment for weight loss. *Health Care for Women International* 1997; 18: 603-11.
7. Sarlio-Lahteenkorva S, Stunkard A, Rissanen A. Psychosocial factors and quality of life in obesity. *Int J Obes Metab Disord* 1995; 19: S1-S5.
8. Campos ALR. Aspectos psicológicos da obesidade. *Pediatrics Moderna* 1993; 29 (2): 129-30.
9. Chandarana PC, Conlon P, Holliday RL, Deslippe T, Field VA. A prospective study of psychosocial aspects of gastric stapling surgery. *Psychiatric Journal Univ Oyy* 1990; 15 (1): 32-5.
10. Fontaine KR, Barofsky I, Cheskin LJ. Predictors of Quality of Life for Obese Persons. *The Journal of Nervous and Mental Disease* 1997; 185 (2): 120-22.
11. Larsen F. Psychosocial function before and after gastric banding surgery for morbid obesity. A prospective psychiatric study. *Acta Psychiatrica Scandinava Supp* 1990; 82: 01-57.
12. Van Gemert W, Adang EM, Greve JWM, Soeters PB. Quality of life assessment of morbidly obese patients: effect of weight-reducing surgery. *Amer J Clin Nutr* 1998; 67 (2): 197-201.
13. Wadden TA, Stunkard AJ. Social and Psychological Consequences of Obesity. *Annals of Internal Medicine* 1985; 103: 1062-67.
14. Stunkard AJ, Stinnett JL, Smoller JW. Psychological and Social Aspects of the Surgical Treatment of Obesity. *The Amer J Psychiatry* 1986; 143 (4): 417-29.
15. Garrido Júnior AB. Situações especiais: tratamento da obesidade mórbida. In: Halpern A, Matos AFG, Suplicy HL, Mancini MC, Zanella MT. *Obesidade*. São Paulo: Lemos Editorial, 1998: 331-40.
16. Stewart AL, Hays RD, Ware JE. The MOS Short-Form General Health Survey - reliability and validity in a patient population. *Medical Care* 1988; 26 (7): 724-35.
17. Van Strien T, Frijters JE, Roosen RG, Knuiman-Hill WJ, Defares PB. Eating behavior, personality traits and body mass in women. *Addictive Behaviors* 1985; 10 (4): 333-43.

Recibido: 26-10-2000

Aceptado: 02-10-2001

Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, *Staphylococcus* sp. y hongos en ensaladas para perro calientes expandidas en la ciudad de Maracay, Venezuela

Laura Acevedo, Clever Mendoza y Rafael Oyón

Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela- Maracay, Venezuela

RESUMEN. Las comidas rápidas que se expenden en las calles, poseen fuerte potencialidad para la transmisión de enfermedades gastrointestinales debido a que son alimentos extensamente manipulados. De estos alimentos los vegetales representan un sustrato adecuado para la proliferación de gérmenes patógenos. Se determinó la presencia de Coliformes totales, Coliformes fecales, otras Enterobacterias y *Staphylococcus* sp. y Hongos en las muestras de ensaladas crudas para perros calientes expandidas en el centro de la ciudad de Maracay, Venezuela. Se empleó la técnica del Número Más Probable para cuantificar los Coliformes y *Staphylococcus* sp. Posteriormente se identificaron parcialmente las cepas de Coliformes y de *Staphylococcus* sp aisladas. También se cuantificó la presencia de Hongos en dichas ensaladas. Se les determinó el pH y la acidez y su relación con el crecimiento microbiano. El resultado para Coliformes totales fue $1,44 \times 10^5$ NMP/g; Coliformes fecales $4,57 \times 10^4$ NMP/g; no se detectó *E. coli* en las muestras analizadas, sin embargo de 87 cepas aisladas se determinó la presencia de *Citrobacter freundii* Variedad I (45,09% de las cepas aisladas), *Citrobacter freundii* Variedad II (21,57%), *Enterobacter aerogenes* Variedad I (17,65%) y *Enterobacter aerogenes* Variedad II (15,69%); *Staphylococcus* sp. $3,93 \times 10^6$ NMP/g. Las 52 cepas de presuntos *Staphylococcus* sp. resultaron coagulasa negativa; Hongos $4,5 \times 10^4$ UFC/g, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. fueron identificadas parcialmente. Las ensaladas crudas presentaban un pH y una acidez de 5,92 y 0,78 ml NaOH respectivamente.

Palabras clave: Ensaladas crudas, coliformes, enterobacterias, *Staphylococcus* sp., hongos, pH, acidez.

SUMMARY. Total and fecal coliforms, some enterobacteria, *Staphylococcus* sp. and moulds in salads for hot dogs sold in Maracay city, Venezuela. Fast food sold on the streets are good vehicle to transmit gastrointestinal diseases to consumers because they are highly manipulated. The vegetables are a good media for pathogens growth. Raw vegetable salads for hot dog sold in Maracay were studied. Total and fecal Coliforms and *Staphylococcus* sp. were quantified by the Most Probable Number Technique. Coliforms and *Staphylococcus* isolated were partially identified. Also the mould population was quantified and identified. Microbial growth was correlated with pH and acidity measurements. MPN/g of Total Coliforms was $1,44 \times 10^5$ and $4,57 \times 10^4$ for fecal Coliforms. *E. coli* was no detected. 87 isolated from the Coliforms were partially identified as *Citrobacter freundii* variety I (45,09% of the isolated), *C. freundii* variety II (21,57%), *Enterobacter aerogenes* variety I (17,65%) and *E. aerogenes* variety II (15,69%); *Staphylococcus* sp. $3,93 \times 10^6$ MPN/g and all of its isolated (52) were coagulase negative. The mould population was $4,5 \times 10^4$ ufc/g, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. were partially identified. The salads presented a pH of 5,92 and an acidity of 0,78 ml of NaOH.

Key words: Vegetable salads, coliforms, enterobacteria, *Staphylococcus* sp., moulds, pH, acidity.

INTRODUCCION

El consumo de vegetales crudos ha sido asociado a numerosos casos de brotes de enfermedades por microorganismos patógenos. Se han reportado infecciones alimentarias relacionadas con el consumo de vegetales. *L. monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *E. coli* Enterohemorrágica y *Vibrio cholera* han sido asociado a infecciones por el consumo de vegetales crudos, ensaladas de repollo y Champiñones salados (1). *E. coli* también ha sido relacionada a brotes de infecciones alimentarias por el consumo de vegetales y ensaladas (2). Las estadísticas

epidemiológicas indican que el apio (*Arracacea xanthorrhiza*), los tomates (*Lycopersicon esculentum*), lechuga cruda (*Lactuca sativa*), repollo crudo (*Brassica oleracea*), zanahoria (*Daucus carota*) y cilantro (*Corindrum sativus*) son los vegetales más implicados en brotes de gastroenteritis (1,3-5). En Venezuela se han realizado varios estudios sobre la calidad microbiológica de algunos vegetales y de ensaladas crudas comerciales listas para comer, donde se determinó la incidencia de microorganismos como: *Listeria* sp., *L. monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides*, *Bacillus* spp. *B. cereus* y *Escherichia coli* (5-10). Los vegetales frescos albergan una población diversa de

microorganismos, son frecuentes cantidades de 10^5 - 10^7 UFC/g. Entre el 80-90% de las bacterias son bastones gram negativos, predominando especies de *Pseudomonas*, *Enterobacter* o *Erwinia* (1). Normalmente las hortalizas no deben ser causa de problemas de salud pública (3). Esto se debe a que son más resistentes a infecciones microbianas que los productos de origen animal. Sin embargo es posible la transmisión de bacterias patógenas por contaminación directa con heces de animales, por el uso de estiércol como abono, agua residuales, o por el uso de aguas contaminadas para regar (4). Otra fuente de contaminación es la inadecuada manipulación de los alimentos, aspecto que ha sido muy relacionado con los expendios de comida rápida y/o lista para llevar. La FAO (11) señala que los alimentos que se venden en la vía pública constituyen una fuente importante de alimentos nutritivos y de bajo costo, especialmente para los sectores pobres de la población urbana; sin embargo, resalta que los mismos han demostrado ser un potencial para causar brotes de intoxicación alimentarios por contaminación microbiológica y por utilización de aditivos no permitidos. El objetivo de esta investigación fue determinar la incidencia de Coliformes totales, Coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y Hongos y Levaduras en un alimento altamente consumido por la población como son las ensaladas para perros calientes expandidas en el centro de la ciudad de Maracay, Venezuela.

MATERIALES Y METODOS

La toma de muestra se realizó en el Bulevar Pérez Almarza, entre la Av. Bolívar y la Av. Páez, de la ciudad de Maracay, Venezuela, luego de haber realizado una encuesta a los vendedores de perros calientes de la zona. Con la realización de la encuesta se pudo conocer:

a.- Las características del expendio (números de expendios, ubicación, estructura física utilizada, horario de trabajo, vigencia de registro sanitario, número de trabajadores por expendio).

b.- Características de la preparación de la ensalada (lugar de preparación, ingredientes, proveedor de los ingredientes, frecuencia de preparación, características de los utensilios, uso y cantidad de agua potable, uso de detergente).

c.- Características de los clientes (niños, adultos, jóvenes, sexo, trabajadores, horario de mayor frecuencia de clientes).

Esta encuesta nos permitió conocer la variabilidad presente en el área a muestrear, sobre los aspectos de: higiene, horarios, obtención y manipulación de la materia prima, con el fin de estimar la cantidad muestras a tomar.

Toma de muestra

Se evaluaron muestras de ensaladas de cinco expendios de perros calientes. En cada expendio se tomaron cuatro muestras. Una muestra por semana, realizando el muestreo

en horas del mediodía (12:00 m-12:30 p.m.), por ser la hora más frecuentada por los consumidores (según la encuesta realizada). Las muestras se tomaron en bolsas de plástico transparentes estériles, tipo clic, por el vendedor en las mismas condiciones que lo hacen para preparar los perros calientes. La cantidad de muestra fue aproximadamente de 30-35 gramos. Seguidamente las muestras fueron transportadas en cava con hielo al laboratorio para ser analizadas inmediatamente.

Cabe señalar que las ensaladas estaban compuestas por repollo, zanahoria y cilantro, troceados finamente y crudas.

Análisis físico - químico

A las muestras de ensaladas se les determinó el pH, según la metodología descrita por la A.O.A.C (12) y el porcentaje de acidez, de acuerdo a la metodología establecida en la Norma COVENIN (13).

Análisis microbiológico

La preparación de la muestra para los análisis microbiológicos se realizó pesando 25 gramos de la misma, y homogeneizándola con 225 mL de agua peptonada (0,1%) con la ayuda de un Stomacher. A partir de la cual se inició las diluciones seriadas correspondiente.

Los análisis microbiológicos incluyeron la determinación de Coliformes totales, Coliformes fecales y la cuantificación e identificación de *Escherichia coli* mediante la técnica de Número Más Probable descrita por la Norma COVENIN (14); la cuantificación e identificación de *Staphylococcus aureus* según la Norma COVENIN (15) y el conteo de Hongos y Levaduras siguiendo la técnica de siembra por profundidad descrita por García (16).

Análisis estadístico

Para la elaboración del diseño experimental se estableció la realización de la encuesta, la cual brindó la información necesaria para establecer dicho diseño.

Las pruebas estadísticas realizadas se basaron en conocer si existía o no diferencias significativas entre las características microbiológicas de las muestras en el tiempo y entre expendios. Además de correlacionar los valores de pH y acidez con la carga microbiana presente. Para ello se utilizó una prueba no paramétrica (Kruskal-Wallis) y una prueba de análisis de varianza y una correlación simple lineal (17).

RESULTADOS Y DISCUSION

De la encuesta realizada los aspectos más importantes fueron:

a.- Frecuencia de preparación de la ensalada: De un total de 10 vendedores de perro caliente encuestados, el 80% preparan las ensaladas una vez al día en sus hogares, antes

de salir a trabajar (6:00 a.m.). Procedimiento que podría afectar en gran medida la calidad microbiológica de la ensalada, ya que el tiempo de almacenamiento y la exposición a temperatura no adecuada permiten el crecimiento microbiano. El 20% de los expendedores prepara la ensalada dos veces al día (6,00a.m. y 2,30 p.m.).

b.- Tipo y origen del agua: Todos los vendedores señalaron usar agua potable. Sin embargo la cantidad de la misma no es suficiente, para mantener una adecuada limpieza del expendio.

c.- Uso de detergente: Todos emplean detergentes en la limpieza del expendio.

d.- Proveedor: Todos los expendios tienen diferentes proveedores de materia prima.

e.- Números de trabajadores por expendios: En todos los expendios trabaja una sola persona.

Análisis físico químicos

Los análisis estadísticos señalan que existen diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los valores de pH de las ensaladas de los distintos expendios y entre todos los muestreos. En la Tabla 1 se presentan los valores medios de pH por expendio. Se puede apreciar que los valores oscilan entre 4,60 y 6,10. En la Tabla 2 se presentan los valores de acidez por expendio, los cuales se encuentran en un rango de 4,00 y 15,00 ml de NaOH/100g muestra. El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre el porcentaje de acidez de las ensaladas de los distintos expendios y entre todos los muestreos. Otros investigadores han reportado valores de pH de 4,97 a 5,79 en ensaladas mixtas y de 5,82 a 6,14 en lechuga (18).

La mayoría de las especies microbianas pueden crecer a un rango de pH comprendido entre 6,60-7,50; sin embargo, existen algunos microorganismos como los hongos y levaduras que pueden desarrollarse en ambientes ácidos. También existen patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. y *Listeria* sp, que pueden crecer en medios con valores de pH de 4,20 (19). De acuerdo a ello se puede señalar que las ensaladas analizadas representan un sustrato adecuado para el crecimiento de muchas especies microbianas.

Análisis microbiológico

En la Figura 1 se muestra la cuantificación de Coliformes totales en las muestras de ensaladas, de los cuatro muestreos para cada uno de los expendios; en dicha figura se puede apreciar que existe una alta carga de este grupo de microorganismos (10^5 NMP/g) en las ensaladas analizadas y que no se presentan diferencias significativas entre los valores obtenidos (entre expendedores y entre muestreos). Otros investigadores han señalado la presencia de Coliformes totales en vegetales frescos, con una incidencia de $3,20 \times 10^5$ y $1,30 \times 10^2$ ufc/g (23, 24).

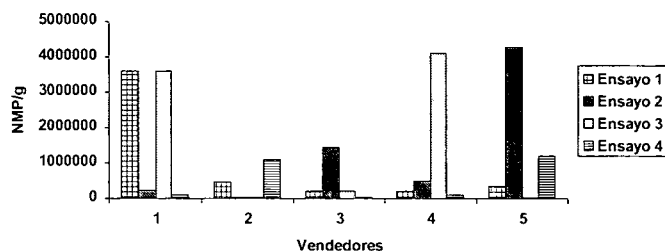
TABLE 1
Valores de pH de las muestras de ensaladas para perros calientes

Muestra	pH
Ensayo 1	1
Vendedor 1	5,90
Vendedor 2	6,10
Vendedor 3	6,00
Vendedor 4	5,90
Vendedor 5	6,10
Ensayo 2	
Vendedor 1	6,00
Vendedor 2	6,10
Vendedor 3	6,00
Vendedor 4	4,60
Vendedor 5	5,90
Ensayo 3	
Vendedor 1	5,80
Vendedor 2	6,00
Vendedor 3	6,00
Vendedor 4	5,60
Vendedor 5	6,00
Ensayo 4	
Vendedor 1	6,10
Vendedor 2	6,10
Vendedor 3	6,20
Vendedor 4	5,90
Vendedor 5	6,10
X	5,92
σ	0,34
Valor máximo	6,20
Valor mínimo	4,60

TABLE 2
Valores de acidez de las muestras de ensaladas para perros calientes

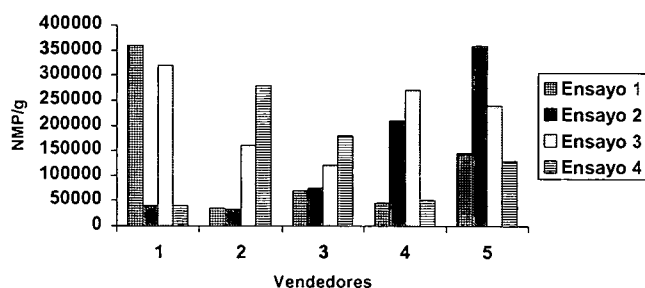
Muestra	Acidez (ml de NaOH)
Ensayo 1	
Vendedor 1	0,60
Vendedor 2	0,50
Vendedor 3	0,40
Vendedor 4	0,40
Vendedor 5	0,50
Ensayo 2	
Vendedor 1	1,20
Vendedor 2	1,00
Vendedor 3	1,00
Vendedor 4	1,50
Vendedor 5	0,70
Ensayo 3	
Vendedor 1	0,70
Vendedor 2	0,50
Vendedor 3	0,90
Vendedor 4	0,70
Vendedor 5	0,70
Ensayo 4	
Vendedor 1	0,80
Vendedor 2	0,80
Vendedor 3	0,90
Vendedor 4	1,10
Vendedor 5	0,70
X	0,78
σ	0,28
Valor máximo	1,50
Valor mínimo	0,40

FIGURA 1
Resultados de la cuantificación de coliformes totales en las muestras de ensaladas



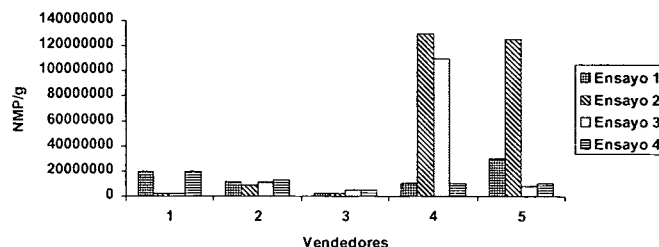
En la Figura 2 se presentan los resultados obtenidos en la cuantificación de Coliformes fecales en las muestras de ensaladas, de los cuatro muestreos para cada uno de los expendios evaluados. En la determinación de este grupo de microorganismos no se encontró diferencias estadísticamente significativas y se obtuvo una media global de $4,57 \times 10^4$ NMP/g. No se encontró *Escherichia coli* en las muestras de ensaladas analizadas, sin embargo, se encontraron otras especies de *Enterobacteriaceae*, como es el caso de *Citrobacter freundii* var. I con un 45,09% del total de las cepas parcialmente identificadas, *Citrobacter freundii* var. II en un 21,57%, *Enterobacter aerogenes* var. I en un 17,65% y *Enterobacter aerogenes* var. II representando el 15,69% de las cepas obtenidas. *E. coli* es de origen intestinal, mientras que *Enterobacter aerogenes* es procedente de los vegetales, aunque ocasionalmente puede ser de origen intestinal (20); aunque no ha sido reportado en vegetales este microorganismo ha sido aislado de helados de crema y de queso "tipo Palmita en Venezuela" (21,22). *Citrobacter freundii* es la especie bacteriana que más abunda en los alimentos, siendo frecuente en las superficies de las hortalizas y carnes frescas (19). Aunque en este estudio no fue encontrado *E. coli*, este microorganismo ha sido aislado a partir de vegetales frescos con una incidencia de 11,60% de las muestras analizadas (24).

FIGURA 2
Resultados de la cuantificación para coliformes fecales en las muestras de ensaladas



En la Figura 3 se muestran los resultados obtenidos en la cuantificación de *Staphylococcus* sp. El análisis estadístico no arrojó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los distintos muestreos, ni entre los expendios.

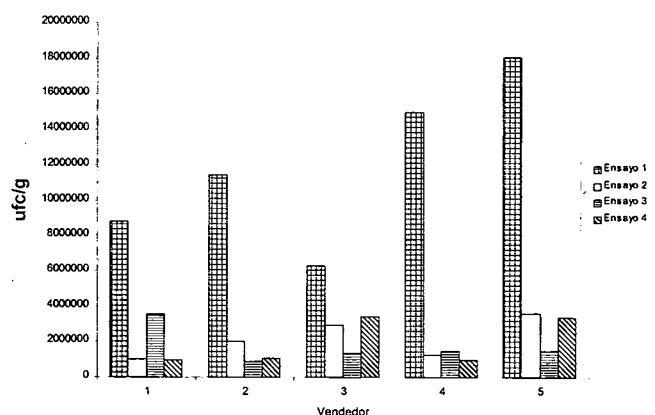
FIGURA 3
Resultados de la cuantificación de *Staphylococcus* sp. en las muestras de ensalada



La incidencia de este microorganismo en las ensaladas analizadas estaba comprendido entre $5,25 \times 10^5$ y $2,50 \times 10^7$ NMP/g. De las cepas obtenidas 95% resultaron cocos en pares y/o racimos gram positivos, y coagulasa negativos.

En la Figura 4 se presentan los resultados obtenidos en el conteo de hongos y levaduras para los diferentes expendios en cada uno de los muestreos realizados. Se puede apreciar que el conteo de hongos y levaduras se encuentra entre $5,70 \times 10^3$ y $5,32 \times 10^7$ ufc/g. Los análisis estadísticos no arrojaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los valores obtenidos para cada expendio y en cada muestreo. La observación microscópica de las colonias que crecieron en Malta Sal Agar mostraron que las especies aisladas de las ensaladas fueron: *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., y *Penicillium* sp. y abundantes levaduras. Estas especies de hongos también han sido aisladas por otro investigador a partir de vegetales (lechuga, tomate, brócoli, coliflor y repollo) (23).

FIGURA 4
Resultados del conteo de hongos y levaduras en las muestras de ensaladas



REFERENCIAS

1. Gillian A, Cristopher T and David O. The microbiological safety of minimally processed vegetables. *International J Food Science and Technology*. 1999;34:1-22.
2. Doyle M, Beuchat L and Montville T. *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. Editorial ASM press. Washington D.C. USA. 1997.
3. Adams A y Moss M. *Microbiología de los alimentos*. Editorial Acribia, S.A. España. 1997.
4. Whitfield F. Microbiology of food taints. *International Journal of Food Science and Technology*. 1998. 33: 31-51.
5. Medina M, Hernández P, Kalustian T and Mendoza C. Prevalence of *Plesiomonas shigelloides* in cabbage and lettuce samples from Venezuela. *World Congress Foodborne Infections and Intoxications*. 1998;2: 960-963.
6. Raybaundi R. El céleri (*Apium graveolum* L.) y repollo (*Brassica oleracea* L. var. Capital) como sustrato para el desarrollo de *Listeria monocytogenes* y *Aeromonas hydrophila*. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. 1994.
7. Guevara L. Ensaladas con mínimo procesamiento como sustrato para el crecimiento y sobrevivencia de *Listeria monocytogenes*. Trabajo de Grado, Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. 1997.
8. Pérez V. Incidencia de *Listeria monocytogenes* en vegetales Frescos. Seminario de Postgrado. U. C.V. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1999.
9. Diaz R. y Guevara L. Patógenos emergentes en productos de origen vegetal. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. U.C.V. Caracas, Venezuela. 1996.
10. Moreno I. Comportamiento de *Aeromonas hydrophila* en ensaladas con mínimo procesamiento almacenadas a 5°C. Tesis de Grado. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 1997.
11. F.A.O. La venta de los alimentos en las calles, informe de una consulta a expertos de F.A.O. Roma, Italia. 1990.
12. Association of Official Analytical Chemists. A.O.A.C. Washington. 1990.
13. Ministerio de Fomento. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). N° 658-86. Determinación de acidez. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 1986.
14. Ministerio de Fomento. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). No 1104-96. Determinación del Número Más Probable de Coliformes, Coliformes fecales y *Escherichia coli*. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 1996.
15. Ministerio de Fomento. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). No 1292-89. Aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 1989.
16. Garcia C. *Análisis Microbiológico*. 2da ed. Caracas, Venezuela. Editorial Ciencia 3 S. A. 1990.
17. Montgomery D. *Diseño y análisis de experimentos*. 3ª ed. México. Editorial Iberoamericans. 1991.
18. Odumeru J, Mitchell S, Alves D, Lynch A, Yee A, Wang S, Styliadis S and Farber J. Assessment of the microbiological quality of ready-to-use -vegetables for health-care food service. *J Food Protection*. 1997; 60:(8): 954-960.
19. Jay J. *Modern Food Microbiology*. 5th edition. Chapman and Hall. Hartford, CT, USA. 1997.
20. Frazier W and Westhoff D. *Microbiología de los alimentos*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1979.
21. Rodríguez C. Incidencia de *Aeromonas* sp. en productos vegetales con mínimo procesamiento. Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 1994.
22. Ferrer A, Urdaneta D, Rincon Z, CABRERA L and Basanta Y. Microflora isolated from Venezuelan "Palmita-tipe" cheese. *Journal of Food Protection*. 1991;54(11): 856-860.
23. Albrecht J, Hamouz F, Sumner S y Melch V. Microbial evaluation of vegetable ingredients in salad bars. *Journal of Food Protection*. 1994; 58(6): 683-685.
24. Warburton D, Harrison B, Crawford C, Foster R, Fox C, Gour L and Purvis U. Current Microbiological status of "Health Foods" sold in Canada. *International Journal of Food Microbiology*. 1998; 42:1-7.

Recibido: 21-12-2000

Acepadó: 09-08-2001

Cinética de crecimiento y producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* en leche cruda a temperaturas de refrigeración

Costa M., Gómez M.F., Molina L.H. y Romero A.

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, ICYTAL. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile

RESUMEN. El uso generalizado de la refrigeración de la leche cruda ha contribuido a mantener la calidad de ésta pero ha traído como consecuencia la selección de una flora psicrotrofica la cual durante su desarrollo produce enzimas termorresistentes responsables, en parte, del deterioro de productos de larga vida. Dada la condición de prolongada refrigeración de la leche antes del procesamiento, se planteó determinar las curvas de crecimiento bacteriano a temperaturas entre 2°C y 10°C y las cinéticas de producción de proteasas en leche cruda recién ordeñada, inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* RV10, utilizando un fermentador modular, con mínima agitación bajo condiciones de pH y temperatura controlados. Los resultados muestran un desarrollo por sobre los 10⁵ ufc/mL para los cultivos a 6°C, 8°C y 10°C a las 30 h y con niveles de actividad proteásica superiores a 30 µM p-NA/2h, los que se incrementan fuertemente hasta niveles de 80 a 180 µM p-NA/2h después de las 50 h de cultivo. Sólo los cultivos a 2°C muestran un comportamiento estable con recuentos inferiores y sin incremento en la actividad enzimática. Una situación intermedia puede observarse en los cultivos a 4°C.

Palabras clave: Psicrotroficas en leche cruda, proteasas termorresistentes, *Pseudomonas fluorescens*.

SUMMARY. Growth kinetics and proteases production of *Pseudomonas fluorescens* in raw milk at refrigeration temperatures. The general use of refrigeration of raw milk has contributed to maintenance of its quality, but has induced the selection of a psychrotrophic bacteria which during its growth produces heat-resistant enzymes responsible, in part, for the deterioration of long-life products. Given the condition of the prolonged refrigeration of the milk before the process, it was necessary to determine the growth curves for bacteria at temperatures between 2°C and 10°C and the kinetics of production of proteases in raw fresh milk, inoculated with *Pseudomonas fluorescens* RV10, using an automatic fermentation system, with minimal agitation under conditions of controlled temperature and pH. The results show a development over 10⁵ ufc/mL in the cultures at 6°, 8° and 10°C during the first 30 h and proteasic activities over 30 µM p-NA/2h getting levels of de 80 - 180 µM p-NA/2h over 50 h of cultivation. Only the cultures at 2°C appeared stable with inferior cell counts and without inducing enzymatic activity. At 4°C an intermediate situation occurs.

Key words: Psychrotrophic in raw milk, heat resistance proteases, *Pseudomonas fluorescens*.

INTRODUCCION

El almacenamiento de la leche cruda a temperaturas entre 4°C y 8°C permite seleccionar microorganismos psicrotrofos, que representan menos del 10% de la flora inicial de la leche cruda, donde crecen y se convierten en la flora predominante tras permanecer de dos a tres días bajo condiciones de refrigeración antes de ser sometidas a un determinado proceso térmico (1-2).

En Chile los estanques refrigerados en los campos operan a temperaturas reales alrededor de los 6°C, lo que sumado al transporte (generalmente no refrigerado) y está en silos (5°C por 24 h en verano y hasta 72 h en invierno) en la planta, facilita el desarrollo de esta flora, con las consecuencias ya señaladas. Los microorganismos psicrotrofos predominantes pertenecen al género *Pseudomonas* y dentro de éste, la especie más comúnmente encontrada en el sur de Chile es *Pseudomonas fluorescens* (3), situación que se

también observa en otros países (4).

El problema de la contaminación de la leche cruda con microorganismos psicrotrofos durante las etapas de producción y manejo, es difícil de evitar, al igual que el deterioro posterior debido a las condiciones de almacenamiento, y no podría ser eliminado completamente, ya que, a pesar de que los microorganismos son destruidos mediante los procesos térmicos de pasteurización y de ultra alta temperatura (UHT), las proteasas extracelulares que son producidas por estas bacterias durante su crecimiento en la etapa de refrigeración de la leche cruda, permanecen activas o parcialmente activas durante el período de almacenamiento del producto terminado, presentando sus efectos principalmente sobre leches fluidas UHT y otros productos de larga vida (1-2).

La temperatura de crecimiento tiene un marcado efecto en la producción de proteasas. Por ejemplo, en un estudio realizado por Fairbairn y Law (2-5) con *Pseudomonas*

fluorescens NCDO 2085 en un cultivo continuo con limitación de carbono y siendo 18°C la temperatura óptima para la producción total de proteasa, la producción de esta enzima por unidad de peso seco aumentó con la disminución de temperatura, mientras que la cantidad de células a temperaturas bajo los 20°C, se redujo con la disminución de temperatura. Estos resultados apoyan la hipótesis que las bacterias psicrotróficas sintetizan mayores cantidades de enzima a bajas temperaturas, para compensar un descenso en la actividad de la enzima ayudando a mantener su velocidad de crecimiento a expensas del rendimiento celular.

En un estudio realizado por Juffs (6), se estableció que la temperatura y composición del medio de cultivo afectaría y/o influiría marcadamente la producción de estas proteasas en *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se demostró que la temperatura de incubación influiría en la producción de proteasas por unidad de crecimiento en las cepas estudiadas, así la producción de proteasas disminuyó cuando la temperatura de crecimiento fue menor a la temperatura óptima para la producción de enzimas.

Celestino, Iyer y Roginski (7) estudiaron el efecto del almacenamiento refrigerado en leche cruda en silos verificando el aumento de bacterias proteolíticas y de psicrotróficas desde un 47% a un 80% a las 48±2 h; la actividad enzimática también fue mayor en las leche refrigerada durante ese período de tiempo respecto de su condición inicial.

Debido a la importancia industrial de estas enzimas y a las condiciones del prolongado almacenamiento, entre el ordeño y el procesamiento de la leche, resulta importante conocer el desarrollo de *Pseudomonas fluorescens* bajo los 10°C y, asimismo los niveles de actividad proteásica que son detectados. Según lo anterior se planteó como objetivo determinar las curvas de crecimiento y de producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* a 2°C, 4°C, 6°C, 8°C y 10°C, en leche cruda recién ordeñada.

MATERIALES Y METODOS

Los cultivos de *Pseudomonas fluorescens* RV10 se realizaron en un fermentador modular (Gallenkamp) de 1 L, con control automático de pH y temperatura ($\pm 0,2^\circ\text{C}$) sin aireación y con mínima agitación, en 500 mL de leche recién ordeñada de vacas sanas pertenecientes al fundo Vista Alegre de la Universidad Austral de Chile. Las leches fueron inoculadas con un cultivo previo de *Pseudomonas fluorescens* RV10 en caldo cerebro corazón de forma tal de obtener una concentración inicial de 4 a 6 $\times 10^3$ ufc/mL. Se tomaron muestras cada 2 horas durante 100 horas y se determinó cada vez el recuento total en placa con Agar Plate Count, de acuerdo con Houghtby *et al.*, (8) y la actividad proteásica mediante el método de Linden *et al.* (9), que fue modificado en el presente

trabajo como sigue: 3 mL de leche se mezclan con 1 mL de una solución de leucyl-p-nitroanilida 6 mM (Sigma Chemical Co.) en 20 mM buffer bis-tris propano (Sigma Chemical Co.) e incubados a 37°C por 2 h, al término del cual se toman 2 mL de la mezcla y se mezclan con 4 mL de etanol absoluto (Merck), luego de dejar reposar unos minutos la mezcla es centrifugada a 14.720g por 20 min a 4°C. El sobrenadante es extraído con mucho cuidado y se lee su absorbancia a 405 nm. Se construye una curva de calibración estándar de p-nitroanilina (Sigma Chemical Co.) el rango de 0-200 $\mu\text{moles/L}$. La actividad proteásica se expresa como μM de p-nitroanilina (pNA) liberados en 2 h a 37°C.

RESULTADOS

En las Figuras 1, 2, 3, 4 y 5 se muestran las curvas para el crecimiento y la actividad de las proteasas de *Pseudomonas fluorescens* a las temperaturas de trabajo de 2°C, 4°C, 6°C, 8°C y 10°C, respectivamente.

FIGURA 1
Crecimiento y producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* a 2°C

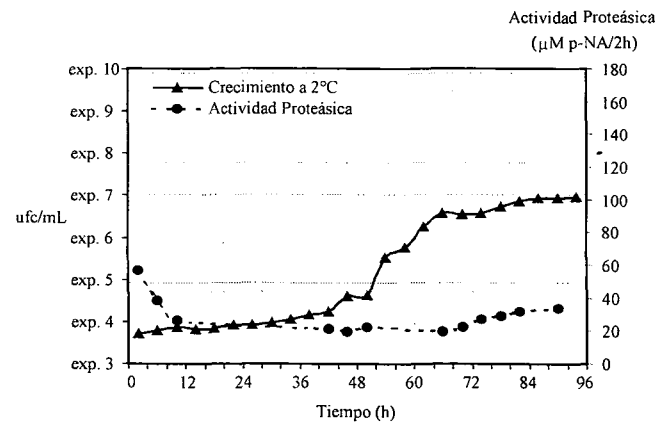


FIGURA 2
Crecimiento y producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* a 4°C

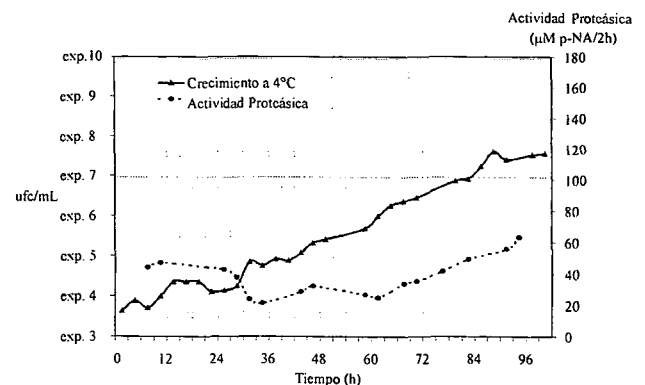


FIGURA 3
Crecimiento y producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* a 6°C

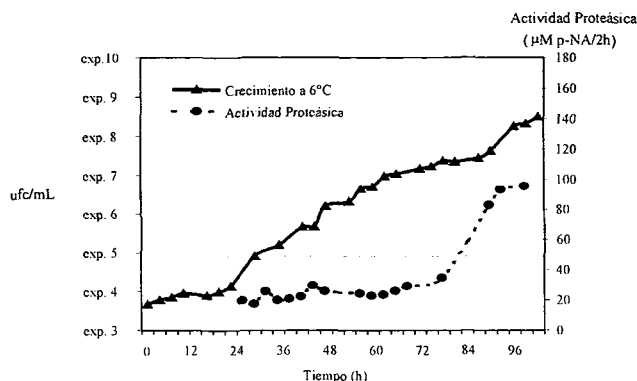


FIGURA 4
Crecimiento y producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* a 8°C

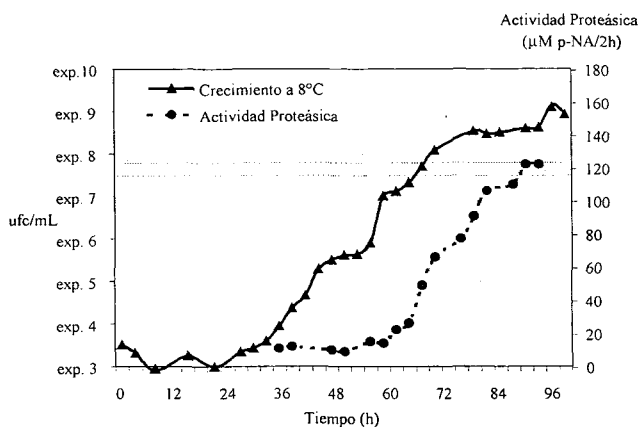
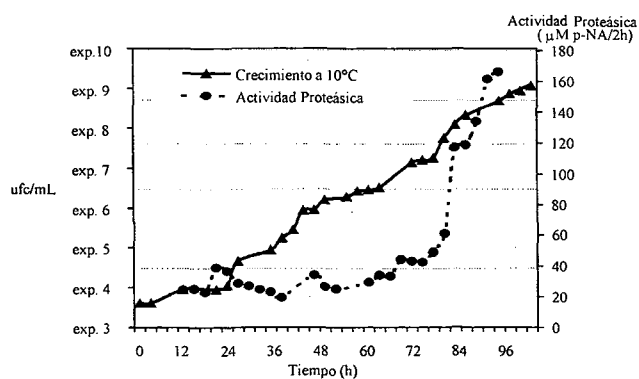


FIGURA 5
Crecimiento y producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* a 10°C



En relación con el crecimiento, se observa que, en todos los cultivos a las diferentes temperaturas probadas, entre 2°C y 10°C, se produjo un aumento de la masa bacteriana. Sin embargo, el crecimiento se vió afectado por la temperatura de cultivo. En el cultivo realizado a 2°C, se observa que el desarrollo alcanza niveles superiores a 10⁷ ufc/mL, a las 96 horas de cultivo. A 4°C el nivel de crecimiento bacteriano llega a niveles de 5x10⁷ ufc/mL a las 100 horas de cultivo. Por otro lado, en los cultivos realizados a 6°C, 8°C y 10°C, se observa que el crecimiento celular alcanza niveles sobre las 10⁸ ufc/mL, alrededor de las 100 horas de cultivo. Un crecimiento similar se apreció en los cultivos a 8°C y 10°C alcanzando niveles de 10⁹ ufc/mL.

Al analizar en la siguiente tabla las velocidades de crecimiento para cada temperatura de cultivo, se puede observar que ésta aumenta cuando aumenta la temperatura de cultivo, y el tiempo de duplicación promedio para cada temperatura disminuye según la temperatura aumenta.

Temperatura (°C)	Velocidad específica de crecimiento*, µ (h ⁻¹)	Tiempo de duplicación*, t _p (h)
2°	0,42	1,65
4°	0,49	1,41
6°	0,52	1,33
8°	0,63	1,10
10°	0,66	1,05

Promedio de tres determinaciones (DE≤0,05)

Con respecto a la actividad proteásica, se puede observar que para todas las temperaturas a las que se trabajó, a partir de las 60 horas de cultivo comienza a elevarse notoriamente, en especial, en los cultivos realizados a 6°C, 8°C y 10°C, llegando a niveles de actividad cercanos a 80, 120 y 160 µM p-NA/2h, respectivamente, a las 100 horas de cultivo.

Para el caso de los cultivos realizados a 2°C y 4°C, se observa que existe un notorio aumento de actividad, solamente a 4°C a partir de las 60 horas de cultivo, pero con niveles de actividad muy inferiores a los cultivos a 6°C, 8°C y 10°C. Este aumento no es apreciable en los cultivos realizados a 2°C, manteniéndose la actividad proteásica en un nivel más o menos constante a lo largo de las 100 horas de cultivo; es así que a las 60 horas se observa una actividad proteásica de 20 µM p-NA/2h y a las 100 horas una actividad cercana a los 30 µM p-NA/2h.

Es importante notar que los niveles de crecimiento alcanzados a las 60 horas, para los cultivos realizados a 6°, 8° y 10°C son cercanos a los 10⁹ ufc/mL. En cambio, a 2° y 4°C el nivel de 10⁷ ufc/mL es alcanzado sólo a las 100 y 80 horas de cultivo, respectivamente.

Los resultados obtenidos para las curvas de crecimiento a 6°C, 8°C y 10°C, indican que el crecimiento bacteriano es considerable a estas temperaturas llegando a niveles de 10^8 ufc/mL a las 90 horas de cultivo y con velocidades específicas de crecimiento de: 0,52, 0,63 y 0,66 h^{-1} , respectivamente; y con tiempos de duplicación de 1,33, 1,10 y 1,05 horas, respectivamente. Para el caso de cultivos a 4°C, se observa que la velocidad de crecimiento (0,49 h^{-1}) y el tiempo de duplicación (1,41 horas) son similares a los valores obtenidos para estos parámetros en cultivos a 6°C, aunque el crecimiento bacteriano a 4°C sólo alcanza a 5×10^7 ufc/mL aproximadamente, mientras a 6°C alcanza a 5×10^8 ufc/mL cercano a las 100 horas de cultivo. A 2°C, se observa que el crecimiento bacteriano es menor que en todos los demás cultivos con velocidad de crecimiento de 0,42 h^{-1} y tiempo de duplicación de 1,65 horas.

Las curvas de actividad proteásica, indican un marcado aumento a partir de las 60 horas en los cultivos a 6°, 8° y 10°C con niveles de actividad sobre los 100 μ moles de p-nitroanilina/2 horas (a 37°C), al final del tiempo de cultivo. En el caso de los cultivos a 2°C y 4°C se observa un aumento en la actividad proteásica solamente a esta última temperatura de cultivo pero con valores de actividad menores que en los cultivos a 6°, 8° y 10°C. A 2°C la actividad proteásica se mantiene casi sin aumento a lo largo del tiempo de cultivo. El nivel de crecimiento bacteriano a 2°C a las 100 horas alcanza levemente a las 10^7 ufc/mL, valor mucho más bajo a los niveles alcanzados a las restantes temperaturas de trabajo.

DISCUSION

La leche cruda a temperaturas de refrigeración es un excelente medio de crecimiento y para la producción de proteasas por las bacterias psicrotróficas, en este caso, *Pseudomonas fluorescens*, una de las especies más frecuentemente encontradas en la leche cruda refrigerada de la Xª Región de Chile.

Uno de los principales factores que influyen en la calidad en los productos lácteos fabricados a partir de leche cruda almacenada a 7°C o menos, por varios días, es el desarrollo de la flora psicrotrófica y la producción de proteasas termoestables (1-10).

En el caso de los cultivos a 4°, 6°, 8° y 10°C, las enzimas comienzan a ser producidas a partir de las 60 horas de cultivo, lo que correspondería al comienzo de la fase estacionaria del crecimiento bacteriano, donde los recuentos están sobre los 10^7 ufc/mL. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Stead (11), donde 2 cepas de *Pseudomonas* psicrotróficas fueron cultivadas en leche a 7°C y con niveles de crecimiento cercanos a 10^8 ufc/mL y que también coincide con el comienzo de la detección de actividad proteásica. También

concuerdan con los resultados obtenidos por Griffiths (12), que encontró que la producción de proteasas de 3 cepas de *Pseudomonas fluorescens*, comienza al final de la fase exponencial e inicio de la fase estacionaria cuando se alcanzó un recuento de $3,2 \times 10^7$ ufc/mL. En el estudio realizado por Costa, et al. (13), donde se estudió el crecimiento a 4°C de la cepa psicrotrófica *Pseudomonas fluorescens* RV10 en leche esterilizada entera y descremada, también se estableció que estas enzimas proteolíticas comienzan a ser secretadas durante el final de la fase exponencial de crecimiento, cuando el recuento alcanza las 10^7 ufc/mL.

El medio ambiente fisiológico influye en la producción de las proteasas, ya que en este estudio se ve que la producción de las mismas es dependiente de la temperatura; a 2°C la producción de enzima es mínima con respecto a los valores de actividad obtenidos a otras temperaturas. Así también, al comparar los resultados obtenidos por Costa (13), en los que el crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* se evaluó en leche esterilizada a 121°C durante 15 minutos, la velocidad de crecimiento es mayor a cualquiera de las temperaturas obtenidas en el presente estudio y el tiempo de duplicación es más bajo, es decir el desarrollo bacteriano es más rápido. Esto puede deberse a que en el caso de la leche cruda se tiene un ambiente no estéril por lo cual se produciría un efecto de competición entre la flora nativa de la leche cruda y la que es inoculada. Así en un estudio realizado por Cox y MacRae (14) se examinó la velocidad de crecimiento de seis cepas de *Pseudomonas fluorescens* en leche de cabra cruda y UHT, siendo para todas ellas mayor el crecimiento en la leche UHT.

Los resultados muestran que *Pseudomonas fluorescens* se desarrolla por sobre los 10^5 ufc/mL en leche cruda inoculada a niveles de 4 a 6×10^5 ufc/mL a temperaturas de 6°C, 8°C y 10°C a las 30 h y con niveles de actividad proteásica superiores a 30 μ M p-NA/2h, los que se incrementan fuertemente hasta niveles de 80 a 180 μ M p-NA/2h luego de las 90 h de cultivo. Por otra parte, en los cultivos a 2°C muestran que hay una disminución con relación al crecimiento bacteriano y por consiguiente, una disminución notable en la producción de enzimas proteolíticas a esta temperatura. Una situación intermedia puede observarse en los cultivos a 4°C.

Del trabajo se puede concluir que, la leche cruda con recuento de psicrotróficas, almacenada en condiciones de refrigeración sobre las 30 h puede no ser apta para la elaboración de leches UHT por cuanto presentan una actividad proteásica importante, lo que puede conducir a un acortamiento de la vida útil del producto terminado.

Esta investigación fue financiada por el Proyecto N° 1951116 de FONDECYT, Chile.

REFERENCIAS

1. Marshall RT. Critical points to control: contamination, growth and enzymatic activity. Proceedings of the Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk, Wolfpassing, Austria. 1996, 46p.
2. Fairbairn DJ y Law BA. Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. J Dairy Res, 1986;53: 139- 177.
3. Levicán J. Caracterización de la flora psicotrófica y sus proteasas en la leche cruda refrigerada. Tesis. Escuela de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 1992. p. 132.
4. Jayarao BM and Wang LA. study on the prevalence of Gram-negative bacteria in bulk tank milk. J Dairy Sci, 1999; 82 (12) 2620-2624.
5. Shah NP. Psychrotrophs in milk: a review. Milchwissenschaft, 1994;49(8): 432-437.
6. Juffs HS. Effects of temperature and nutrients on proteinase production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa* in broth and milk. J Applied Bacteriology, 1976;40: 23-32.
7. Celestino EL, Iyer M and Roginski H. The effects of refrigerated storage on the quality of milk. Australian J Dairy Tech, 1996; 51 (2) 59-63.
8. Houghtby GA, Maturin LJ and Koenig EK. (Messer JW, Tech. Comm.). (1992). Chapter 6. Microbiological Counts Methods. In: Standard Methods of Dairy Products, 16th Edition. Robert T. Marshall, Editor. American Public Health Association, 1992;213-244.
9. Linden G, Humbert G, Desnouveaux R et J. Picard. Applications de la dissolution complete du lait à la détermination de quelque activités enzymatiques. Le Lait, 1982;62 (615-616): 209-219.
10. San José C, Fernández L and Palacios P. Compositional changes in cold raw milk supporting growth of *Pseudomonas fluorescens* NCDO 2085 before production of extracelular proteases. J Food Protection, 1987;50(12): 1004-1008.
11. Stead D. Production of extracellular lipases and proteinases during prolonged growth of strains of psychrotrophic bacteria in whole milk. J Dairy Res, 1987;54: 535-543.
12. Griffiths MW. Effect of temperature and milk fat on extracellular enzyme synthesis by psychrotrophic bacteria during growth in milk. Milchwissenschaft, 1989;44(9): 539-542.
13. Costa M, Herrera VM, Romero A y Carrasco E. Purificación y caracterización de proteasas y lipasas producidas por *Pseudomonas fluorescens* en leche a 4°C. Alimentos 1997; 22(1-2):73-82.
14. Cox JM and Mac Rae IC. Growth of psychrotrophic bacteria in raw and UHT-treated goat's milk. J Applied Bacteriology, 1988;64 (403):7.

Recibido: 06-04-2001

Aceptado: 27-08-2001

Tratamientos de desinfección de lechugas (*Lactuca sativa*) y frutillas (*Fragaria chiloensis*)

Luis López V, José Romero R. y Fernando Ureta V.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago. Chile

RESUMEN. La desinfección de verduras y frutas es un tratamiento, destinado a reducir la microflora presente en forma natural en estos alimentos o aquella que se incorpora a través de las distintas etapas que ocurren desde su cultivo, hasta que el producto sea expendido y consumido. En el presente trabajo se estudió la acción germicida de dos productos desinfectantes: el extracto de semilla de toronja (400 ppm) por 10 min y el ácido peracético (2000 ppm) por 1 min (tiempos de acción recomendados por el fabricante) y a otros tiempos adicionales, frente a la contaminación natural presente en lechugas (*Lactuca sativa*) y frutillas (*Fragaria chiloensis*), a través de la determinación de la eficacia germicida (%). En frutilla, se realizó una evaluación sensorial mediante la aplicación de un test de diferencia, test triangular, entre productos con y sin aplicación de los desinfectantes. Ninguno de los productos ensayados logró reducir en un 99,999% el nivel de contaminación presente, de acuerdo al test de Chambers. El ácido peracético resultó ser de mayor efectividad, dado que alcanzó porcentajes de destrucción mayores a menor tiempo de acción que el extracto de semilla de toronja. Sensorialmente no se observaron diferencias significativas al 5%, entre las muestras de frutilla con y sin aplicación de los productos desinfectantes, en las condiciones recomendadas por el fabricante.

Palabras clave: Desinfectantes, vegetales y frutas, evaluación sensorial.

SUMMARY. Disinfection treatments for lettuces (*Lactuca sativa*) and strawberries (*Fragaria chiloensis*). The disinfection of vegetables and fruits is a treatment applied in order to reduce their natural contamination or processes to the product along the different steps of the food chain until its consumption. In the present work the effect of two disinfectants products was studied: grapefruit seed extract (400 ppm) for 10 min and peracetic acid (2000 ppm) for 1 min (action times assayed according to the manufacturer recommendations) and other additional times. The germicidal action was carried out against the natural contaminants of lettuces and strawberries, through the determination of the germicidal efficiency (%). Treated and untreated strawberries were also evaluated for flavor changes through a sensorial difference test, triangular test. None of the assayed products reached the 99,999% destruction of the natural contaminants according to the Chambers test. Peracetic acid was the most effective disinfectant, reaching the highest destruction percentages at a time lower than that for grapefruit seed extract. Sensory analysis showed no significant differences ($p=0.05$) between strawberries with and without disinfection treatments, at the conditions suggested by the manufacturer.

Key words: Disinfectants, vegetables and fruits, sensory evaluation.

INTRODUCCION

La transmisión de enfermedades entéricas a través del consumo de vegetales y frutas contaminadas, es un problema conocido desde hace bastante tiempo. Esta contaminación proviene principalmente del agua de regadío, que puede ser un vehículo de transmisión de agentes tales como bacterias, virus y protozoos provenientes de material fecal humano y animal (1,2).

La microflora de los vegetales y frutas que crecen a ras del suelo está compuesta además, por microorganismos presentes en forma natural en el suelo y plantas en descomposición, y por agentes que son incorporados después de la cosecha a través de falta de higiene durante el almacenamiento, transporte, manipulación y exposición de los productos en los locales de expendio, las cuales pueden permitir y estimular el crecimiento

de agentes patógenos (1,2).

Existe una gran variedad de productos de uso doméstico e institucional, destinados a reducir la carga microbiana de estos vegetales y frutas. Entre ellos se encuentran derivados de amonio cuaternario y de halógenos, especialmente cloramina, cuya efectividad ya ha sido evaluada por los autores (3) demostrando que la mayor eficacia germicida la presentan los compuestos de acción oxidante, aunque no han alcanzado el 99,999% de destrucción considerado como adecuado en un buen proceso de desinfección.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la acción del extracto de la semilla de la toronja y del ácido peracético frente a la microflora natural presente en una hortaliza y en una fruta, lechuga (*Lactuca sativa*) y frutilla (*Fragaria chiloensis*), dado que ellos crecen a ras del suelo y además debido a su alto consumo, principalmente al estado crudo,

como así también determinar sensorialmente si existen alteraciones en el sabor de frutillas al usar estos desinfectantes.

MATERIALES Y METODOS

El estudio de la actividad antimicrobiana se realizó efectuando 5 repeticiones en días diferentes, de un pool compuesto de 5 unidades de lechuga y de 5 bandejas de 250 g de frutillas.

Las muestras de lechugas y frutillas fueron obtenidas de la vega central (mercado) de la ciudad de Santiago y fueron trasladadas al laboratorio en forma inmediata, manteniendo los productos en condiciones de refrigeración. Los análisis se realizaron al llegar las muestras al laboratorio. El período de tiempo transcurrido entre la obtención de las muestras y la realización de los ensayos no fue de más de 1 hora.

Los productos desinfectantes se estudiaron a la concentración de uso y tiempos de acción recomendados por el fabricante (*) y otros tiempos adicionales:

Extracto de semilla de toronja (A), 400 ppm y a 2, 5 y 10 (*) min de acción y

Acido peracético (B), 2000 ppm y a 1(*), 2 y 5 min de acción.

Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vivo*

a) Preparación de los productos desinfectantes: se prepararon los desinfectantes de acuerdo a las especificaciones del fabricante, utilizando agua potable de 300 ppm CaCO_3 de dureza y a temperatura ambiente (15°C).

b) Lavado de las muestras: las muestras de ambos productos se lavaron con agua de la llave durante 5 min y se trozaron en una tabla empleada para estos efectos, simulando los procedimientos efectuados a nivel doméstico o institucional.

c) Recuento inicial de la contaminación microbiológica: la contaminación inicial en cada alimento, se determinó después del lavado y previo a la desinfección, a través del recuento de aerobios mesófilos en placas utilizando Agar Plate Count, de acuerdo al Bacteriological Analytical Manual del Food and Drug Administration (4).

d) Tratamiento con los productos desinfectantes: posteriormente y previo escurrimiento del agua durante 30 seg, se pusieron en contacto con las soluciones de los desinfectantes en una proporción 1:10, y se fueron extrayendo muestras a los tiempos de acción establecidos. Se enjuagó con agua potable y se dejó escurrir por 30 seg. Se pesó 20 g de cada muestra, se suspendió en 180 ml de agua peptonada al 0,1% (pH $7,0 \pm 0,2$) y se sometió a una agitación mecánica durante 10 min, para lograr que la mayoría de los microorganismos presentes quedaran en suspensión. No se

consideró un posible efecto residual de los productos desinfectantes, asumiendo que su concentración sería reducida considerablemente tanto por el enjuague como por la dilución de la muestra en el agua peptonada y además para simular al máximo, el procedimiento efectuado a nivel doméstico e institucional.

e) Recuento de los sobrevivientes a la acción desinfectante: del sobrenadante se tomó alícuotas de 1 ml y se sembraron para determinar el recuento de aerobios mesófilos en Agar Plate Count, de acuerdo a la metodología recomendada por el Bacteriological Analytical Manual del Food and Drug Administration (4).

Los resultados se expresaron como eficiencia germicida porcentual (% E), calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Eficiencia (\%)} = \frac{N_0 - N_t}{N_0} \times 100$$

donde N_0 = número de microorganismos iniciales

N_t = número de microorganismos sobrevivientes a tiempo t

Como criterio de eficacia se utilizó lo estipulado por el test de Chambers, el cual considera como buen desinfectante un producto que, a la concentración recomendada, cause un 99,999% de muerte a una cantidad entre $7,5 \times 10^7$ y $1,3 \times 10^8$ células / ml en 30 seg (5).

Evaluación sensorial

La determinación se realizó sólo en frutillas, en el último pool de muestras. Por haber utilizado un panel de 14 jueces no entrenados, para detectar las diferencias entre las muestras con y sin tratamiento con desinfectante, se aplicó el Test Triangular (6), ya que presenta la menor probabilidad de acertar por azar (33,3%).

La evaluación se efectúa confeccionando una tabla de frecuencias para las respuestas correctas y falsas de cada juez y la validez de la evaluación se realiza por medio de la docimacia de hipótesis; en donde se establece la hipótesis nula (H_0) en que las muestras no presentan diferencias entre sí y la hipótesis alternativa, en que sí existen diferencias entre las muestras.

La docimacia de hipótesis se analiza por medio de la distribución chi cuadrado (χ^2), la cual para este test está determinada por la siguiente fórmula:

$$\chi^2 = \frac{[4a - 2f] - 3}{8n}$$

donde: a = aciertos

f = fallas

n = número de juicios = k x r

k = número de jueces

r = número de repeticiones

Si el valor calculado de χ^2 excede el tabulado, se concluye que H_0 no es válida pues se detectan diferencias y se señala el nivel de significación (5, 1 o 0,1%). Si por el contrario el χ^2 calculado es inferior al tabulado, se concluye que no hay evidencias suficientes para rechazar H_0 (6).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados presentados en las Tablas 1 y 2, corresponden a los recuentos iniciales y a los recuentos después del tratamiento con los productos desinfectantes en lechuga y frutilla, respectivamente. A continuación se discutirán los resultados en base a los valores promedios de las determinaciones efectuadas.

TABLA 1
Recuentos de aerobios mesófilos en lechuga a tiempo cero y después de ser tratadas con extracto de semilla de toronja (A) y ácido peracético (B)

Producto	Repeticiones	Recuento aerobios mesófilos (ufc/g)				
		0 min	1 min	2 min	5 min	10 min
A	1	$3,7 \times 10^5$		$5,8 \times 10^4$	$4,8 \times 10^4$	$12,0 \times 10^3$
	2	$4,4 \times 10^5$		$6,3 \times 10^4$	$5,4 \times 10^4$	$10,2 \times 10^3$
	3	$4,1 \times 10^5$		$6,9 \times 10^4$	$5,2 \times 10^4$	$9,2 \times 10^3$
	4	$4,6 \times 10^5$		$6,2 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	$9,3 \times 10^3$
	5	$3,0 \times 10^5$		$5,0 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	$9,0 \times 10^3$
		$X = 4 \times 10^5$ d.s.= 0,63		$X = 6 \times 10^4$ d.s.= 0,70	$X = 4,5 \times 10^4$ d.s.= 1,04	$X = 9,9 \times 10^3$ d.s.= 1,24
B	1	$3,7 \times 10^5$	$6,2 \times 10^4$	$9,9 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	
	2	$4,4 \times 10^5$	$4,8 \times 10^4$	$9,6 \times 10^3$	$0,8 \times 10^3$	
	3	$4,1 \times 10^5$	$5,9 \times 10^4$	$8,8 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	
	4	$4,6 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$	$9,6 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	
	5	$3,0 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$	$7,0 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	
		$X = 4 \times 10^5$ d.s.= 0,63	$X = 6 \times 10^4$ d.s.= 0,70	$X = 9 \times 10^3$ d.s.= 1,18	$X = 2 \times 10^3$ d.s.= 0,69	

TABLA 2
Recuentos de aerobios mesófilos en frutilla a tiempo cero y después de ser tratadas con extracto de semilla de toronja (A) y ácido peracético (B)

Producto	Repeticiones	Recuento aerobios mesófilos (ufc/g)				
		0 min	1 min	2 min	5 min	10 min
A	1	$2,0 \times 10^4$		$1,4 \times 10^3$	$2,9 \times 10^2$	$8,0 \times 10$
	2	$2,8 \times 10^4$		$0,8 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10$
	3	$2,5 \times 10^4$		$0,3 \times 10^3$	$3,6 \times 10^2$	$8,4 \times 10$
	4	$2,0 \times 10^4$		$1,5 \times 10^3$	$3,4 \times 10^2$	$11,0 \times 10$
	5	$0,5 \times 10^4$		$1,6 \times 10^3$	$3,3 \times 10^2$	$8,8 \times 10$
		$X = 2 \times 10^4$ d.s.= 0,88		$X = 1,1 \times 10^3$ d.s.= 0,55	$X = 3 \times 10^2$ d.s.= 0,63	$X = 9 \times 10$ d.s.= 1,16
B	1	$2,0 \times 10^4$	$3,2 \times 10^3$	$5,6 \times 10^2$	$4,1 \times 10$	
	2	$2,8 \times 10^4$	$2,0 \times 10^3$	$5,4 \times 10^2$	$4,0 \times 10$	
	3	$2,5 \times 10^4$	$2,8 \times 10^3$	$4,6 \times 10^2$	$2,8 \times 10$	
	4	$2,0 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$	$5,2 \times 10^2$	$4,4 \times 10$	
	5	$0,5 \times 10^4$	$3,8 \times 10^3$	$3,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10$	
		$X = 2 \times 10^4$ d.s.= 0,88	$X = 3,1 \times 10^3$ d.s.= 0,69	$X = 4,9 \times 10^2$ d.s.= 0,85	$X = 4 \times 10$ d.s.= 0,68	

Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vivo*

En lechugas (Tabla 3), la acción del extracto de semilla de toronja a los 2 min de contacto redujo en un 85,250% la contaminación inicial, a los 5 min en un 88,750% y solo alcanzó un 97,525% de destrucción de la microflora contaminante, al tiempo de acción recomendado (10 min). De acuerdo a las recomendaciones del fabricante, el ácido

peracético fue ensayado a un tiempo de acción de 1 min, el cual es menor que el recomendado para el extracto de semilla de toronja, presentando una efectividad de 85,000% de destrucción, sin embargo a los 2 min este % es de 97,761 y al dejar actuar el producto por 5 min, la efectividad se elevó a 99,501% superando el porcentaje de destrucción alcanzado por el otro producto en un tiempo de acción mayor.

TABLA 3
Recuentos promedios (log N de ufc/g) y Efectividad (%) de los tratamientos con extracto de semilla de toronja (A) 400 ppm y ácido peracético (B) 2000 ppm en lechugas y frutillas

Desinfectante	Tiempo (min)	Lechuga		Frutilla	
		log N (ufc/g)	Efectividad (%)	log N (ufc/g)	Efectividad (%)
A	0	5,6	—	4,3	—
	2	4,8	85,250	3,0	94,517
	5	4,6	88,750	2,5	98,506
	10*	4,0	97,525	2,0	99,550
B	0	5,6	—	4,3	—
	1*	4,8	85,000	3,5	84,500
	2	4,0	97,761	2,7	97,537
	5	3,3	99,501	1,6	99,798

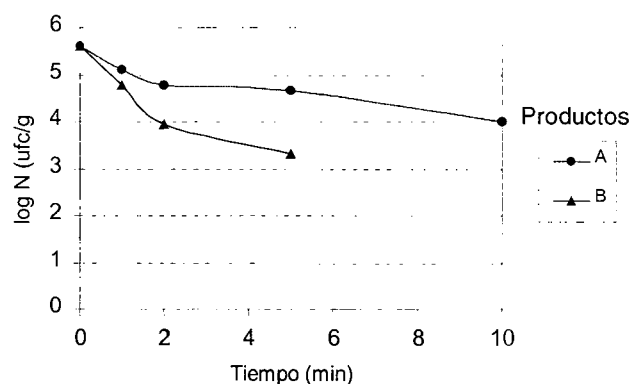
*Tiempo de acción recomendado por el fabricante

En la Tabla 3 y Gráfico 1, se observa que el recuento de microorganismos aerobios mesófilos iniciales en lechuga, $4,0 \times 10^5$ ufc/g (5,6 expresado como log N), después de estar en contacto durante 10 min con el producto A, no alcanzó a experimentar una reducción de 2 ciclos logarítmicos. Al usar el producto B, durante 1 min, no se logró reducir 1 ciclo logarítmico de la contaminación presente. Por lo tanto, de acuerdo al test de Chambers, criterio de eficacia utilizado, ninguno de los productos presentaría una acción desinfectante aceptable en lechugas, considerando además que los niveles de contaminación inicial fueron más bajos y que los tiempos de acción superaron los 30 seg establecidos.

En frutillas y considerando que la carga microbiana inicial fue menor que en lechugas (Tabla 3), el producto A a los 10 min recomendados por el fabricante, presentó una eficacia de 99,550%, a los 5 min una reducción de 98,506% y a los 2 min un 94,517% de eficiencia. La acción del producto B fue solo de 84,500%, al tiempo de acción recomendado (1 min), de 97,537% a los 2 min y aumentó a 99,798% a los 5 min de contacto.

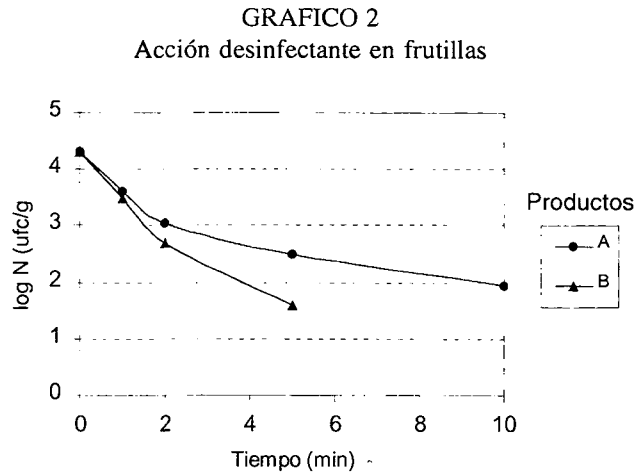
A los tiempos de acción recomendados, la reducción de la contaminación inicial de frutilla, $2,0 \times 10^4$ ufc/g (4,3 expresado como log N), fue mayor en el caso del producto A, en el que se disminuyó más de 2 ciclos logarítmicos, que lo observado en el producto B, en que no se alcanzó a reducir en 1 ciclo la contaminación presente (Tabla 3 y Gráfico 2). De igual forma que en lechugas, los productos no podrían ser considerados como buenos desinfectantes, de acuerdo al criterio de eficacia utilizado.

GRAFICO 1
Acción desinfectante en lechugas



Los resultados obtenidos concuerdan con otros trabajos similares, en los cuales se postula que ningún tratamiento químico o físico usado corrientemente para desinfectar frutas y vegetales puede ser confiable para eliminar todo tipo de patógenos de los tejidos superficiales o internos (1).

En este caso es importante considerar además, que aunque el recuento inicial de microorganismos aerobios mesófilos, pudiera parecer aceptable (10^5 y 10^4 ufc/g en lechuga y frutilla, respectivamente), solo da una visión general de la cantidad de bacterias presentes, pudiendo existir la posibilidad que se encuentren entre ellas enterobacterias patógenas (*Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7).



En forma general se podría establecer que comparativamente presentaría una mayor eficacia el producto B, debido a que a un menor tiempo de acción (5 min) logra un mayor porcentaje de destrucción de los contaminantes presentes. Como agente oxidante, su acción antimicrobiana es similar a la que presenta el peróxido de hidrógeno, es decir ataca la membrana citoplasmática y denatura enzimas por oxidación de grupos sulfhidrilos y aminos asociados con las moléculas aminoacídicas (7).

Evaluación sensorial

En la Tabla 4 se presenta la respuesta de los jueces a la evaluación sensorial de frutilla con y sin tratamiento de desinfección.

TABLA 4

Respuesta de los jueces a la evaluación sensorial de frutilla con y sin tratamiento de desinfección

Juez	Producto A		Producto B	
	Aciertos	Fallas	Aciertos	Fallas
I	0	3	1	2
II	1	2	1	2
III	1	2	2	1
IV	1	2	0	3
V	2	1	1	2
VI	1	2	2	1
VII	0	3	1	2
VIII	1	2	1	2
IX	1	2	0	3
X	2	1	0	3
XI	1	2	3	0
XII	2	1	3	0
XIII	2	1	2	1
XIV	1	2	1	2
Totales	16	26	18	24

Para el caso del producto A, la cantidad total de aciertos obtenidos por el panel fue 16, lo cual es menor que el valor tabulado para 42 juicios a un nivel de significación del 5%, que es de 21, de acuerdo a la tabla de Significación para Test Triangular, $p=1/3$ (6). Además el valor de chi cuadrado obtenido (0,24), fue menor que el tabulado para un nivel de significación del 5%, lo que indica que entre las muestras con y sin tratamiento de desinfección existe dificultad para identificar una de otra.

Al tratar las frutillas con el producto B, tampoco se detectaron diferencias significativas entre los productos con y sin aplicación del desinfectante, dado que la cantidad de aciertos obtenidos por el panel fue de 18, menor al tabulado para 42 juicios a un nivel de significación del 5% y el chi cuadrado fue de 1,31, menor al tabulado para un nivel de significación del 0.05.

Estos resultados permiten establecer, que usando estos productos a las concentraciones y tiempos establecidos por el fabricante, no se vería afectada la calidad sensorial de la frutilla, lo cual ya había sido demostrado en el caso de manzanas sumergidas en mezclas de ácido láctico y peróxido de hidrógeno, por otros autores (8).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El desinfectante A, en el tiempo señalado por el fabricante (10 min) mostró una efectividad de 97,525% para lechugas y 99,550% para frutillas.

El desinfectante B, en el tiempo indicado por el fabricante (1 min) mostró una efectividad de 85% para lechugas y 84,500% para frutillas. Cuando el tiempo de acción fue de 5 min, su efectividad se elevó a 99,501% y 99,798% para lechugas y frutillas, respectivamente.

Para lograr una mayor eficiencia del desinfectante B, se recomienda un tiempo de acción de 5 min.

En la evaluación sensorial de frutillas, no se detectaron diferencias significativas entre las muestras con y sin aplicación de los desinfectantes A y B, en las concentraciones y tiempos establecidos por el fabricante.

Considerando los resultados microbiológicos y sensoriales del presente trabajo, sería recomendable, efectuar estudios en los cuales se prolongara el tiempo de acción de los productos, para lograr una mayor eficiencia en la destrucción de los contaminantes iniciales de este tipo de productos alimenticios, reduciendo de esta forma el riesgo potencial de presencia de posibles patógenos entéricos y efectuando además pruebas sensoriales tendientes a determinar si existen modificaciones en los parámetros organolépticos, a través de test de detección de diferencias entre los productos con y sin desinfección.

Es recomendable efectuar estudios de reto microbiano con *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7.

REFERENCIAS

1. Richardson K, George B. Food Safety and Hygiene. Food Science Australia. 2000.
2. Marriott N. Essentials of Food Sanitation. Chapman & Hall, International Thompson Publishing, New York. 1997.
3. López L, Romero J, Urbina J. Eficiencia de desinfectantes en vegetales y frutas. Alimentos 1988; 13(1):25-30
4. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. AOAC International. Gaithersburg, MD. USA.1995.
5. Ayres JC, Mundt JO, Sandine WE. Microbiology of Foods. San Francisco: WH Freeman & Co. 1980.
6. Wittig E. Evaluación Sensorial: Una metodología actual para tecnología de alimentos. Talleres Gráficos USACH. Santiago Chile. 1981.
7. Garbutt J. Essentials of Food Microbiology. Arnold International Student's Edition. London. 1997.
8. McWatters KH, Doyle MP, Venkitanarayanan KS, Bailey HB. Effect of an antibacterial wash treatment on the sensory quality of raw apples. Research Programs, Center for Food Safety and Quality Enhancement. College of Agricultural and Environmental Sciences. University of Georgia, USA. 1999.

Recibido: 02-02-2001

Aceptado: 05-10-2001

Efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*)

Vilma Quitral, Lilian Abugoch, Julia Vinagre y M^a Angélica Larraín

Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.
Universidad de Chile. Santiago, Chile

RESUMEN. Se estudió el efecto de distintos tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora. La carne se extrajo de las pinzas del recurso, que provenía de la V región de Chile, la carne fresca se mantuvo en frío hasta que se procesó térmicamente en envases de hojalata. Se aplicó un diseño estadístico 3² en el que se consideraron las variables temperatura (80°C, 100°C y 121°C) y tiempo (15, 30 y 45 minutos). Se obtuvieron 9 condiciones temperatura –tiempo de trabajo. Las propiedades nutricionales se estudiaron en base al contenido de lisina disponible, la que disminuye su valor desde 8,33 g/g proteína obtenido en carne cruda hasta 6,01 g/g proteína en la carne sometida a las condiciones térmicas más drásticas. Se concluye que el tiempo de calentamiento afecta más el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora, que la temperatura de calentamiento, por lo tanto los tratamientos térmicos de altas temperaturas y cortos tiempos son mejores para mantener la calidad nutritiva.

Palabras clave: Jaiba, lisina disponible, tratamiento térmico.

SUMMARY. Effect of high temperature treatments on the available lysine of mora crab meat. The effect of different high temperatures treatments on the available lysine content of mora crab meat, was studied. Fresh pincer meat from mora crab (from the V region) was extracted and kept in ice until the thermal process of the canned product. A 3² statistical design was applied, considering the following variables temperature (80°C, 100°C and 121°C) and time (15, 30 and 45 minutes). Nine conditions temperature-time were obtained. Nutritional properties from available lysine were studied. A decrease from 8.33 (in raw meat) to 6.01 g/g protein in the most drastic thermal conditions, was observed. It can be concluded that the content of available lysine in mora crab meat is more affected by time than by the temperature of the thermal treatments. Therefore the nutritive quality can be maintained applying high temperature and short time treatments.

Key words: Crab, available lysine, thermal treatment.

INTRODUCCION

Los recursos marinos en Chile tienen gran importancia especialmente desde dos puntos de vista: como fuente de proteínas para la alimentación y como una fuente de divisas importante para el país.

Del total de desembarques en Chile en el año 1999 un 97,2% corresponde a pescados, 2,1% a moluscos y 0,7% a crustáceos con un total de 38.870 toneladas (1).

Los crustáceos son un recurso interesante de industrializar debido a que son muy apetecidos (2,3).

El recurso seleccionado para este estudio corresponde al crustáceo jaiba mora (*Homalaspis plana*) que es una de las más representativas en las capturas de la V región de Chile, aunque se encuentra distribuida desde Guayaquil en Ecuador hasta el Estrecho de Magallanes e Isla Robinson Crusoe en Chile, y desde la orilla de la playa hasta los 272 metros de profundidad (3). La jaiba mora tiene un alto valor nutritivo asociado a su gran contenido proteico que fluctúa entre 16,5 y 20,3 g proteína/100g muestra (2-4), y una composición aminoacídica balanceada (5).

Los alimentos proteicos de origen animal poseen un

exceso relativo de aquellos aminoácidos que faltan en las proteínas de origen vegetal, por lo que una pequeña cantidad de proteína animal complementará las proteínas de una dieta vegetal (6).

Las proteínas sufren desnaturalización, que es una modificación de su conformación, por diversos factores dentro de los que se encuentra el calor (7,8), además las proteínas de productos marinos son más susceptibles a la desnaturalización que las proteínas de carne roja (9). Al aplicar tratamientos térmicos a los alimentos se causa alteración química de residuos de aminoácidos y se produce formación de nuevos enlaces covalentes intra o intermoleculares. Estos cambios pueden alterar las propiedades nutritivas y funcionales de las proteínas (10-13) y dependen de las condiciones de tiempo y temperatura de los tratamientos aplicados (14,15).

La calidad nutritiva puede ser evaluada por digestibilidad de proteínas y por lisina disponible, que se usan como indicadores (13,16).

El contenido de lisina disminuye por efecto del calor, lo que se atribuye a una reacción que ocurre entre el grupo ξ -amino de lisina y el grupo amino de asparragina y glutamina,

ocasionando un enlace cruzado que disminuye el valor nutritivo por impedimento del ataque enzimático (12,17-19). Por efecto del calor también se producen reacciones de entrecruzamiento entre cadenas de polipéptidos por acilación de grupos amino libres, lo que da como resultado una disminución de lisina disponible (20). Lisina se considera nutricionalmente disponible solamente si su grupo ξ -amino está libre (21).

También por efecto del calor se produce reacción entre aminoácidos y azúcares reductores, conocida como reacción de Maillard, la que presenta la desventaja de disminuir el valor nutritivo de los alimentos ya que disminuye la disponibilidad de aminoácidos (7, 22, 23) y lisina es el aminoácido más reactivo en esta reacción (24).

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de distintos tratamientos térmicos (variando tiempo y temperaturas) sobre el contenido de lisina en carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*).

MATERIAL Y METODOS

Materia prima

La especie en estudio correspondió a jaiba mora (*Homalaspis plana*) obtenidas al estado vivo, procedentes de las costas de la V región de Chile. El peso de los ejemplares fluctuó entre 500 a 700 g. Se extrajo la carne de las pinzas y se mantuvo en baño de hielo hasta realizar los análisis de carne fresca y el envasado de las muestras que se procesaron térmicamente.

Tratamiento de las muestras

Se utilizaron envases de hojalata de formato 65 x 40 mm, los que se llenaron con 80 g de carne de jaiba y 10 g de agua destilada como medio de empaque para mejorar la transferencia de calor al interior del tarro posteriormente se sellaron herméticamente.

Las muestras que se sometieron a 80° y 100°C se colocaron en baño termorregulado por el tiempo necesario, luego se enfriaron y se mantuvieron a temperatura ambiente en un lugar seco para su posterior análisis. Las muestras que se sometieron a 121°C se colocaron en autoclave a presión donde se alcanzó esta temperatura con vapor. Luego se enfriaron y se procedió igualmente que con las muestras anteriores.

Para cada condición temperatura - tiempo se envasaron 2 muestras de carne de jaiba y se realizaron análisis por duplicado.

Diseño experimental

Se aplicó un diseño estadístico 3^2 que permite obtener un modelo cuadrático con el cual optimizar el sistema. Se consideran las siguientes variables:

- a) temperatura: 80° , 100° y 121°C
 b) tiempo: 15 , 30 y 45 minutos

Se aplicó análisis de varianza multifactorial con el programa estadístico Statgraphics con nivel de confianza de 95%. Se determinaron diferencias significativas entre los tratamientos con el test de rango múltiple, utilizando test de Duncan.

Análisis de Lisina disponible

La determinación de Lisina disponible se determinó por un método sin hidrólisis de acuerdo a Contreras (25).

Las muestras homogeneizadas se colocan en tubos con tapa hermética, se adiciona ácido 2,4,6 trinitrobenzeno sulfónico (TNBS) y se agita por 60 minutos, luego se adiciona exceso de glicina para acomplejar el TNBS sobrante y se precipitan las proteínas con ácido tricloroacético. Los cromóforos en solución se extraen en butano/tolueno y se evalúan a 345 nm. Paralelamente un tubo con TNBS y glicina pero sin muestra, permite conocer el color correspondiente a los mg de TNBS iniciales. La diferencia entre estas dos lecturas permite obtener el valor en mg del TNBS consumido por las proteínas.

El método ha entregado resultados con excelente correlación con datos de literatura.

RESULTADOS Y DISCUSION

La carne cruda de jaiba mora presenta una concentración de lisina disponible de $1,776 \pm 0,03$ g/100 g muestra, valor superior al que presentan jaiba alaska rey y jaiba azul, con valores de 1,592 y 1,572 g/100 g muestra respectivamente, también supera levemente las concentraciones de lisina de otros crustáceos como langosta y camarón con concentraciones de 1,636 y 1,768 g/100g muestra respectivamente (5).

Al comparar la concentración de lisina (g/100 g muestra) en carne de jaiba mora cruda con otro tipo de alimentos, (26) nos encontramos que es alto, como se presenta en la Tabla 1, sólo es superado por el músculo de vacuno, y presenta valores muy similares con filete de cerdo y pescado, estos alimentos son ricos en contenido proteico, al igual que la carne de jaiba mora. Los cereales presentan un contenido proteico menor, por lo tanto su aporte en lisina es también más bajo respecto a los alimentos ya mencionados, además, lisina es un aminoácido limitante en cereales (27); por lo tanto la carne del crustáceo en estudio presenta alto valor nutritivo, ya que lisina se usa como indicador del valor nutritivo en alimentos (13,16).

TABLA 1
Contenido de lisina en alimentos

Alimento	Lisina (g/100 g muestra)
Jaiba mora cruda	1,78
Leche de vaca	0,25
Huevo	0,85
Músculo de vacuno	1,90
Filete de cerdo	1,76
Pescado	1,76
Avena	0,33
Arroz	0,24
Germen de trigo	0,51
Patatas	0,16

En la Tabla 2 se presentan las concentraciones de lisina en las muestras tratadas térmicamente y se observa que la concentración de lisina en la carne cruda es mayor que en las muestras tratadas y a medida que los tratamientos son más drásticos disminuye más aún el contenido de lisina.

TABLA 2
Contenido de lisina (g/g proteína) en carne de jaiba mora (*Homolaspis plana*) tratada térmicamente.

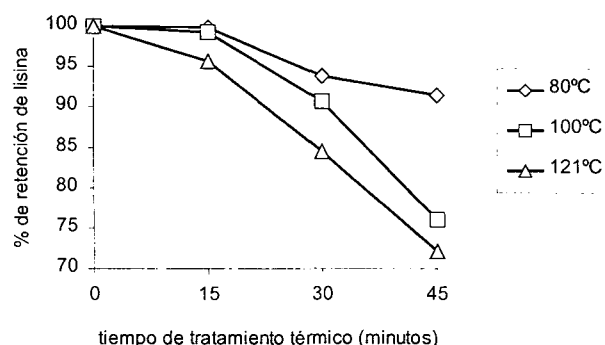
Muestra	Tratamiento térmico (°C - min)	Lisina
1	80 - 15	8,32 ± 0,26
2	80 - 30	7,81 ± 0,06
3	80 - 45	7,61 ± 0,14
4	100 - 15	8,26 ± 0,06
5	100 - 30	7,55 ± 0,07
6	100 - 45	6,33 ± 0,15
7	121 - 15	7,96 ± 0,11
8	121 - 30	7,04 ± 0,12
9	121 - 45	6,01 ± 0,19
10	Muestra fresca	8,33 ± 0,14

El valor nutritivo de los alimentos disminuye por tratamientos térmicos ya que el efecto del calor sobre las proteínas es en primer lugar modificar uniones entre aminoácidos, tardando su desprendimiento durante la digestión, en segundo lugar se pueden formar uniones entre aminoácidos y otras sustancias lo cual previene la digestión de las proteínas y hay aminoácidos que pueden ser destruidos por oxidación (28).

De los resultados obtenidos se realizó análisis de varianza y se determinó que existen diferencias significativas entre las concentraciones de lisina de las muestras tratadas a 80° y 121°C y respecto a los tiempos de tratamientos térmicos, la diferencia está dada por 15 y 45 minutos.

La Figura 1 indica la variación del porcentaje de lisina disponible en las muestras de carne de jaiba tratada térmicamente.

FIGURA 1
Retención de lisina disponible en carne de jaiba mora (*Homolaspis plana*) tratada térmicamente



Como se observa en la Figura 1, se produce disminución en el contenido de lisina por efecto de los tratamientos térmicos, llegando a disminuir hasta en 72,1% en el caso más extremo. Se observa además que se produce mayor disminución por efecto del tiempo que por efecto de la temperatura de los tratamientos térmicos. Si se compara la muestra tratada a 121°C por 15 minutos (95,8% retención de lisina), con la muestra tratada a 80°C por 45 minutos (91,4% retención de lisina), se observa que este último tratamiento produce mayor pérdida de lisina. En el caso de alimentos enlatados, el proceso de esterilización afecta la disponibilidad de lisina en forma proporcional a la concentración del aminoácido y duración del tratamiento térmico (29).

Según Fernández-Artigas et al. (27) la disminución de lisina es más alta cuando el contenido de lisina disponible en proteína total es más alto, lo que ocurre en la carne de jaiba mora.

Al someter un alimento a altas temperaturas se facilita el desplegamiento y disociación de proteínas, produciéndose mayor exposición de grupos amino libres a la superficie molecular, pero al prolongar el calentamiento, las moléculas de proteína desplegada interactúan para formar agregados, bloqueando los grupos amino libres de lisina (20).

Al comparar los resultados obtenidos con los de otros autores que trabajaron con alimentos tratados por calor se comprueba que se pierde menos lisina al someter los alimentos a altas temperaturas y por corto tiempo, este tipo de tratamiento se conoce como HTST (high temperature short time) (13,18,21). En el caso de leche, se pierde entre 1-2% de lisina disponible por efecto de la pasteurización y 2-4% por esterilización UHT, sin embargo, tratamientos más

severos como concentración por evaporación a alta temperatura o esterilización en tarro pueden causar pérdidas de más de 20% (14).

En el caso de carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*) se recomiendan tratamientos térmicos de altas temperaturas por cortos períodos de tiempo para lograr el efecto letal sobre microorganismos que permita consumir el producto y evitar al mismo tiempo una excesiva disminución de lisina disponible.

CONCLUSIONES

La carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*) presenta alto contenido de lisina disponible comparada con otros alimentos, y por efecto de los tratamientos térmicos de altas temperaturas esta concentración disminuye, producto de reacciones entre lisina y otros aminoácidos y con azúcares reductores en la reacción de Maillard.

El tiempo de calentamiento disminuye más el contenido de lisina en la carne de jaiba mora que la temperatura, por lo tanto, son mejores los tratamientos térmicos de altas temperaturas por cortos tiempos para mantener la calidad nutritiva de alimentos tratados por calor.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el Proyecto PG-069-97 del DID de la Universidad de Chile.

REFERENCIAS

- SERNAPESCA. Anuario estadístico de Pesca 1999. República de Chile. Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción. 2000.
- Abugoch LE, Barrios FJ y Guarda A. Determinación de la Composición químico-proximal y de las propiedades funcionales de carne de pinzas de jaiba (*Homalaspis plana*) recién extraída. Arch Latinoamer Nutr. 1996; 46 (4):309-314
- Barrios FJ, Abugoch L y Guarda A. Composición química de las distintas secciones anatómicas y determinación de la variación de pH post mortem de la jaiba mora (*Homalaspis plana*). Rev Alimentos 1995; 20 (1.2): 15 - 23
- IFOP. Catálogo tecnológico de las principales materias pesqueras de Chile. 1983; pp 106-111
- USDA. Composition of Foods: Finfish and shellfish products. N 8-155.1987
- Bender A. E. Nutrición y Alimentos dietéticos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 1977; pp 124
- Belitz HD y Grosch W. Química de los Alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. 1988; 19-20, 233.
- Dondero M. Bioquímica y tecnología de la aplicación del frío en alimentos. Ediciones Universitarias de Valparaíso. Valparaíso, Chile. 1990; pp 37-38, 41-43
- Kolakowski E y Wiannecki M. Thermal denaturation and aggregation of proteins in minced fish as studied by a thermomechanical method. J. Food Sci. 1990; 55(5): 1477-1479
- Phillips RD y Finley JW. Protein quality and the effects of processing. Marcel Dekker, Inc, U.S.A. 1989; pp 1-7, 125-143.
- Thompson DR. The challenge in predicting nutrient changes during food processing. Food Technol. 1982; 36: 97- 108
- Batterham ES y Darnell RE. Effect of pressure and temperature on the availability of lysine in meat and bone meal as determined by slope-ratio assays with growing pigs, rats and chicks and by chemical techniques. Br J Nutr. 1986; 55, 441-453
- Banga JR, Alonso A, Gallardo JM y Pérez-Martín R. Degradation kinetics of protein digestibility and available lysine during thermal processing of tuna. J Food Sci. 1992; 57 (4) : 913 - 915.
- Fennema OR. Food Chemistry. 2th Ed. Marcel Dekker. Inc. U.S.A. 1985; pp246, 343-345, 854.
- Chan J.K, Gill TA y Paulson A.T. Thermal aggregation of myosin subfragments from cod and herring. J Food Sci. 1993; 58 (5): 1057 - 1061.
- Erbersdobler H. Factors influencing uptake and utilisation of macronutrients. Nutrient Availability: Chemical & Biological Aspects. AFRC Institute of Food Research, Norwich. 1989
- Varnish SA y Carpenter J. Mechanism of heat damage in proteins. Br J Nutr. 1975; 34: 325-337.
- Seet ST, Heil JR, Leonard SJ y Brown WD. High vacuum flame sterilization of canned diced tuna: preliminary process development and quality evaluation. J Food Sci. 1983; 48: 364-369.
- Carnovale E, Lombardi-boccia G, Di Lulo G y Campelloni M. In vitro iron and protein availability from meals. AFRC Institute of Food Research, Norwich. 1989.
- Kwok K-Ch, Shiu Y-W, Yeung C-H y Niranjana K. Effect of thermal processing on available lysine, thiamine and riboflavin content in soymilk. J Sci Food Agric. 1998; 77: 473-478.
- Tsao T, Frey AL y Harper JM. Available lysine in heated fortified rice meal. J Food Sci 1978; 43: 1106-1108.
- Konstance RP, Onwulata CI, Smith PW, Lu D, Tunick MH, Strange ED y Holsinger VH. Nutrient-based corn and soy products by twin-screw extrusion. J Food Sci. 1998; 63 (5): 864-868
- Wijewickreme AN y Kitts DD. Oxidative reactions of model maillard reaction products and α -tocopherol in a flour-lipid mixture. J Food Sci. 1998; 63 (3): 466-471
- Wang N, Bhirud PR y Tyler RT. Extrusion texturization of air-classified pea protein. J Food Sci. 1999; 64 (3): 509-513
- Contreras E. A new approach to evaluation of fish meal quality by reaction with 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid. Cap.19. In : Advances in extrusion technology. Yoon Kil Chang y Shaw S. Wang. Technomic Publishing Company Inc. Lancaster. U.S.A. 1999
- Schmidt-Hebbel H y Pennacchiotti I. Tabla de composición química de alimentos chilenos. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 1985; pp34-36, 38-39.
- Fernández-Artigas P, García-Villanova B y Guerra-Hernández E. Blockage of available lysine at different stages of infant cereal production. J Sci Food Agric. 1999; 79: 851-854.
- Ford DJ. The effect of methods of sterilization on the nutritive value of protein in a commercial rat diet. Br J Nutr. 1976; 35: 267-276
- Camacho L, Bañados E y Fernández E. Enlatado de "humitas" preparadas con maíz opaco-2 complementado con lupino dulce (*Lupinus albus*). Cambios nutricionales y de calidad. Arch Latinoamer Nutr. 1989;39(2):185-199.

Recibido: 11-04-2001

Aceptado: 20-09-2001

Atividade inibitória de tripsina do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): avaliação crítica dos métodos de determinação

Maria Inés Genovese and Franco M. Lajolo

Depto. de Alimentos e Nutrição Experimental - Fac. Ciências Farmacêuticas. USP.

RESUMO. Altos valores de atividade inibitória de tripsina residual encontrados para feijões submetidos a tratamento térmico indicaram que estes poderiam ser decorrentes de artifícios da metodologia utilizada e não de inibição específica. Dessa forma, realizou-se uma avaliação crítica dos métodos em uso e de possíveis interferentes, visando determinar se justificariam a variabilidade de resultados e tentando estabelecer o modo mais adequado de determinar a atividade inibitória residual de feijões. Os resultados mostraram que o meio de extração dos inibidores, o pH da reação e as condições de preparo da amostra são responsáveis por alterações significativas dos valores de atividade inibitória encontrados, necessitando cuidadosa padronização. Este é o primeiro relato sobre a influência da liofilização da amostra sobre a atividade inibitória de tripsina residual de feijões cozidos.

Palavras-chave: Atividade inibitória de tripsina, feijões, métodos de determinação, interferentes.

SUMMARY. Trypsin inhibitory activity of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.): critical evaluation of methods for determination.

High values of residual trypsin inhibitory activity found for heat-treated beans indicated the occurrence of artifices due to the methodology. A critical evaluation of the methods in use and of possible interferents was performed trying to determine the most adequate way of measuring residual trypsin inhibitory activity. Results showed that extraction conditions, pH of reaction and sample preparation are responsible for significant alterations of the values found, requiring careful standardization. This is the first report about the influence of lyophilization upon residual trypsin inhibitory activity of cooked beans.

Key words: Trypsin inhibitory activity, dry beans, determination, interferences.

INTRODUÇÃO

O feijão é amplamente consumido na América Latina e representa uma importante fonte de nutrientes, principalmente proteínas. No entanto, apesar de conter entre 20 e 30% de proteínas, estas apresentam um valor nutricional baixo, resultado da sua baixa digestibilidade e do seu baixo teor e biodisponibilidade de aminoácidos sulfurados. Além dos fatores relacionados à própria estrutura das proteínas, a presença de fatores anti-nutricionais como inibidores de proteases tem sido implicada na baixa digestibilidade das proteínas do feijão, tornando necessária a sua inativação (1, 2).

Os inibidores de proteases do feijão são do tipo Bowman-Birk e apresentam estrutura compacta e elevada resistência à inativação térmica, maior na forma purificada do que na matriz da semente, e são os responsáveis pela reduzida digestibilidade *in vitro* da fração albumínica e de misturas contendo albuminas e faseolina (2-4).

As diversas práticas culinárias e de processamento industrial e a possibilidade de elaboração de produtos como farinhas e sopas destinados à alimentação infantil tornam necessários conhecimentos sobre eventuais quantidades residuais e segurança metodológica para essa avaliação.

Nesse aspecto, porém, a literatura não é conclusiva e não

há, como no caso da soja, uma metodologia especialmente desenvolvida e amplamente aceita para a avaliação da inativação térmica desses inibidores no feijão. Os métodos mais comumente utilizados baseiam-se na determinação espectrofotométrica da inibição *in vitro* da ação de tripsina purificada sobre um substrato, natural ou sintético, causada por um extrato do alimento em questão. Para altos valores de inibição, como os encontrados para amostras cruas, os resultados mostram-se confiáveis, precisos e reprodutíveis. No entanto, para valores baixos, diminuição na precisão e ocorrência de inibição não-específica causada por outros componentes da amostra tem sido relatadas (5).

Este trabalho teve como objetivos determinar a atividade inibitória de tripsina residual de feijões na forma como são comumente consumidos, bem como avaliar a adequação das técnicas em uso para sua avaliação.

MATERIAIS E METODOS

Materiais

O feijão (*Phaseolus vulgaris*) utilizado foi o da variedade Carioca, fornecido pelo Instituto Agrônomo de Campinas, cuja umidade era de $9,9 \pm 0,1\%$. A amostra foi moída em moinho Janke & Kunkel A-10 (Ika® Works, Inc., Wilmington,

E.U.A.) e passada em peneira 60 mesh (0,25 mm). A farinha assim obtida apresentou um conteúdo protéico de $23,24 \pm 0,64\%$ (N x 6,25; base úmida (b.u.)), determinado através do método de Kjeldahl (6). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A tripsina, EC 3.4.21.4 (T-8253, 12700 unidades/mg proteína), foi obtida da Sigma Chemical Co. (St. Louis, E.U.A.), assim como o BAPNA (N α -benzoi-DL-arginina p-nitroanilida, B-4875). As amostras das outras variedades de feijão estudadas foram fornecidas pela EMBRAPA. Os tipos, variedades, origem e teor protéico (N x 6,25, b.u.) são apresentados a seguir. **Feijão Preto:** Rio Tibagi (CNPAF, $22,36 \pm 0,23\%$), Xamego (CNPAF, $21,96 \pm 0,34\%$); **feijão Carioca:** Aporé (CNPAF, $21,19 \pm 0,39\%$), Carioca Mg (ESAL, $22,02 \pm 0,25\%$); **feijão Jalo:** Emgopa 201-ouro (CIAT, $21,03 \pm 0,14\%$); Jalo Precoce (CNPAF, $25,72 \pm 0,29\%$); **feijão Roxo:** Roxo 90 (ESAL, $22,77 \pm 0,61\%$); **feijão vermelho-escuro:** Safira (CNPAF, $23,50 \pm 0,55\%$).

Cozimento do feijão

Amostras de feijão (~100 g) foram submetidas ao cozimento em água destilada em condições variadas, previamente deixadas de molho ou não. Os feijões foram deixados de molho em água destilada (1:9 m/v) por 14 horas, após o qual a água foi descartada. Após nova adição de água destilada (1:9 m/v), os feijões foram cozidos a 100°C ou autoclavados a 121°C (15 psi), por tempos variados. As amostras foram então congeladas e liofilizadas com a água de cocção, e homogeneizadas em moinho Janke & Kunkel A-10 até passar em peneira 60 mesh (0,25 mm). Alternativamente, logo após o cozimento os feijões foram resfriados até atingirem a temperatura ambiente, após o qual procedeu-se à extração de proteínas, como descrito abaixo.

Extração das proteínas do feijão

Amostras cruas e amostras cozidas liofilizadas. A extração das proteínas do feijão cru e tratado termicamente, para a determinação da atividade inibitória de tripsina, foi feita agitando-se, durante 3 horas à temperatura ambiente, um grama da farinha de feijão cru ou do feijão cozido liofilizado (60 mesh) em 50 ml de hidróxido de sódio 0,01 N, como recomendado por Kakade *et al.* (7) para derivados de soja. A suspensão foi então centrifugada (30.000 g/30 min, 4°C) e o sobrenadante utilizado para a determinação do teor protéico pelo método de Lowry *et al.* (8), usando-se albumina de soro bovino como padrão. Alternativamente, utilizou-se ácido sulfúrico 0,25 N ou água destilada para efeito de comparação da capacidade extratora. Para a determinação da atividade inibitória de tripsina, os extratos foram diluídos com água destilada (em geral 1/5, para feijões cozidos, e 1/10, para feijões crus), sendo que o extrato ácido teve seu pH previamente ajustado para 8,2.

Amostras cozidas não liofilizadas. Os feijões foram

homogeneizados juntamente com a água de cocção, durante 2 a 4 min, com homogeneizador tipo Ultra-Turrax (Polytron® - Kinematica GmbH, Kriens-Luzern, Suíça), logo após o seu cozimento. A seguir adicionou-se NaOH de forma a obter-se concentração final de 0,01N, e a suspensão foi mantida sob agitação por três horas à temperatura ambiente. Os extratos assim obtidos foram utilizados para a determinação da atividade inibitória de tripsina, após diluição 1/5 com água destilada.

Atividade inibitória de tripsina

A atividade inibitória de tripsina foi determinada de acordo com Kakade, Simons & Liener (9) usando benzoi-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) como substrato: 0,2 a 1,0 ml das soluções protéicas foram pipetados, em triplicata, e o volume final ajustado para 1,0 ml com água destilada. A cada tubo, previamente acondicionado em banho-maria a 37°C, adicionaram-se 1,0 ml da solução de tripsina (0,05 mg/ml de HCl 0,001 N) e, após 5 min., 7,0 ml de BAPNA (0,3 mg/ml de tampão Tris 50 mM, pH 8,2, contendo CaCl₂ 20 mM), previamente aquecido a 37°C. A reação foi interrompida após 10 min pela adição de 1 ml de ácido acético 30% e a absorbância lida a 410 nm, contra os brancos de reação aos quais adicionou-se o ácido acético antes do BAPNA. Uma unidade de tripsina foi definida arbitrariamente como um aumento de 0,01 unidades de absorbância a 410 nm por 10 ml do meio de reação. Alternativamente, utilizou-se caseína 1% em tampão fosfato 0,1M pH 7,6 como substrato para a tripsina, de acordo com Kakade, Simons & Liener (9), sendo uma unidade de tripsina definida arbitrariamente como um aumento de 0,01 unidades de absorbância a 280 nm em 20 min por 10 ml do meio de reação. Os resultados foram expressos como unidades inibitórias de tripsina (UIT) por mg de proteína, sendo uma unidade inibitória responsável pela inibição de uma unidade de tripsina.

Eletroforese em condições dissociantes (SDS-PAGE)

A eletroforese em presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) foi feita de acordo com Laemmli (10), utilizando-se concentração de 12% de poliácridamida para o gel de separação e sistema de eletroforese Mini-Protean II da Bio-Rad. Os géis foram corados com Coomassie Blue R. O padrão de peso molecular utilizado foi o Dalton Mark VII-L, da Sigma Chem. Co. (St. Louis, E.U.A.), que consiste de α -lactalbumina (14,3 kDa), inibidor de tripsina de soja (20,1 kDa), tripsinogênio (24 kDa), anidrase carbônica (29 kDa), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (36 kDa), albumina de ovo (45 kDa), e albumina bovina (66 kDa).

Eletroforese em condições nativas com revelação para inibidores de tripsina

A eletroforese em condições nativas foi realizada de

acordo com o método de Davis (11), em gel de poliácridamida. A revelação dos inibidores de tripsina nos géis foi feita de acordo com Uriel & Berges (12). Após a corrida, a placa foi incubada com solução de tripsina (5 mg/100 ml de tampão fosfato 0,05 M, pH 7,4), durante 20 minutos. A seguir, esta foi lavada três vezes com água destilada. Adicionou-se à placa solução contendo 4,7 mg de N-acetil-DL-fenilalanina- β -naftilester dissolvidos em 2 ml de dimetilformamida, misturados, na hora do uso, a 18 ml de tampão fosfato 0,05 M pH 7,4 contendo 20 mg de *o*-dianisidina-tetrazotizada. Após 30 min a placa foi lavada com água destilada e escaneada com densitômetro GS 700 da Bio-Rad (Molecular Analyst Software).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade inibitória de tripsina de feijões cozidos

Amostras do feijão Carioca foram submetidas ao cozimento em água destilada em condições variadas, previamente deixadas de molho por 14 horas ou não. Os resultados (Tabela 1) mostraram que, mesmo para tempos de aquecimento superiores aos necessários para tornar o feijão palatável (molho e autoclave 15' ou apenas autoclave 30'), ainda se observava uma alta atividade inibitória de tripsina. Em geral, observou-se uma maior inativação para os feijões deixados previamente de molho, embora o molho por si só não pareça ter efeito na redução do teor de inibidores. O tratamento térmico em temperaturas de autoclavagem mostrou-se mais eficiente que a 100°C, sendo que 15 e 30 min em autoclave corresponderam a 1 hora a 100°C, embora tempos bem superiores aos necessários para tornar o feijão palatável ainda tenham deixado uma atividade residual significativa (23 a 30%, para 121°C por 1 hora).

Esses resultados vão em desacordo com os obtidos por outros autores (13,14), que em geral observaram 100% de inativação após 30 minutos de autoclavagem do feijão. Desta forma, os altos valores de atividade inibitória residual encontrados, para todos os tratamentos térmicos testados, indicaram que estes poderiam ser decorrentes de artifícios da metodologia utilizada e não de inibição específica. Sendo assim, a atividade inibitória de tripsina das mesmas amostras foi determinada de acordo com variações do método de Kakade, Simons & Liener (9), incluindo tipo de substrato utilizado para a tripsina e meio extrator para os inibidores, e estudou-se a possível interferência de compostos polifenólicos e condições de preparo da amostra. Os resultados são apresentados a seguir.

TABELA 1

Atividade inibitória de tripsina de feijões Carioca cozidos

	UIT/mg proteína	Atividade residual (%)
Feijão cru	62,1 \pm 1,2 ^a	100
Feijão deixado de molho	67,1 \pm 2,8 ^b	100
Feijão autoclavado 30 min	37,7 \pm 2,7 ^c	60,7
Feijão autoclavado 1h	18,4 \pm 2,5 ^d	29,6
Feijão 100°C/1h	38,7 \pm 1,4 ^c	62,3
Feijão deixado de molho e autoclavado 15 min	28,4 \pm 0,6 ^e	42,3
Feijão deixado de molho e autoclavado 30 min	28,2 \pm 0,6 ^e	42,0
Feijão deixado de molho e autoclavado 1 h	15,3 \pm 0,7 ^d	22,8
Feijão deixado de molho e cozido 100°C/1h	29,9 \pm 0,3 ^f	44,6

Obs. Os feijões foram deixados de molho em água destilada (1:9) por 14 horas, após o qual a água foi descartada. Após nova adição de água destilada (1:9), os feijões foram cozidos, liofilizados com a água de cocção, e homogeneizados. Os resultados são apresentados na forma de média \pm desvio padrão. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). UIT. Unidades inibitórias de tripsina.

Substrato sintético x substrato natural (caseína)

Uma das críticas feitas ao método que utiliza BAPNA como substrato para a tripsina é que, por se tratar de um substrato sintético, não representaria a situação real, sendo que substratos naturais seriam mais adequados para avaliar a influência da presença desses inibidores em alimentos sobre a utilização de nutrientes *in vivo*. Para efeito de comparação, a determinação foi repetida para duas amostras de feijão sem e duas amostras com tratamento térmico, utilizando-se a caseína como substrato para a tripsina, de acordo com Kakade, Simons & Liener (9). Os resultados podem ser vistos na Tabela 2 e confirmam os obtidos através do método com BAPNA, ou seja, continuou sendo detectada uma alta atividade inibitória de tripsina residual nos feijões tratados termicamente, sendo que com a caseína como substrato esses valores foram inclusive maiores. Não houve diferenças significativas na atividade inibitória do feijão cru ou apenas deixado de molho determinada através dos dois métodos.

TABELA 2
Atividade inibitória de tripsina do feijão Carioca determinada pelo método da caseína

	UIT/mg proteína	Atividade residual (%)
Feijão cru	58,8 ± 4,9 ^a	
Feijão deixado de molho	68,8 ± 4,0 ^b	100
Feijão deixado de molho e autoclavado 15 min	33,8 ± 3,1 ^c	49,1
Feijão deixado de molho e autoclavado 30 min	35,3 ± 3,1 ^c	51,3

Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). UIT. Unidades inibitórias de tripsina.

Interferência de compostos polifenólicos

Os compostos polifenólicos encontrados na casca do feijão são termo-estáveis e, segundo Fernández *et al.* (15), parcialmente responsáveis pela atividade inibitória de tripsina de feijões crus e, principalmente, de feijões cozidos, onde os inibidores protéicos se encontrariam desnaturados e portanto inativos. Para avaliar a interferência desses compostos nos valores encontrados determinou-se a atividade inibitória de tripsina de farinha de feijões descascados manualmente, antes e após tratamento térmico. Como se observa na Tabela 3, os feijões descascados apresentaram uma atividade inibitória de tripsina levemente maior que a de feijões inteiros (compare com Tabela 1), e esta não se alterou após aquecimento da farinha a 100°C/15 min, indicando que a inibição de tripsina devida aos compostos polifenólicos da casca não está envolvida. Os valores mais elevados de atividade resultariam da concentração dos inibidores no cotilédone com a retirada da casca. Confirmando estes resultados, a atividade inibitória de tripsina do extrato obtido a partir da farinha de feijões descascados, ao qual adicionou-se taninos condensados purificados a partir da casca, não diferiu significativamente da encontrada para o extrato sem taninos (Tabela 3). Esses resultados demonstram que, pelo menos no caso do feijão Carioca, os compostos polifenólicos da casca não estão implicados no efeito inibitório de proteases observado, contrariando os resultados de Fernández *et al.* (15). No entanto, Weder & Telek (16) também observaram uma atividade inibitória de proteases em geral maior para cotilédones em comparação com o feijão inteiro e, após uma série de estudos da atividade inibitória de misturas contendo cotilédones e casca em diferentes proporções, também concluíram que os taninos ou outros componentes da casca não contribuem para a inibição de tripsina e quimotripsina humanas ou bovinas.

TABELA 3
Atividade inibitória de tripsina da farinha de feijão Carioca descascado determinada pelo método do BAPNA

	UIT/mg proteína
Farinha crua	71,1 ± 0,9 ^a
Farinha 100 °C/15 min ¹	72,0 ± 3,1 ^a
Farinha crua + tanino ²	68,2 ± 2,9 ^a

Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). UIT. Unidades inibitórias de tripsina. 1. Suspensão de farinha em água destilada (1:9 m/v) liofilizada após o aquecimento. 2. Mistura farinha: taninos condensados (purificados a partir da casca) na proporção de 100 mg de farinha para 1,3 mg de taninos.

Extração dos inibidores de tripsina

Tanto o método oficial da “American Association of Cereal Chemists” (17) como o da “American Oil Chemists’ Society” (18) para determinação da atividade inibitória de tripsina em soja e derivados se baseiam no método proposto por Kakade *et al.* (7), onde a extração das amostras é feita com NaOH 0,01 N (1:50 p/v) durante três horas à temperatura ambiente. Por outro lado, o método proposto por Mueller & Weder (19) utiliza H₂SO₄ 0,25 N (1:20 p/v) durante uma hora à temperatura ambiente. Dessa forma, a variação encontrada na atividade inibitória de tripsina residual pode ser decorrente de diferenças na capacidade extratora dessas soluções.

A Tabela 4 mostra a capacidade extratora do NaOH 0,01 N, do H₂SO₄ 0,25 N e da H₂O e a Figura 1 o perfil eletroforético das proteínas extraídas (poços 1 a 7). Para os feijões que não foram submetidos a tratamento térmico observa-se que a maior capacidade extratora foi a do NaOH, não havendo diferença entre a quantidade total de proteínas extraída pela água e pelo ácido sulfúrico. Após tratamento térmico houve uma queda drástica na solubilidade das proteínas, sendo que o NaOH continuou apresentando a maior capacidade de extração (26,5 e 50% maior que a do H₂SO₄ e da H₂O, respectivamente), porém 84% menor que para o feijão cru.

Quando a atividade inibitória de tripsina foi determinada nesses extratos obtidos a partir do feijão cru, usando-se o método do BAPNA tradicional, não foram encontradas diferenças entre os valores obtidos para o extrato em NaOH e H₂SO₄, porém uma atividade inibitória de tripsina cerca de 25% menor foi encontrada para o extrato em H₂O. Esses resultados mostram que, apesar da maior capacidade extratora do NaOH e da mesma capacidade de extração observada para o H₂SO₄ e a H₂O, o perfil de proteínas extraídas é diferente, o que foi confirmado através de eletroforese (Figura 1). No caso do feijão cozido, também observamos uma maior

atividade inibitória de tripsina para os extratos em NaOH, cerca de duas a três vezes a encontrada para os extratos em água. O extrato em H_2SO_4 , no entanto, não apresentou atividade, mesmo quando a determinação foi feita sem diluição prévia.

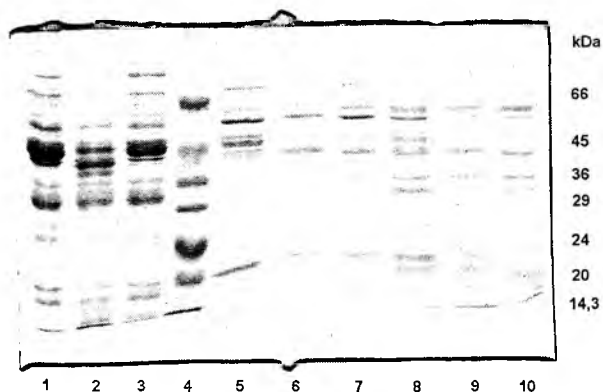
TABELA 4
Capacidade de extração das proteínas do feijão de diferentes soluções

	% proteínas totais extraídas		
	NaOH 0,01 N	H_2SO_4 0,25 N	H_2O
Feijão cru	93,2 ^a	65,5 ^b	66,3 ^b
Feijão molho 14 h 100°C/1 h	15,1 ^c	11,1 ^d	7,5 ^e

Obs. Todas as extrações foram realizadas na razão 1:50 (p/v) por três horas à temperatura ambiente, para efeito de comparação. Os resultados representam a média de duplicatas. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

FIGURA 1

Perfil eletroforético em SDS-PAGE (12%) das proteínas extraídas por diferentes soluções a partir do feijão cru e cozido. Poços 1 a 3: feijão cru. 1. Extrato em NaOH 0,01 N; 2. Extrato em H_2SO_4 0,25 N; 3. Extrato em H_2O ; 4. Padrão de peso molecular; Poços 5 a 7: feijão deixado de molho 14 h e cozido 100 °C/1 h (liofilizado). 5. Extrato em NaOH 0,01 N; 6. Extrato em H_2SO_4 0,25 N; 7. Extrato em H_2O ; Poços 8 a 10: feijão deixado de molho 14 h, cozido a 100 °C/1 h, e extraído logo após o cozimento. 8. Extrato em NaOH; 9. Extrato em H_2SO_4 0,25 N; 10. Extrato em H_2O



Esses resultados demonstram a grande variação nos valores de atividade inibitória de tripsina residual de feijões cozidos que são obtidos utilizando-se diferentes soluções extratoras: quando se utiliza álcali, atividades residuais

elevadas são detectadas (28 a 35%), já com água, apenas cerca de 16%, e com ácido sulfúrico, não são detectadas atividades residuais. A menor atividade encontrada para o extrato em água obtido a partir do feijão cru demonstra que a água não extrai os inibidores de forma eficiente e que esses extratos são portanto inadequados para a determinação. Em relação ao feijão cozido, as diferenças entre os extratos obtidos em NaOH e H_2SO_4 sugerem a ocorrência de artifícios da técnica, os quais tentou-se determinar.

Um ponto investigado foi a utilização de extratos previamente centrifugados ou não. De acordo com Kakade *et al.* (7) não há diferenças significativas entre a atividade inibitória de tripsina de extratos de soja crua em NaOH, previamente centrifugados ou não. No entanto, os autores observaram que, para amostras submetidas a tratamento térmico, a atividade detectada em extratos não-centrifugados era maior, e sugeriram que o método detectaria a atividade de inibidores de tripsina insolubilizados pelo aquecimento. Similarmente ao relatado pelos autores, no caso do feijão cru não houve diferenças entre os valores de atividade encontrados para os extratos centrifugados ou não (Tabela 5), tanto em NaOH como em H_2SO_4 e H_2O . Já para os feijões cozidos, encontrou-se uma atividade residual maior para o extrato não-centrifugado, em comparação com o centrifugado, apenas para o extrato em NaOH. Isso indica que, ao contrário do sugerido por Kakade *et al.* (7), não é a atividade de inibidores insolúveis que está sendo detectada, já que não houve diferenças para os extratos em H_2SO_4 e H_2O .

TABELA 5
Atividade inibitória de tripsina determinada em diversos extratos obtidos a partir do feijão cru e cozido

	UIT/mg prot. total		
	NaOH 0,01 N	H_2SO_4 0,25 N	H_2O
<i>Feijão cru</i>			
-extrato centrifugado	81,1 ± 5,8 ^a	76,5 ± 0,7 ^a	60,4 ± 4,2 ^b
-extrato sem centrifugar	80,9 ± 1,9 ^a	77,7 ± 8,4 ^a	60,5 ± 1,2 ^b
<i>Molho 14h e 100°C/1h</i>			
-extrato centrifugado	22,7 ± 0,7 ^c	n.d.	9,7 ± 4,7 ^d
-extrato sem centrifugar	28,5 ± 0,8 ^c	n.d.	10,0 ± 0,6 ^d

Obs. Todas as extrações foram realizadas na razão 1:50 (p/v) por três horas à temperatura ambiente. O extrato em H_2SO_4 teve seu pH previamente ajustado para 8,2 antes da determinação. Os extratos foram utilizados antes e após centrifugação (10.000 g/30 min). Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). n.d.: atividade não detectada. UIT. Unidades inibitórias de tripsina.

Efeito da liofilização das amostras

Neste estudo as amostras de feijão foram deixadas de molho e submetidas a tratamento térmico, após o qual elas

foram liofilizadas e homogeneizadas (vide Mat. e Mét.). As amostras assim obtidas foram mantidas em freezer até o momento da extração e determinação da atividade inibitória de tripsina. Para verificar se esse processo poderia interferir nos resultados obtidos, as determinações foram repetidas para amostras de feijão logo após o seu cozimento, conforme descrito em Mat. e Mét. A atividade inibitória de tripsina foi determinada antes e após centrifugação do extrato (10000 g/30 min). Os resultados obtidos, assim como a quantidade de proteína extraída, se encontram na Tabela 6, e o perfil eletroforético dos extratos na Figura 1 (poços 8 a 10). A atividade inibitória de tripsina residual encontrada no extrato em NaOH (19%) foi cerca da metade da encontrada para a amostra liofilizada, apesar de terem sido extraídas quantidades similares de proteína, com o mesmo perfil eletroforético. Ainda, não se obteve uma maior inibição de tripsina quando se utilizou o extrato em NaOH sem centrifugar em comparação com o centrifugado, como no caso das amostras liofilizadas. O ácido sulfúrico (0,25 N) apresentou capacidade extratora similar à do hidróxido de sódio, e novamente não foi detectada atividade inibitória residual nesse extrato.

TABELA 6

Atividade inibitória de tripsina determinada em feijão Carioca logo após o seu cozimento (100°C / 1 h)

	UIT/mg prot. Total
extrato centrifugado	12,8 ± 0,7 ^a
extrato sem centrifugar	12,3 ± 0,1 ^a
% proteína total extraída	10,5

Obs. As extrações foram realizadas na razão 1:20 (p/v) com NaOH 0,01N por três horas à temperatura ambiente. Os extratos foram utilizados antes e após centrifugação (10.000 g/30 min). Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). UIT. Unidades inibitórias de tripsina.

Para confirmar esse efeito da liofilização das amostras determinou-se a atividade inibitória de tripsina de oito variedades diferentes de feijão, antes e após cozimento, liofilizadas ou não, através dos dois métodos, utilizando caseína ou BAPNA como substrato para a tripsina. Os resultados se encontram na Tabela 7. A maior atividade inibitória de tripsina dos feijões crus, encontrada através dos dois métodos, foi a da variedade Carioca Mg. Excetuando-se o feijão Emgopa 201 cru, os valores de atividade encontrados com BAPNA foram significativamente maiores que os encontrados com caseína.

TABELA 7

Atividade inibitória de tripsina determinada em feijões crus e autoclavados (121°C /15 min), logo após o seu cozimento ou após liofilização

Feijão	UIT/mg de proteína total				
	Cru		Autoclavado 121°C/15 min		
	Caseína	BAPNA	Caseína fresco	BAPNA fresco	BAPNA liofilizado
Aporé	79,4 ± 1,4	89,4 ± 1,1	1,5 ± 0,2	14,1 ± 0,6	33,0 ± 0,4
Carioca Mg	110,4 ± 5,3	131,6 ± 1,0	n.d.	10,1 ± 1,0	48,0 ± 2,8
Emgopa 201	107,5 ± 1,8	93,7 ± 4,0	1,3 ± 0,1	20,7 ± 0,4	58,2 ± 3,5
Jalo Precoce	84,4 ± 3,2	100,5 ± 3,6	n.d.	10,4 ± 0,5	37,5 ± 1,6
Roxo 90	75,6 ± 6,5	88,9 ± 2,7	0,9 ± 0,3	15,7 ± 1,4	33,5 ± 2,7
Rio Tibagi	86,7 ± 3,9	97,6 ± 3,5	n.d.	13,8 ± 1,3	32,7 ± 1,1
Xamego	81,0 ± 3,1	120,2 ± 1,6	n.d.	15,2 ± 1,2	42,5 ± 3,4
Safira	94,4 ± 3,6	108,7 ± 4,8	n.d.	14,2 ± 0,8	37,0 ± 1,4

Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão. n.d. não detectada. UIT. Unidades inibitórias de tripsina.

A atividade inibitória residual após autoclavagem (121°C/15 min) foi extremamente variável de acordo com o estado da amostra e com o método utilizado. Para as amostras que foram liofilizadas após o cozimento encontraram-se atividades residuais entre 33 e 38% da atividade original, excetuando-se o feijão Emgopa 201, para o qual foi de 62%, utilizando-se BAPNA como substrato. No entanto, para as amostras analisadas logo após a cocção as atividades residuais foram bem menores, situando-se entre 8% (Carioca Mg) e 22% (Emgopa 201) da atividade original. Surpreendentemente, quando a determinação foi realizada usando-se o método da caseína, atividades de no máximo 2% da atividade original foram detectadas. A Tabela 8 mostra que a quantidade de proteína extraída a partir do feijão cozido, liofilizado ou não, foi similar e portanto não estaria relacionada às diferenças de atividade residual encontradas.

TABELA 8

Capacidade extratora de proteínas do feijão cru e cozido por NaOH 0,01N

Feijão	% de proteína extraída*	
	feijão cru	feijão autoclavado 121°C/15 min. fresco liofilizado
Aporé	98,1	23,4
Carioca Mg	100,0	21,6
Emgopa 201	94,7	28,0
Jalo Precoce	100,0	28,1
Roxo 90	100,0	24,3
Rio Tibagi	100,0	23,5
Xamego	97,8	28,1
Safira	100,0	24,9

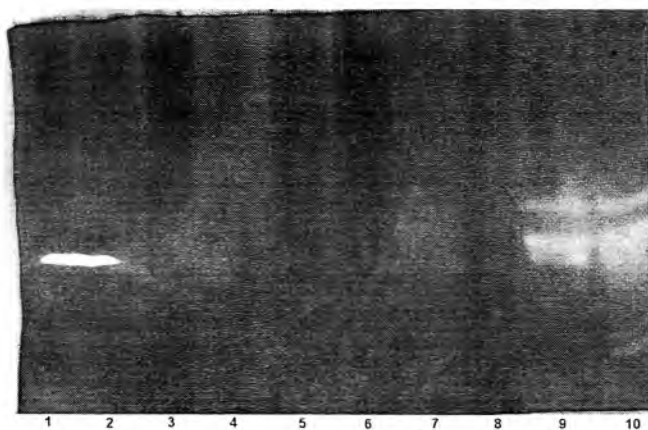
* Os resultados representam a média de duplicatas. O teor total de proteína dos feijões foi determinado através do método de Kjeldahl (Mat. Mét.).

De acordo com os resultados obtidos pelo método da caseína, os inibidores de tripsina seriam completamente inativados com o cozimento dos feijões, contrário ao encontrado pelo método do BAPNA. Desta forma, os extratos das amostras cozidas foram submetidos à eletroforese em condições não-dissociantes e revelação para inibidores de tripsina (Figura 2). Nesta técnica, após a corrida eletroforética, o gel de poliacrilamida é imerso em solução de tripsina, o que faz com que esta se adsorva ao gel. A seguir, adiciona-se um substrato sintético para a tripsina. Este substrato, ao ser hidrolisado pela tripsina, forma um composto colorido. Nas regiões correspondentes às bandas do inibidor de tripsina isto não ocorre, e as bandas se mostram translúcidas contra um fundo rosa. De acordo com Genovese & Lajolo (5), o método apresenta grande sensibilidade e permite checar se os valores residuais de atividade inibitória encontrados através do método espectrofotométrico são de fato devidos à presença de inibidores ativos.

FIGURA 2

Eletroforese em gel de poliacrilamida dos extratos em NaOH 0,01N obtidos a partir de feijões autoclavados (121°C/15 min), revelada para inibidores de tripsina. 1. Carioca Mg (54 µg), 2. Aporé (56 µg), 3. Jalo Precoce (81 µg), 4. Roxo 90 (63 µg), 5. Rio Tibagi (60 µg), 6. Xamego (69 µg); 7. Emgopa 201 (68 µg), 8. Safira (67 µg), 9 e 10: Feijões crus, 9. Emgopa 201 (6 µg), 10. Roxo 90 (11 µg).

Obs: Os números entre parênteses representam a quantidade total de proteína aplicada



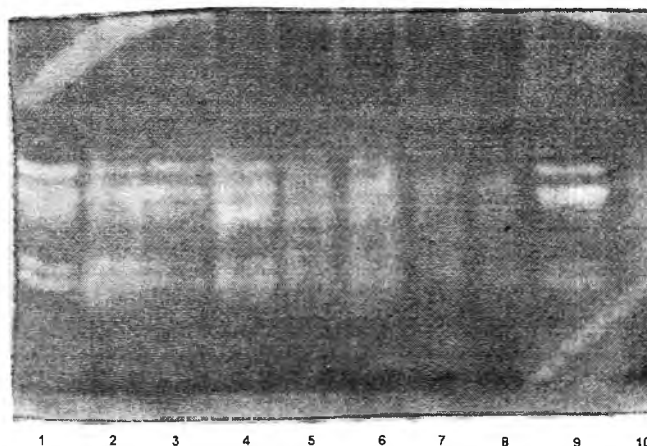
A Figura 2 mostrou que, mesmo quando aplicadas quantidades elevadas de proteína no gel de eletroforese (cerca de dez vezes maiores que as utilizadas para o feijão cru), não se observou inibição de tripsina para as amostras de feijão analisadas logo após o cozimento. Esses resultados demonstram, portanto, que os valores de atividade residual obtidos através do método da caseína estão mais próximos da realidade que os obtidos utilizando-se BAPNA como substrato.

Já para os feijões Carioca cozidos e liofilizados, a técnica mostrou a presença de inibidores ativos, com perfil similar ao dos inibidores presentes no feijão Carioca cru, embora uma quantidade muito superior de proteína tenha sido aplicada e os perfis tenham perdido nitidez à medida que se aumentou a intensidade do tratamento térmico (Figura 3). Esses resultados sugerem que eventuais reações, tais como complexação com outros componentes do feijão, sofridas pelos inibidores de tripsina durante o aquecimento e que levam à sua inativação, seriam parcialmente revertidas durante a liofilização das amostras. Este é o primeiro relato da interferência da liofilização na avaliação da atividade inibitória de tripsina residual de feijões. No entanto, apesar de ainda serem observados inibidores ativos nas amostras liofilizadas, os valores de atividade residual entre 23 e 62% da atividade original (Tabela 1), obtidos através do método com BAPNA, parecem superestimados já que nos géis de poliacrilamida, mesmo aplicando-se quantidades de proteína até sete vezes maiores, não se observam bandas com a mesma intensidade das observadas para as amostras cruas.

FIGURA 3

Eletroforese em gel de poliacrilamida dos extratos em NaOH 0,01N obtidos a partir de feijão Carioca cozido e liofilizado, revelada para inibidores de tripsina. 1.

Controle: feijão deixado de molho (12 µg), 2. Feijão deixado de molho e cozido 100°C/1h (62 µg), 3. Feijão cozido 100°C/1h (56 µg), 4. Feijão deixado de molho e autoclavado 15 min (84 µg), 5. Feijão autoclavado 30 min (64 µg), 6. Feijão deixado de molho e autoclavado 30 min (67 µg); 7. Feijão autoclavado 1 h (70 µg), 8. Feijão deixado de molho e autoclavado 2 h (127 µg), 9. Feijão cru (10 µg), 10. Feijão autoclavado 2 h (152 µg). Obs: Os números entre parênteses representam a quantidade total de proteína aplicada



Efeito do pH do meio de reação

A técnica de revelação dos inibidores em gel de poliacrilamida demonstrou que os valores de atividade residual obtidos utilizando-se BAPNA como substrato resultavam de inibição não específica. Como o método descrito por Kakade *et al.* (7) não menciona ajuste de pH dos extratos alcalinos e tanto as diluições como o acerto do volume de reação são feitos com água, as determinações realizadas para o feijão cozido, onde diluições menores que as realizadas para o feijão cru são utilizadas, resultariam em valores diferentes de pH no meio de reação. Desta forma, as determinações de atividade residual de feijões cozidos foram repetidas acertando-se o pH dos extratos para 8,2 e realizando-se as diluições e o acerto do volume de reação com o tampão Tris 50 mM, pH 8,2. Os resultados obtidos tanto para os feijões analisados logo após o cozimento com para os liofilizados são apresentados na Tabela 9 e foram significativamente inferiores aos obtidos originalmente. Embora os valores obtidos para os feijões liofilizados tenham sido em geral maiores que os obtidos para os feijões analisados logo após o cozimento, corresponderam a menos de 5% da atividade dos feijões crus, o que parece estar de acordo com o observado através da técnica de revelação dos inibidores em gel de poliacrilamida (Figura 4). Já para os feijões analisados logo após o cozimento, valores similares de atividade residual não corresponderam ao observado pela análise dos géis (Figura 2), indicando tratar-se de inibição não específica, similar ao relatado por Genovese & Lajolo (5) para produtos derivados de soja.

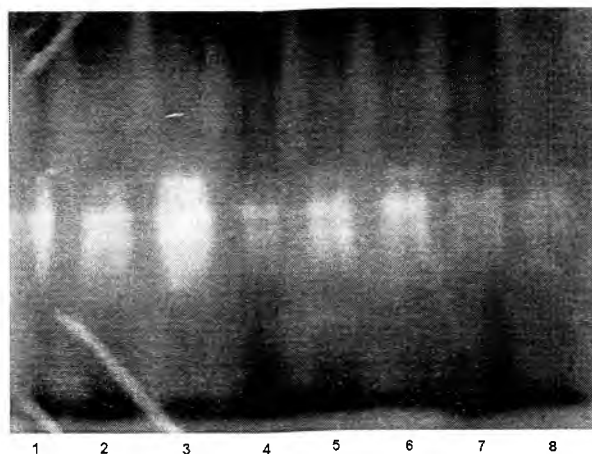
TABELA 9
Atividade inibitória de tripsina de feijões cozidos (121°C/15 min) determinada controlando-se o pH do meio de reação

Feijão	UIT/mg de proteína total	
	Fresco	liofilizado
Aporé	2,9 ± 0,0	4,0 ± 0,3
Carioca Mg	3,2 ± 0,0	4,7 ± 0,4
Emgopa 201	4,8 ± 0,1	2,9 ± 0,1
Jalo Precoce	2,2 ± 0,1	4,4 ± 0,4
Roxo 90	3,0 ± 0,1	3,5 ± 0,2
Rio Tibagi	2,1 ± 0,1	2,8 ± 0,3
Xamego	4,1 ± 0,1	3,3 ± 0,1
Safira	3,9 ± 0,1	4,3 ± 0,2

Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão. UIT. Unidades inibitórias de tripsina.

FIGURA 4

Eletrforese em gel de poliacrilamida dos extratos em NaOH 0.01N obtidos a partir de feijões autoclavados (121°C/15 min) e liofilizados, revelada para inibidores de tripsina. 1. Aporé (77 µg). 2. Jalo Precoce (101 µg), 3. Emgopa 201 (86 µg). 4. Xamego (74 µg), 5. Roxo 90 (85 µg). 6. Carioca Mg (76 µg): 7. Rio Tibagi (86 µg). 8. Safira (51 µg). Obs: Os números entre parênteses representam a quantidade total de proteína aplicada



Este estudo mostrou que pode haver uma grande variação nos resultados de atividade inibitória de tripsina residual de feijões submetidos a tratamento térmico de acordo com os diferentes métodos utilizados no tratamento da amostra e para a extração dos inibidores. As diferenças encontradas nos valores de atividade inibitória de tripsina residual parecem bastante importantes já que podem significar erros na avaliação da adequabilidade de processos visando eliminação dos inibidores, assim como da ingestão dessas substâncias pelo homem. Embora a liofilização das amostras submetidas a tratamento térmico possa apresentar facilidades técnicas, este estudo mostrou ser mais adequada a determinação da atividade residual logo após o preparo do feijão, por ser o modo mais próximo da situação real de consumo do feijão pelo homem. Neste caso, encontrou-se uma atividade residual de no máximo 5% da atividade inibitória de tripsina original, valor que parece resultar de inibição não específica.

CONCLUSÕES

As etapas críticas para avaliação da atividade inibitória de tripsina residual em feijões cozidos, através do método de Kakade *et al.* (7) utilizando BAPNA como substrato, são relativas ao preparo da amostra e ao pH do meio de reação. A extração dos inibidores em solução de NaOH 0.01 N, por

três horas à temperatura ambiente, mostrou-se adequada, porém os extratos devem ter o seu pH ajustado para 8,2 antes da determinação. Os teores residuais de cerca de 5% encontrados em feijões autoclavados por 15 min, através da utilização de substrato sintético (BAPNA) para a tripsina, são devidos a inibição inespecífica, como demonstrado através de eletroforese em gel de poliacrilamida com revelação para inibidores de tripsina. Esses resultados indicam a necessidade de padronização de cada estágio em cada material a ser analisado para efeito de controle.

REFERÊNCIAS

- Bressani R. Grain quality of common beans. *Food Rev. Int.* 1993;9:237-97.
- Genovese MI, Lajolo FM. Inativação de inibidores de proteases de leguminosas - uma revisão. *Bol. Soc. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim.* 2001;34: xxx-xxx. In press.
- Genovese MI, Lajolo FM. In vitro digestibility of albumin proteins. Effect of chemical modification. *J. Agric. Food Chem.* 1996;44: 3022-8.
- Genovese MI, Lajolo FM. Effect of bean (*Phaseolus vulgaris*) albumins on phaseolin in vitro digestibility. Role of trypsin inhibitors. *J. Food Biochem.* 1996;20:275-94.
- Genovese MI, Lajolo FM. Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*) consumidos no Brasil. *Ciênc. Tecnol. Alim.* 1998;18:309-12.
- A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*, 15 ed. Washington, 1990.
- Kakade ML, Rackis JJ, McGhee JE, Puski G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.* 1974;51:376-82.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951;193:265-75.
- Kakade ML, Simons N, Liener IE. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chem.* 1969;46:518-26.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature* 1970;227:680-5.
- Davis BJ. Disc electrophoresis II: Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Sci.* 1964;121:404-27.
- Uriel J, Berges J. Characterization of natural inhibitors of trypsin and chymotrypsin by electrophoresis in acrylamide-agarose gels. *Nature* 1968;218:578-80.
- Sgarbieri VC, Whitaker JR. Physical, chemical, and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. *Adv. Food Res.* 1982;28:93-166.
- Weder JKP, Link I. Effect of treatments on legume inhibitor activity against human proteinases. In: *Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds; Proc. 2nd Int. Workshop "Antinutritional factors (ANFs) in legume seeds"*, Wageningen/The Netherlands, Dec 1-3, 1993 (van der Poel, A.F.B.; Huisman, J.; Saini, H.S., eds.); Wageningen Pers, Wageningen 1993, p.481-5.
- Fernández R, Elias LG, Braham JE, Bressani R. Trypsin inhibitors and hemagglutinins in beans (*Phaseolus vulgaris*) and their relationship with the content of tannins and associated polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* 1982;30:734-9.
- Weder JKP, Telek L. Influence of polyphenols on proteinase inhibitor activity determination of dry beans. In: *Bioactive substances in Food of plant origin. Proc. Euro Food Tox. IV, Sep 22-24, 1994* (Kozłowska, H.; Fornal, J.; Zduńczyk, Z., eds.); Polish Academy of Sciences, Olsztyn, Poland, 1994, p.227-32.
- A.A.C.C. American Association of Cereal Chemists. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. In: *Approved methods of the AACC. Method 71-10.* The Association, St. Paul, 1976.
- A.O.C.S. American Oil Chemists Society. In: *Official methods and recommended practices of the AOCS. Method Ba 12-75.* 34 ed. AOCS, Champaign, 1983.
- Mueller R, Weder JKP. Isolation and characterization of two trypsin-chymotrypsin inhibitors from lentil seeds (*Lens culinaris Medik*). *J. Food Biochem.* 1989;13:39-63.

Recibido: 29-05-2001

Aceptado: 20-09-2001

Carotenoid composition and vitamin A value of an Argentinian squash (*Cucurbita moschata*)

González Evangelina, Montenegro Mariana A., Nazareno Mónica A., López de Mishima Beatriz A.

Instituto de Ciencias Químicas, Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago del Estero, República Argentina

SUMMARY. The carotenoid composition of butternut squash (*Cucurbita moschata*) cultivated in the province of Santiago del Estero, Argentina, was determined. The main carotenoids isolated were identified as β -carotene (β,β -carotene), α -carotene (β,ϵ -carotene), and lutein (β,ϵ -carotene-3,3'-diol) and the minor carotenoids, as phytofluene (7,8,11,12,7',8'-hexahydro- ψ,ψ -carotene), ζ -carotene (7,8,7',8'-tetrahydro- ψ,ψ -carotene), neurosporene (7,8-dihydro- ψ,ψ -carotene), violaxanthin (5,6,5',6'-diepoxy-5,6,5',6'-tetrahydro- β,β -carotene-3,3'-diol) and neoxanthin (5,6-epoxy-6,7-didehydro-5,6,5',6'-tetrahydro- β,β -carotene-3,5,3'-triol). In some samples, 5,6,5',6'- β -carotene diepoxide, (5,6,5',6'-diepoxy-5,6,5',6'-tetrahydro- β,β -carotene) and flavoxanthin (5,8-epoxy-5,8-dihydro- β,ϵ -carotene-3,3'-diol) were detected. The presence of *cis*-isomers of β,β -carotene was also detected by HPLC. The vitamin A value obtained was 432 $\mu\text{g RE/100g}$ fresh sample, which indicates that this vegetable is an important source of provitamin A.

Keywords: Carotenoids, vitamin A, butternut squash, *Cucurbita moschata*, squashes.

RESUMEN. Composición de carotenoides y valor de vitamina A de una calabaza argentina (*Cucurbita moschata*). Se determinó la composición de carotenoides de un tipo de calabaza (*Cucurbita moschata*), conocida como "anco coreano" cultivada en la provincia de Santiago del Estero, Argentina. Los principales carotenoides aislados fueron identificados como mayoritarios, β -caroteno (β,β -caroteno), α -caroteno (β,ϵ -caroteno), luteína (β,ϵ -caroteno-3,3'-diol) y como minoritarios, fitoflueno (7,8,11,12,7',8'-hexahidro- ψ,ψ -caroteno), ζ -caroteno (7,8-7',8'-tetrahidro- ψ,ψ -caroteno), neurosporeno (7,8-dihidro- ψ,ψ -caroteno), violaxantina (5,6,5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -caroteno-3,3'-diol) y neoxantina (5',6'-epoxi-6,7-didehidro-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -caroteno-3,5,3'-triol). En algunas muestras fueron detectados β -caroteno 5,6,5',6'-diepóxido (5,6,5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -caroteno) y flavoxantina (5,8-epoxi-5,8-dihidro- β,ϵ -caroteno-3,3'-diol). También fue detectada por HPLC la presencia de isómeros *cis* de β,β -caroteno. El valor de vitamina A obtenido fue 432 $\mu\text{g RE/100g}$ de muestra fresca, lo cual indica que este vegetal es una fuente importante de provitamina A.

Palabras clave: Carotenoides, vitamina A, calabazas, anco coreano, *Cucurbita moschata*.

INTRODUCTION

Carotenoids are natural pigments, commonly found in vegetables, fruits, flowers and microorganisms as well as in the animal kingdom. These pigments play an important role in the human diet because of their provitamin A function (1).

Epidemiological evidence suggests that a diet rich in carotenoids is associated with decreased incidence of many serious diseases, such as cancer, atherosclerosis, cataracts, and age-related macular degeneration (2-4). It is suggested that this may occur via prevention of lipid peroxidation. The carotenoids protect cells and organisms against photooxidation and they can deactivate singlet oxygen, which is mutagenic, able to inactivate enzymes and damage DNA molecules and lipids (5-6).

The carotenoid composition varies with variety, culture, cultivation conditions, the state of maturity, the post-harvest

and storage handling, the climate and the geographical localization, the type of sample and the part of plant (7-8). It must be also taken into account that the stability of the carotenoids is also variable in different foods even with the same processing and storage conditions (9-11).

Studies about carotenoids in the Republic of Argentina are scarce (12). Deficiency of vitamin A and its consequences such as xerophthalmia and blindness are endemic in many regions, particularly the Northwestern provinces of Jujuy, Salta, Santiago del Estero, Catamarca and Tucumán; other regions of the country do not have this problem (13).

It is therefore necessary to evaluate the composition of carotenoids present in foods of this region of the country to determine their nutritional values in terms of provitamin A activity.

Butternut squash is one of the most highly consumed vegetables in the region. It is economical and it is available throughout the year. For this reason, it is urgent to determine

its carotenoid composition to evaluate it as a source of provitamin A carotenoids and of other carotenoids that may be beneficial to health.

MATERIAL

Butternut squashes with weights around 1 kg were analyzed. These squashes were obtained in different markets in the city of Santiago del Estero as well as in the city of La Banda, province of Santiago del Estero, Argentina.

Each sample was peeled and cut into four transverse sections. Two opposite sections of each squash were taken and homogenized first in a mixer. From the homogenized part, 50 g were taken, to which 25 g of Hyflosupercel and 100 ml cold acetone were added and the extraction was carried out by mixing in a second blender.

Carotenoids determination

A. Analysis by chromatography and UV visible spectroscopy:

Extraction

The carotenoids were extracted from the vegetable tissue with cold acetone in a blender (14). The extract was transferred to petroleum ether, and then saponified with 10% KOH in methanol so as to hydrolyze carotenoid esters (14). After washing with water to remove alkali, the saponified extract was dried over anhydrous sodium sulfate for a few minutes and concentrated in a rotary evaporator (temperature under 40°C).

The separation of the carotenoids was performed by open column chromatography on MgO: Hyflosupercel (1:2) as the stationary phase, followed by rechromatography of mixtures on a neutral alumina column (15).

The identification of the carotenoids was based on a) their chromatographic behavior, i. e., order of elution from the open column, R_f values on silica gel thin layer chromatography (TLC) plates and retention times in high performance liquid chromatography (HPLC) compared with those of standard samples (16), b) the chemical reactions of functional groups (17) and c) their UV-visible spectra by considering the wavelength of maximum absorption and the shape of the spectrum (fine structure) which is characteristic of the chromophore (18-19).

Eight carotenoids were isolated from the squash samples. The first fraction obtained from the MgO: Hyflosupercel (1:2) column eluted with petroleum ether, was a colorless compound with the typical absorption spectrum and chromatographic behavior of phytofluene. The second fraction was eluted from the column with 2-6% ethyl ether in petroleum ether. Its R_f of 0.90 on silica gel plates developed with 5% methanol in toluene is typical of a carotene. The absence of epoxy groups was indicated by the lack of color

change of the sample on a silica gel plate, when exposed to HCl fumes. This behavior and the absorption spectrum were characteristic of α -carotene. The third fraction, eluted with 6-10% ethyl ether in petroleum ether, also had R_f 0.90 on silica-gel plates developed with 5% methanol in toluene. The absence of epoxy groups was determined as for the previous fraction. The absorption spectrum and chromatographic behavior of this compound were typical of β -carotene.

The fourth fraction, eluted with 10-12% ethyl ether in petroleum ether, also has R_f 0.90 on silica-gel plates developed with 5% methanol in toluene. The absence of epoxy groups was verified as before. From its absorption spectrum and its chromatographic behavior, this compound was identified as ζ -carotene.

The fifth fraction was eluted with 2-10% of acetone petroleum ether. The absorption spectrum and its R_f 0.90 on silica-gel plates developed in 5% methanol in toluene were consistent with the identification of this compound as neurosporene.

The sixth fraction eluted with 10-20% acetone in petroleum ether, was shown by TLC on silica gel plates to consist of a mixture of 2 carotenoids with R_f values 0.44 and 0.20 (25% ethyl acetate in benzene), and 0.82 and 0.55 (5% methanol in toluene). The mixture was separated by rechromatography on a neutral alumina column. The presence of lutein (major component in the mixture) as well as violaxanthin could be shown by the absorption spectra and the R_f values in TLC silica gel plates. The presence of epoxy groups in the more polar pigment was suggested by the change of color to blue in TLC plates when they were exposed to the HCl fumes and by the hypsochromic shift of 40 nm in the absorption spectrum.

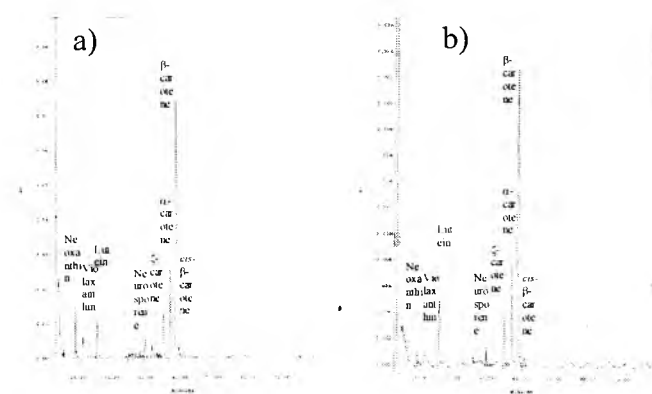
The seventh fraction was eluted with 20% acetone into petroleum ether. The presence of epoxy groups was suggested by the change of color from yellow to green on the silica gel plates. The R_f value of 0.09 TLC silica gel plate eluted with 25% ethyl acetate in benzene and 0.22 in ether, the order of elution from the open column and the presence of epoxy group suggest that this compound may be neoxanthin.

B. Analysis by high performance liquid chromatography (HPLC)

The saponified and unsaponified extracts were analyzed by HPLC with a photodiode array detector (Figure 1). A high efficiency liquid chromatograph (Waters 2690) with automatic injection was used equipped with a photodiode-array detector (Waters 996) and a C_{18} Spherisorb ODS-2 end capped (5 μ m, 4.6 x 250 mm) column. As mobile phase a mixture of methanol- acetonitrile- ethyl acetate was used, with the following gradient: 95% acetonitrile-5% methanol to 100% ethyl acetate. The flow rate was 0.5 ml/min and the injection volume was 10 μ l.

FIGURE 1

HPLC chromatograms of an Argentinian squash (*Cucurbita moschata*) unsaponified (a) and saponified (b) extracts



Conditions: C_{18} Spherisorb ODS-2, end-capped ($5\mu\text{m}$, 4.6×250 mm) column. Photodiode array detector. Mobile phase: a mixture of methanol-acetonitrile-ethyl acetate with the following gradient: 95% acetonitrile, 5% methanol, to 100% ethyl acetate. Flow rate: 0.5 ml/min. Injection volume: 10 μl .

The identification was based upon the UV- visible absorption spectrum, obtained by the photodiode array detector and the retention times in the chromatograms compared with standards obtained from natural sources. The results obtained from the comparison with standard samples agree with the previous tentative identification.

The following carotenoids in decreasing order of concentration were identified by their retention times in the chromatogram obtained from the unsaponified extract (Figure.1.a): all-*trans*- β -carotene (39.0 minutes), α -carotene (37.3 minutes), ζ -carotene (35.3 minutes), neurosporene (32.0 minutes), lutein (15.7 minutes), violaxanthin (11.4 minutes), *cis*- β -carotene (39.8 minutes) and neoxanthin (9.1 minutes). The same carotenoids with a small increase in the peak corresponding to lutein were observed in the chromatogram obtained from the saponified extract which suggests the presence of lutein esters in the original sample (Figure. 1.b).

The analysis by HPLC allowed the detection of a *cis* isomer of β -carotene by means of its visible spectrum although it is not possible to speculate on the position of this *cis* double bond with just this information. This compound was not isolated from its all-*trans*-isomer in the open column chromatography.

In some samples, 5,6,5',6'- β -carotene diepoxide (5,6,5',6'-diepoxo-5,6,5',6'- tetrahydro- β , β -carotene) and flavoxanthin (5,8-epoxy-5,8-dihydro- β , ϵ -carotene-3,3'-diol) were detected, which were identified as artifacts formed during the analysis.

Quantification by HPLC

The carotenoid content in unsaponified and saponified extracts were determined by HPLC. The HPLC (KONIK 500A) was equipped with a KONIK UV-Visible 200 detector to 450 nm, a C_{18} VYDAC 218TP54 ($5\mu\text{m}$, 4.6×250 mm) column. Methanol was used as mobile phase at 1 ml/min and the injection volume was 20 μl . The samples were dried under N_2 and re-dissolved in 3ml ethyl acetate-methanol (1:1) at the time of the injection in the chromatograph.

The quantification was carried out by means of calibration curves, constructed with a minimum of five concentrations for each standard, determined by UV-Visible spectroscopy, applying the Beer Law and using the absorption coefficients presented by Davies (19).

The standards of β -carotene, α -carotene and lutein were obtained from natural sources and purified by open column and thin layer chromatography. The purity of the standards was verified by HPLC.

The carotenoid composition determined by HPLC is shown in Table 2.

TABLE 1
UV-visible Absorbance Maxima of the carotenoids extracted from butternut squash

Carotenoids	λ_{max} UV-Vis Spectra	λ_{max} HPLC-PAD Spectra ^c
all- <i>trans</i> - β -carotene	447-474 ^a	454.9-481.5
α -carotene	419-442-471 ^a	426.2-448.9-476.6
lutein	425-445-472 ^b	424.3-447.6-474.4
ζ -carotene	376-397-422 ^a	380.1-400.7-424.7
neurosporene	417-439-468 ^a	416.5-441.6-470.6
flavoxanthin	404-424-451 ^b	d
5,6,5',6'-diepoxo- β -carotene	421-440-468 ^b	d
violaxanthin	419-441-470 ^b	417.0-441.6-470.6
phytofluene	345-364 ^a	d

a. Determined in petroleum ether. b. Determined in ethanol. c. Determined in methanol-ethyl acetate-acetonitrile (mobile phase). d. Non detected.

TABLE 2
Carotenoid content of a butternut squash from Argentina

Carotenoids	β -carotene	α -carotene	Lutein
Concentration ^a ($\mu\text{g g}^{-1}$)	23 ± 4	6 ± 1	3 ± 1

^aDetermined in a fresh squash by HPLC. Means and standard deviation for 5 samples.

Quantification by UV-visible spectroscopy

Quantification was carried out for the isolated major

compounds by UV-visible spectroscopy as recommended by Davies (19). The value found for β -carotene concentration in row butternut squash was $20 \pm 4 \mu\text{g g}^{-1}$. This result is similar, within the experimental errors, with that obtained by HPLC. Besides, according to the chromatogram (Fig. 1), the *cis*-isomer concentration is much lower than that of the all *trans* β -carotene and therefore not important enough to be worth considering the different provitamin A activities (20).

The concentration determined for α -carotene was $8 \pm 2 \mu\text{g g}^{-1}$ and for lutein (in the mixture with violaxanthin) $5 \pm 1 \mu\text{g g}^{-1}$.

Vitamin A values

On basis of β -carotene and α -carotene as provitamin A, a value of 437,14 $\mu\text{g RE}/100\text{g}$, was obtained for butternut squash from Santiago del Estero, Argentina, calculated according to Food and Agriculture Organization (FAO) and the World Health Organization (WHO) (21).

CONCLUSIONS

In the present work the composition of carotenoids present in butternut squashes (*Cucurbita moschata*) was determined. The analysis of the samples was carried out, applying the method of Rodríguez-Amaya (14-15).

Eight carotenoids were isolated and by their features (chromatographic behavior, absorption spectrum, and chemical reactions) were identified as phytofluene, β -carotene, α -carotene, ζ -carotene, neurosporene, lutein, violaxanthin and neoxanthin. The presence of *cis*- β -carotene was detected by HPLC.

The obtained results coincide with the literature about the carotenoid compositions in squashes and pumpkins (22), although it must be taken into account that the carotenoid composition varies with factors as climate, geographical position, state of maturity, among others.

From the realized analysis, it can be concluded that this type of squashes constitutes an important source of vitamin A. The carotenoids found in these squashes, as mentioned previously may also bring other health benefits because of their antioxidant activity.

Due to these properties, butternut squashes consumption is recommended. Moreover, they are easy to cultivate in our region, taste good, are available all year round and are economical. In this way, the nutritional deficiency in vitamin A, which causes many diseases, may be reduced.

ACKNOWLEDGMENT

This work was financed by FONCyT, CICYT-UNSE, Fundación Antorchas and CONICET.

We acknowledge with gratitude Dr. Delia Rodríguez-

Amaya, for putting at our disposal a HPLC with photodiode-array detector, allowing the execution of our analysis.

REFERENCES

1. Simpson KL. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proc Nut Soc* 1983; 42:7-17.
2. IARC Handbook of Cancer Prevention. Vol. 2. Carotenoids. Lyon: International Agency for Research on Cancer Press, 1998.
3. Mathews-Roth MM. Recent progress in the medical applications of carotenoids. *PureAppl Chem* 1991; 63: 147-157.
4. Olson JA. Biological actions of Carotenoids. *J Nutr* 1989; 119: 94-95.
5. Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* 1989; 274: 532-538.
6. Edge R, Mcgarvey DJ, Truscott TG. The Carotenoids as Antioxidants. A Review. *Photochem Photobiol B* 1997; 41:189-200.
7. Rodríguez-Amaya DB. Assessment of the provitamin A contents of foods. The Brazilian Experience. *J Food Composition Anal* 1996; 9: 196-230.
8. Mercadante AZ, Rodríguez-Amaya DB. Carotenoid composition of a leafy vegetable in relation to some agricultural variables. *J Agric Food Chem* 1991; 39:1094-7.
9. Rodríguez-Amaya DB. Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin-A carotenoids in prepared, processed, and stored foods. Arlington: OMNI, 1997.
10. Rodríguez-Amaya DB. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Arch Latinoamer Nutr* 1999; 49: 38-47.
11. Rodríguez-Amaya DB. Stability of carotenoids during the storage of Foods. In: Shelf life studies of foods and beverages: Chemical, biological, physical, and nutritional aspects. Editor: Charalambous G. Amsterdam: Elsevier Science 1993; 591-628.
12. López de Mishima BA, Closas S, Samman N, de Portela MLPM. Necesidades de investigación sobre Carotenoides en la República Argentina. *Arch Latinoamer Nutr* 1999; 49:98-102.
13. Sanahuja JC, Río ME, de Portela MLPM, Slobodianik N, de Ferrer PR, Friedman SM, Zago L. Estado Nutricional con respecto a vitamina A en una población universitaria de Buenos Aires. *Medicina* 1985; 45:525-8.
14. Kimura M, Rodríguez-Amaya DB and Godoy HT. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamin A. *Food Chem* 1990; 35:187-195.
15. Rodríguez-Amaya DB, Kimura M, Godoy HT, Arima HK. Assessment of provitamin A determination by open column chromatography/visible absorption spectrophotometry. *J Chromatogr Sci* 1988; 26: 624-629.
16. Mercadante AZ. Chromatographic separation of carotenoids. *Arch Latinoamer Nutr* 1999; 49:52-57.

17. Schiedt K, Liaaen-Jensen S. Isolation and Analysis. In: Carotenoids Vol. 1A. Isolation and Analysis. Editors: Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H. Birkhäuser: Basel, 1995: 81-108.
18. Britton G. UV/visible spectroscopy. In: Carotenoids Vol. 1B. Spectroscopy. Editors: Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H. Birkhäuser: Basel, 1995: 13-63.
19. Davies, BH. Carotenoids. In Chemistry and Biochemistry of plant pigments. Goodwin TW, 2^a Ed. Academic Press, London 1976; 2: 38-160.
20. Rodriguez-Amaya DB, Tavares CA. Importance of *cis*-isomer separation in determining provitamin A in tomato and tomato products. Food Chem 1992; 45:297-302.
21. Food and Agriculture Organization/ World health Organization. Requirements of vitamin A, thiamine, riboflavin and niacin. Report of a Joint WHO/FAO Expert group. FAO Nutrition Meeting Report Series N° 41. Rome: FAO Press, 1967; 15.
22. Arima HK. and Rodriguez-Amaya DB. Carotenoids Composition and vitamin A Value of Commercial Brazilian Squashes and Pumpkins. J Micronutr Anal 1988, 4: 177-191.

Recibido: 26-01-2001

Aceptado: 20-09-2001

Acidos grasos en sardina en salsa de tomate de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano

María Isabel castro González , Sara Montaña Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo

Dirección de Nutrición. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México, D.F. México

RESUMEN. Numerosas investigaciones han señalado la importancia que los ácidos grasos tienen en el proceso salud-enfermedad y que los recursos marinos son excelentes fuentes de los ácidos grasos de las series $\omega 3$ y $\omega 6$. En México, la sardina es un producto de origen marino de amplio consumo debido a su alta disponibilidad y bajo costo. El objetivo del presente trabajo fue determinar el perfil de ácidos grasos (AG.) en sardina enlatada en salsa de tomate procedente de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano. Se obtuvieron aleatoriamente 8 marcas comerciales de sardina en salsa de tomate (5 latas de cada marca); se clasificaron de acuerdo al lugar en donde se procesaron en sardina de Baja California Sur (L1), Sonora (L2) y Sinaloa (L3). Las muestras sin drenar se licuaron para la posterior obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, que se analizaron por cromatografía de gases con FID. En todas las localidades se identificaron y cuantificaron 3 AG $\omega 3$ (linolénico, EPA y DHA) y 2 AG $\omega 6$ (linoleico y araquidónico); este alimento es rico en AG monoinsaturados y también presenta una cantidad considerable de AG trans (18:1n9t y 18:2n6t). El DHA fue el AG más abundante en todas las localidades (3064-4704 mg/100g); finalmente, la relación $\omega 3/\omega 6$ fue desde 3.5(L1) hasta 8.9(L3). En conclusión la sardina en salsa de tomate del Pacífico mexicano es una excelente fuente de ácidos grasos ω -3 y ω -6 independientemente del área en donde se procese.

Palabras clave: Sardina enlatada, ácidos grasos, Pacífico mexicano.

SUMMARY. Fatty acids in sardine canned in tomato sauce from different fishing areas of the Mexican Pacific. Numerous investigations have pointed out the importance that the fatty acids have in the process health-illness, and that the marine resources are excellent sources of the series $\omega 3$ and $\omega 6$. In Mexico, the sardine is a product of marine origin of wide consumption due to its high readiness and low cost. The objective of the present study was to determine the fatty acids profile (FA) in sardine canned in tomato sauce coming from different fishing areas (A) of the Mexican Pacific. There were randomly obtained 8 commercial mark (5 cans of each mark) of sardine canned in tomato sauce; they were classified in sardine of South Baja California Sur (A1), Sonora (A2) and Sinaloa (A3). The samples without draining were liquified and thereafter were obtained the methyl esters of fatty acids that were analyzed by gas chromatography with a flame ionization detector. In all the areas they were identified and quantified as 3 FA $\omega 3$ (linolenic, EPA and DHA) and 2 AG $\omega 6$ (linoleic and arachidonic); this source is rich in FA monounsaturated and also presents a considerable quantity of trans FA (18:1n9t and 18:2n6t). The DHA was the most abundant AG in all the areas (3064-4704 mg/100g); finally, the relationships $\omega 3/\omega 6$ were from 3.5 (A1) up to 8.9 (A3). In conclusion, sardine canned in tomato sauce of the Mexican Pacific is a rich food in ω -3 and ω -6 FA, independently of the processing area.

Key words: Canned sardine, fatty acids, Mexican Pacific.

INTRODUCCION

En los últimos años se ha generado una gran cantidad de literatura sobre la importancia de los ácidos grasos, principalmente sobre los ω -3 y ω -6, y su importancia en el proceso salud-enfermedad (1). Los efectos benéficos asociados con el consumo de ácidos grasos procedentes de los alimentos marinos tienen una alentadora revalidación sobre la calidad y cantidad de grasas dietarias que pueden promover una mejor salud. La búsqueda de fuentes alimenticias de ácidos grasos ω -3 y ω -6 está tomando un nuevo impulso (2,3), por lo que se hace necesario el análisis del contenido de ácidos grasos en aquellas especies de amplio consumo en las diferentes poblaciones. Numerosos estudios

(1-4) han demostrado que los recursos marinos son excelentes fuentes de éstos ácidos grasos, sin embargo, los investigadores que han estudiado su potencial terapéutico y sus efectos nutricios no están completamente conscientes de la gran variación que existe en la composición lipídica y de los ácidos grasos en las diferentes especies. Esta variación depende no solo de los cambios estacionales en los hábitos alimenticios de los animales marinos, sino también de la disponibilidad del alimento y las diferencias regionales en la composición de nutrimentos para los peces; estas diferencias también se deben a factores bióticos tales como la especie, zona y época de captura, así como a factores abióticos tales como el manejo y proceso industrial (5, 6). Por esto el objetivo del presente trabajo fue el identificar y cuantificar el contenido de ácidos

grasos presentes sardina en salsa de tomate procedente de diferentes localidades pesqueras del Pacífico mexicano. Información que no está disponible y que será de gran importancia, dada la gran producción pesquera (354 640 t durante 1999) y el amplio consumo de este alimento, para el enriquecimiento de las tablas de composición química de los alimentos, tanto en el ámbito nacional como internacional (7).

MATERIALES Y METODOS

Obtención y preparación de las muestras

Mediante un muestreo aleatorio simple se seleccionaron ocho marcas comerciales de sardina en salsa de tomate en diferentes supermercados de la Ciudad de México. Para cada marca se tomaron cinco latas. Cada marca se clasificó conforme al lugar de enlatado, señalado en la etiqueta en: L1-Baja California Sur; L2-Sonora y L3-Sinaloa. Las cinco latas de cada marca se molieron, sin drenar hasta formar una pasta homogénea, la cual se sometió a un análisis por triplicado de lípidos totales y ácidos grasos. En todas las latas se reportó la siguiente composición de ingredientes: sardina, salsa o pasta de tomate, sal y especias; en sólo un caso se añadió agua; el peso neto de cada lata fue de 425g y el peso drenado 300g. El contenido de grasa total informada en la etiqueta varió desde 3g hasta 5.3g por porción promedio de 54g, incluyendo el líquido.

Análisis químicos

La cuantificación de lípidos totales así como la saponificación y metilación de los ácidos grasos, se realizó de acuerdo a la técnica que a continuación se describe y que es resultado de diversas modificaciones a las técnicas de Folch y col. (8), Bligh y Dyer (9), Morrison y Smith (10) y AOAC (11); desarrolladas en nuestro laboratorio para el análisis de ácidos grasos en alimentos.

Material:	Reactivos:
Matraz Erlenmeyer de 125 ml	Cloroformo GR (grado reactivo)
Vortex	Metanol GR
Agitador mecánico	Hidróxido de sodio
Papel filtro	Agua desionizada
Balanza analítica	Sulfato de sodio anhidro
Tubos de vidrio de 50 ml	Trifluoruro de boro 10-14% metanol
Tubos de vidrio de 10 ml	Heptano grado HPLC
Baño de agua con termostato	Cloruro de sodio

Todos los reactivos utilizados en la preparación de las muestras fueron grado reactivo y en la separación cromatográfica grado HPLC.

Lípidos totales

Homogeneizar la muestra perfectamente. Pesar de 5-10 gramos de alimento fresco en un matraz Erlenmeyer de vidrio de 125 ml. Agregar 20 ml de una mezcla cloroformo metanol 2:1 y 5 ml de agua desionizada. Agitar los matraces en un agitador mecánico por 2 horas. Esperar aproximadamente 10 minutos para que se separen la fase orgánica y la fase acuosa. Filtrar en papel filtro Whatman No. 42 y sobre sulfato de sodio anhidro la fase orgánica en un tubo de vidrio de fondo cónico el cual debe de estar pesado correctamente hasta diezmilésimas. Lavar tanto el matraz como la muestra filtrada con cloroformo varias veces sobre el sulfato de sodio anhidro del paso anterior. El filtrado (fase orgánica) debe de quedar transparente y sin restos de agua. Evaporar a sequedad la fase orgánica del paso anterior en baño María a 40°C y con atmósfera de nitrógeno. Para la cuantificación de los lípidos totales, pesar el tubo con el evaporado del paso anterior y restarle el peso del tubo vacío.

Saponificación

Resuspender con 2-5 ml de cloroformo los lípidos de la muestra. Agitar en Vortex durante 1 minuto. Adicionar 5 ml de sosa metanólica (20g de NaOH en 100 ml de metanol). Poner a ebulir durante 10 minutos en baño María.

Metilación

Enfriar y adicionar 1 ml de trifluoruro de boro, agitar y ebulir en baño María durante 2 minutos. Enfriar y adicionar 5 ml de heptano, ebulir 1 minuto en baño María. Enfriar y adicionar 5 ml de una solución saturada de cloruro de sodio, agitar y esperar a que se separen las fases (10-15 min). Separar en tubo de vidrio con pipeta pasteur la fase de heptano sin pasar agua, en caso de que esto sucediera adicionar al tubo Na₂SO₄, centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos y separar en otro tubo el heptano. Evaporar a sequedad en baño María a 40°C y bajo atmósfera de nitrógeno. Resuspender en 1 ml de cloroformo e inyectar en un cromatógrafo de gases de acuerdo al siguiente método cromatográfico:

Método cromatográfico para análisis de los ésteres metílicos de los ácidos grasos

La identificación y cuantificación se realizó por cromatografía de gases en un equipo Varian Star 3400 CX, utilizando un inyector Split con detección por ionización de llama. El programa de temperatura de la columna fue: Temperatura inicial 120°C; 1 min; 1°C/min durante 10 min; 3°C/min durante 5 min y 5°C/min durante 3 min; Temperatura final: 200 °C manteniéndola 5 min. La temperatura del inyector fue de 200°C y la del detector 280°C. EL radio Split fue de 1:50. La columna utilizada fue una DB23 de 30 m x .57 mm utilizando N₂ como gas portador. El volumen de

inyección fue de 1 µl Se empleó el ácido tricosanoico (13:0) como estándar interno, según Shanta y Ackman (12).

Cálculo de resultados

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se identificaron por sus tiempos de retención relativos a los estándares; se utilizaron diferentes tipos de estándares. Se inyectaron primero en forma individual y después en forma de mezcla los siguientes estándares de Polyscience (kit N°61C): caproato, heptanoato, octanoato, pelargonato, decanoato, undecanoato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, behenato, undecilinato, oleato, linoleato y el petroselínico (P-9125 de Sigma Chemical Co). El segundo grupo de estándares utilizado fue la mezcla comercial SUPELCO 37 FAME MIX (N°. Catálogo 47885-U).

La concentración de los ácidos grasos de las muestras se cuantificó utilizando el área de cada pico con relación al área conocida del estándar. Los resultados de los ácidos grasos se

presentan en mg/100g de alimento.

Análisis estadístico

Los resultados de lípidos totales y ácidos grasos de cada localidad geográfica se sometieron a un análisis de varianza con un diseño totalmente aleatorio. Para la diferencia de medias se empleó la prueba de Tukey con una significancia de 0.05, todo mediante el empleo del paquete estadístico Stat100 para Windows (13).

RESULTADOS Y DISCUSION

Tomando en cuenta las condiciones de laboratorio mencionadas y conforme a los estándares con los que se contó durante la realización de este trabajo, se identificaron y cuantificaron 21 ácidos grasos en la localidad 2 (L1) (de los cuales seis fueron saturados, nueve monoinsaturados y seis poliinsaturados); 20 en L3 y 19 en L1 (Tabla 1).

TABLA 1
Ácidos grasos de la sardina en salsa de tomate de diferentes localidades del Pacífico mexicano (mg/100g muestra)*

Nombre trivial	Formula	Localidad 1	Localidad 2	Localidad 3
Caproico	C6:0	No detectado	0.123±0.024 a	0.085±0.005b
Caprílico	C8:0	No detectado	0.182±0.019	No dectado
Láurico	C12:0	3.1±1.75a	9.25±8.4b	3.4±0.16a
Mirístico	C14:0	25.7±19.9a	15.5±10.6a	17.4±0.3a
Miristoleico	C14:1	20.3±12.5a	23.33±5.06 ^a	19.9±0.4a
Palmítico	C16:0	342.2±213.4a	175.9±225.6a	39.2±0.4ab
Palmitoleico	C16:1n7	145.2±199.1a	237.4±138.8a	375±23.5ab
Esteárico	C18:0	302±255.6 ^a	411.8±460 ^a	121±6a
Cis-vaccénico	C18:1n7c	797.8±546.1a	1083.6±234.5a	867.4±19.2a
Elaídico	C18:1n9t	187.0±126.7a	176.3±68.2a	176±1.4a
Linoleáldico	C18:2n6t	56.6±20.55 ^a	138.8±21.1b	98±6.3c
α-Linolénico	C18:3n3	577.4±112.1a	148.3±25.9b	113.2±11.3b
Linoleico	C18:2n6	362.2±202.4a	591.2±124.6b	431.8±4.0ab
Petroselínico	C18:1n12	178.3±66.4a	149.5±31.6a	205.8±3.5ab
Oleico	C18:1n9	179.0±167a	534.5±217b	335.5±15bc
Araquidónico	C20:4n6	947.0±646.4a	325.24±49.05b	251.0±9.8b
Cis-11-eicosenoico	C20:1n11c	129.0±123.1a	103.0±20a	90.0±4.0a
EPA	C20:5n3	904.6±329a	887±189a	1271.5±37.2b
Erúcico	C22:1n9	206.7±221.5a	383.0±317a	675.4±24.0b
DHA	C22:6n3	4698±2432a	5813.0±2347.6a	6753.2±164a
Nervónico	C24:1n9	163.4±101a	163.5±33.9a	204.9±5.6a

* media y desviación estándar.

a, b, c por columnas, literales diferentes indican diferencia significativa P<0.05

En la localidad 1 no se detectaron el C6:0 y C8:0, en L3 tampoco se presentó C8:0 y las cantidades detectadas de estos ácidos grasos fueron trazas.

En las tres localidades, el ácido graso más abundante fue el DHA y no se detectaron diferencias significativas ($P < 0.05$), el *cis*-vaccénico también se detectó en grandes concentraciones, especialmente en L2. Otro ácido graso abundante fue el EPA, que se presentó sin diferencia estadística entre L1 y L2, siendo mayor en L3. Como se puede observar, en la mayoría de los ácidos grasos se presenta una desviación estándar grande, la cual está dada básicamente por la variación encontrada entre las diferentes marcas comerciales, aún de la misma localidad.

En términos generales se puede apreciar que la mayoría de los ácidos grasos no presentaron variación estadística entre las localidades 1 y 2, sin embargo, la L3 se presenta como la localidad con mayor variación; esto se debe probablemente

a que el número de marcas comerciales de ésta localidad fue el menor, lo que origina menor desviación estándar y un menor intervalo de confianza.

La Tabla 2 muestra el contenido de lípidos totales de las sardinas de diferentes localidades, encontrándose diferencia significativa $P < 0.05$ en todos los grupos, L2 presentó el valor más pequeño (15.6%) y L3 el mayor (18.6%), sin que se aprecie ninguna tendencia a aumentar el contenido graso desde el punto de vista latitudinal. La distribución anatómica de la grasa en los peces varía en las diferentes especies. En los peces bajos en grasa, como el atún, la grasa se deposita principalmente en el hígado, el cual puede representar el 10% del peso corporal y contener 80% de las grasas totales; en los peces grasos, como la sardina, la grasa generalmente se localiza en diferentes tejidos (14). El contenido de lípidos totales encontrado fue mayor en comparación con el contenido de grasa total reportado en las etiquetas.

TABLA 2
Lípidos totales y ácidos grasos ω -3 y ω -6 * presentes en sardina en salsa de tomate de tres localidades del Pacífico mexicano (mg/100g de muestra)

	L1		L2		L3	
Lípidos Totales (g/100g muestra)	17.95 ± 0.4	a	15.6 ± 0.2	b	18.6 ± 0.09	c
ω -3						
α -Linolénico	577.4 ± 112.1 (432 - 775)	a	148.3 ± 26 (106.6 - 170)	b	113.2 ± 11.33 (96.5 - 128.6)	b
EPA	904.6 ± 329 (527.4 - 429.4)	a	887 ± 189 (701 - 947.6)	a	1271.5 ± 37 (1196 - 1289)	b
DHA	3064 ± 2432 (1302 - 7317)	a	4177 ± 2348 (745 - 6772)	a	4704 ± 164 (4519 - 4885)	a
Total ω -3	4545.6		5212.7		6088.4	
ω -6						
Linoleico	362.2 ± 202.4 (86.4 - 667.2)	a	591.2 ± 125 (448 - 749)	b	432 ± 4.0 (428 - 439)	ab
Araquidónico	947 ± 646.4 (176 - 1788)	a	325.2 ± 49 (259 - 256)	b	251 ± 9.9 (240 - 265)	b
Total ω -6	1309.2		916.4		682.8	

a,b,c por columna, literales diferentes indican diferencia estadística $P < 0.05$

- Se presenta la media, desviación estándar e intervalo de confianza.

En la Tabla 2 se observa la distribución promedio y los intervalos de confianza al 95% de los ácidos grasos de las series ω -3 y ω -6, expresados en mg/100g de muestra, en todas las localidades se identificaron y cuantificaron tres ácidos grasos ω 3: 18:3, 20:5 y 22:6 (ácido α -linolénico, EPA y DHA) y dos ácidos grasos ω 6: 18:2 y 20:4 (linoleico y araquidónico). El DHA fue el ácido graso más abundante en la sardina observándose una similitud, a nivel promedio, entre las diferentes localidades ya que no se detectó diferencia significativa $P < 0.05$. Sin embargo, es en la localidad 2 en

donde se puede apreciar un intervalo de confianza muy grande (745-6772 mg/100g), el cual se puede deber probablemente a factores bióticos, como la especie del "recurso sardina" de que se trate en cada marca comercial; un comportamiento similar se observa en L1, aunque con un intervalo de confianza menor. El valor mínimo aquí encontrado es similar al informado por Romero y col. (15) para sardina en conserva natural (1122 ± 216 mg/100g de parte comestible).

El EPA (mg/100g) también se cuantificó en cantidades importantes: L1 (905), L2 (887) y L3 (1271.5) detectándose

una diferencia significativa entre la L3 y las demás localidades. En la L1 se observa que fue mayor el intervalo de confianza (527 - 1429 mg/100g de muestra), y fue este último valor el más alto detectado para el EPA, esto es posible que se deba a las diferencias encontradas entre marcas comerciales de esta localidad; el valor mínimo aquí encontrado es similar al informado por Romero y col. (13) para sardina en conserva natural (604 ± 191 mg/100g de parte comestible). En la L2 se observa un intervalo de confianza más reducido sin que el número de marcas comerciales parezca haber afectado como en la localidad anterior.

El ácido α -linolénico (mg/100g de muestra) fue el menos abundante de los ω -3, se detectó diferencia significativa ($P < 0.05$) entre la L1 con respecto a las otras localidades: L1 (577), L2 (148) y L3 (113). El intervalo de confianza de L1 fue grande y éste fue el único caso en el que un ácido graso se cuantificó en cantidades mucho mayores con relación a las otras localidades.

La mayor cantidad promedio de ácidos grasos ω -3 totales se presentó en la L3 (mg/100g de muestra) L1(4546), L2 (5212) y L3 (6088), con valores más altos (de EPA y DHA) que los informados para otras especies marinas enlatadas: atún albacora en agua (190 y 620 mg/100g, respectivamente), atún albacora en aceite vegetal (290 y 840 mg/100g), filetes de arenque enlatado en salsa de tomate (400 y 740 mg/100g) (3). Los resultados encontrados en este trabajo con respecto

al contenido de ácidos grasos ω -3 (4546 - 6088 mg de ácidos grasos ω -3/100g de porción comestible) fueron mucho mayores en comparación con lo informado por otros autores en sardina (drenada o natural) (1600-2097 mg de ácidos grasos ω -3/100g de porción comestible) (2, 14-16).

Se identificaron dos ácidos grasos ω -6 en las tres localidades (linoleico y araquidónico), de los cuales éste último fue el menos abundante en L2 (325mg/100g) y L3 (251mg/100g) con intervalos de confianza pequeños en comparación con la L3 (947mg/100g en promedio y un intervalo de confianza de (176 - 1788 mg/100g). En esta misma localidad el ácido linoleico fue en promedio el menos abundante (362 mg/100g) en comparación con L2 (591mg/100g) y L3 (432 mg/100g), sin embargo, el intervalo de confianza fue el mayor (86 - 667 mg/100g).

En la Tabla 3 se presenta la tipología de los ácidos grasos presentes en la sardina en salsa de tomate. En todas las localidades los ácidos poliinsaturados fueron los más abundantes, seguidos de los monoinsaturados. Los poliinsaturados tuvieron poca variación (desde 65.5 hasta 70%). La localidad con la mayor concentración de poliinsaturados fue L3. Los porcentajes de los ácidos grasos monoinsaturados fueron semejantes entre L2 y L3 (28%) y más bajos en L1 (23.4%). En cuanto a los ácidos grasos saturados se observó una mayor variación porcentual entre las localidades (desde 12.9 en L3 hasta 7.8 en L1).

TABLA 3
Tipología de los ácidos grasos presentes en sardina en salsa de tomate del Pacífico mexicano

	Localidad 1		Localidad 2		Localidad 3	
	mg/100g	%	mg/100g	%	mg/100g	%
Saturados	673	7.8	613	6.4	181	1.9
Monoinsaturados	2006	23.4	2690	28.11	2745	28.0
Poliinsaturados	5911	68.8	6268	65.49	6869	70.1
Total		100		100		100
ω -3	4545.6	23.3	5212.7	26.3	6088.4	23.7
ω -6	1309.2	6.7	916.4	4.6	682.8	2.6
Trans	1927.1	9.9	1902.2	9.6	1858	7.3
ω -3/ ω -6	3.47	-	5.68	-	8.9	-
Total	8590	-	9571	-	9795	-

Los ácidos grasos saturados predominantes fueron el palmítico (16:0) y el esteárico (18:0), con las más altas concentraciones en la L1 y L2, respectivamente. Los ácidos grasos monoinsaturados estuvieron representados principalmente por los ácidos cis-vaccénico, erúxico y oleico; el ácido nervónico (24:1n9) recibe su nombre trivial desde que se aisló por primera vez del tejido cerebral, en coincidencia se sugiere que en los aceites de pescado este

ácido graso debe acumularse del sistema nervioso de las presas que consumen (12).

Los ácidos grasos poliinsaturados estuvieron representados por los ácidos α -linolénico, EPA y DHA de la familia ω 3 y el linoleico y araquidónico de los ω 6; los valores encontrados en este trabajo fueron mayores a los informados por Ackman (16) para el porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de aceite de sardina obtenidos tanto

del valor de yodo de Wijs como por GLC (29.6 y 30.1%, respectivamente) y a también mayores a lo informado por Regeinstein (14) (25 a 35%), es importante recordar que no se reporta aceite en la composición de ingredientes de las marcas comerciales analizadas, por lo que los valores de los ácidos grasos poliinsaturados provienen seguramente de las especies comercializadas.

Los ω -3 representaron entre un 23 y 26% del contenido total de ácidos grasos, mientras que la fracción ω -6 tuvo un intervalo de 2.6 a 6.7%, siendo la fracción más variable de todos los ácidos grasos identificados. El ácido graso poliinsaturado predominante en todas las localidades fue el DHA. Se puede observar que existe una relación inversamente proporcional entre los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, por localidades.

El EPA y el DHA presentes en los pescados provienen de la alimentación, ya sea incorporados preformados (digeridos y absorbidos) o se generan por desaturación y elongación del ácido linolénico, el ácido graso esencial proveniente del alimento. Estos ácidos grasos (EPA y DHA) pueden acumularse en los depósitos grasos de los animales marinos (por ejemplo, sardina y arenque) directamente de la absorción de las algas planctónicas (16).

La relación ω -3/ ω -6 fue de 3.47 (L1), 5.68 (L2) y 8.9 (L3), lo cual indica que la sardina de la L3 es un recurso muy rico en ω 3, en comparación con la de las otras localidades analizadas. Los pescados son ricos en ácidos grasos de la familia ω -3, que es la familia linolénica; y son pobres en ácidos grasos de la familia ω -6, que es la familia linoleica (14). Hasta la fecha no existen datos suficientes para determinar el consumo óptimo de ácidos grasos ω -3 y ω -6, sin embargo, se pueden dar ciertas recomendaciones: para adultos con una dieta de 2000 kcal se sugieren los siguientes consumos en g/d: ácido linoleico (4.4), linolénico (6.67), DHA+EPA (0.65). Durante los estados fisiológicos de preñez y lactancia la mujer debe ingerir al menos 300 mg de DHA/d (17).

Los ácidos grasos trans son ácidos grasos insaturados que tienen al menos un doble enlace en configuración trans, los más frecuentes son los monoinsaturados, pero también pueden encontrarse isómeros diinsaturados con configuraciones cis, trans o trans, cis. Las fuentes más frecuentes de éstos ácidos grasos isoméricos son las margarinas y grasas de repostería que contienen aceites de pescado o vegetales parcialmente hidrogenados, sin embargo, las grasas animales y marinas contienen pequeñas cantidades de isómeros trans naturales. En investigaciones clínicas los ácidos grasos trans interfieren con el metabolismo de los ácidos grasos esenciales. La cantidad de ácidos grasos trans en la dieta se relaciona directamente con la cantidad de éstos ácidos en los fosfolípidos plasmáticos (18,19,20).

Se identificaron dos ácidos grasos trans: 18:1n9t (elaídico) y 18:2n6t (linolelaídico). El ácido elaídico no presentó diferencia significativa $P < 0.05$ entre localidades, con valores iguales en L2 y L3 (176 mg/100g), mientras que en L1 fue un poco mayor (187 mg/100g); el ácido linolelaídico se cuantificó en valores más pequeños que el anterior, detectándose diferencia estadística entre las tres localidades. La L1 presentó la menor concentración (56.6 mg/100g) y la mayor desviación estándar; la mayor concentración de éste ácido fue en L2 (139 mg/100g) sin embargo, las cantidades encontradas para ambos ácidos trans en todas las localidades, está por debajo de las cantidades máximas recomendadas para adultos con una dieta de 2000 kcal (2%) (17).

CONCLUSIONES

La sardina capturada en el Pacífico mexicano y enlatada en salsa de tomate es un alimento rico en ácidos grasos poliinsaturados, principalmente de la serie ω -3 (DHA y EPA), independientemente de la localidad en donde se procese.

Los ácidos grasos más abundantes de la localidad 1 fueron: palmítico, cis-vaccénico, α -linolénico, araquidónico, EPA y DHA; de la localidad 2: cis-vaccénico, linolelaídico, α -linoleico, oleico, EPA y DHA; y de la localidad 3: cis-vaccénico, α -linoleico, oleico, EPA, erúcido, DHA y nervónico. En L2 se detectaron además los ácidos caproico y caprílico. Existe gran variación en algunos ácidos grasos de la sardina en salsa de tomate, tanto en una misma localidad como entre localidades, debido probablemente a dos cosas: una, que el recurso sardina se forma de diferentes tipos de especies y dos, a que se analizaron diferentes marcas comerciales de un mismo lugar pero que pudieron haber tenido variación en el proceso de elaboración y en el tipo y calidad de los ingredientes utilizados.

Por el contenido de ácidos grasos esenciales se recomienda el consumo de sardina de la localidad 3 (Sinaloa), aunque las cantidades encontradas en otras localidades son bastante considerables.

REFERENCIAS

1. National Institute of Health. National Library of Medicine. Effects of fish oils and polyunsaturated omega-3 fatty acids in Health and Disease. Arthur Wykes (editor). Special Bibliography 1995-AW. USA. 1995.
2. Nettleton JA. ω -3 Fatty acids: Comparison of plant and seafood sources in human nutrition. J. Am. Diet. Assoc. 1991; 91(3):331-337.
3. Ackman RG. Fatty acids in fish and shellfish. In: Ching Kuang, editor. Fatty Acids in Foods and their Health Implications. Marcel Dekker. USA. 1992:169-184.
4. usuf HK, Rumi AS, Rahman R, Quazi S, Hossain A. Fatty acids of 12 marine fish species of the Bay of Bengal. J. Food

- Comp. Anal. 1993;6(4):346-353.
5. Castro-González MI, Pérez-Gil RF, Juárez SME. Vitaminas y minerales del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) del Pacífico mexicano enlatado en aceite. Arch Latinoamer Nutr, 1998;48(3):265-268.
 6. Castro-González MI, Pérez-Gil RF, Montaña BS. Vitaminas y minerales de la sardina en salsa de tomate colectada en las zonas pesqueras del Pacífico mexicano. Arch Latinoamer Nutr, 1999;4(49):379-383.
 7. INEGI. El Sector Alimentario en México. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, Ags., México. 2000.
 8. Folch JM, Less m, Sloan SH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 1957;226:497-509.
 9. Bligh EG and Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. 1959, Can J Biochem Physiol, 37:911-917.
 10. Morrison WR and Smith LM. Preparation of fatty acids methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. 1964, J Lip Res, 5:600-608.
 11. AOAC. Official Methods of Analysis. 16th ed. Helrech E, Ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, D.C., 1996.
 12. Shanta NC., Ackman RG. Nervonic acid versus tricosanoic acid as internal standards in quantitative gas chromatographic analysis of fish oil longer chain n-3 polyunsaturated fatty acid methyl esters. J. Chromatography. 1990;533:1-10.
 13. Biosoft. Stat-100. Statistical Analysis Package for Windows. Biosoft. U.K. 1996.
 14. Regenstein JM y Regenstein CE. Introduction to Fish Technology. An Osprey Book. Van Nostrand Reinhold. USA. 1991.
 15. Romero N, Paz R, Masson L, Luck C, Buschmann A. Composición en ácidos grasos y aporte de colesterol de conservas de jurel, sardina, salmón y atún al natural. Arch Latinoamer Nutr, 1996;46(1):75-77.
 16. Ackman RG. Animal and marine lipids. In: Kamel B & Kakuda Y, editors. Technological Advances in Improved and Alternative Sources of Lipids. U.K.:Chapman & Hall. 1994:292-328.
 17. Simopoulos AP. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. Symposium: Role of poultry products in enriching the human diet with n-2 pufa. 2000, Poult Sci, 79:961-970.
 18. FAO/OMS. Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos. Estudio FAO Alimentación y Nutrición 57. Organización Mundial de la Salud/Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 1997. p. 83-92.
 19. Simopoulos AP. Trans Fatty Acids. In: Handbook of Lipids in Human Nutrition. Chapter 2.4. CRC Press. USA. 1996.
 20. Harold E, Kirk RS, Sawyer R. Aceites y Grasas. In: Análisis Químico de Alimentos de Pearson. Compañía Editorial Continental. México, 5ª. Edición. 1993.

Recibido:02-02-2001

Aceptado:06-09-2001

Acidos grasos del atún de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano, en aceite y agua

Maria Isabel Castro González, Sara Montaña Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo

Departamento de Nutrición Animal. Dirección de Nutrición. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". México, D.F. México

RESUMEN. Existe una relación directa entre el estado de salud y la dieta, y dentro de ésta algunos componentes, como los ácidos grasos (AG.), influyen mayormente en la prevención de ciertas enfermedades (coronarias, respuesta inmune, respuesta inflamatoria, tensión arterial). Una de las principales fuentes de AG esenciales son los productos de origen marino; el atún es un alimento marino de amplio consumo en México dada su acequibilidad y bajo costo. El objetivo de este trabajo fue determinar el perfil de ácidos grasos (AG) en atún de tres localidades del Pacífico mexicano, enlatado en aceite y en agua. Se obtuvieron aleatoriamente 7 marcas comerciales de atún en aceite (AA) y 5 de atún en agua (AW) procedentes de las siguientes zonas pesqueras: Baja California Sur (L1), Colima (L2) y Mazatlán (L3). Las muestras sin drenar se licuaron para la posterior obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, que se analizaron por cromatografía de gases con FID. En las tres localidades (L1, L2 y L3) y los dos grupos (AA y AW) se identificaron 20 AG (mg/100g); tres AG ω 3 (EPA, DHA y linolénico) y dos ω 6 (linoleico y araquidónico). En los AA de las tres localidades los AG saturados más abundantes fueron el esteárico y palmítico, el monoinsaturado más abundante fue el cis-vaccénico, seguido del oleico. El comportamiento de los ω 3 en los AA de las tres localidades fue similar: niveles bajos de linolénico (447-755), seguidos por el EPA (979-1323) y finalmente elevadas concentraciones de DHA (1862-3327). En el AW el DHA fue el ácido graso más abundante en todas las localidades (1086-4456), el saturado más abundante fue el palmítico (640-3809). Se observó la presencia de AG trans en ambos grupos, pero en AW la concentración fue muy elevada: linolelaídico (1394-1495) y elaidico (377-1234). La relación ω 3/ ω 6 en los AA fue similar entre las localidades 1 y 2 y menor en L3; en AW fue similar entre L2 y L3 y menor en L1. En conclusión, existe variación evidente en el contenido de AG entre localidades; se puede considerar al AA de L3 como el más rico en AG ω 3 y ω 6, lo mismo que para el AW de L2. En general, el AW es un alimento más rico en AG ω 3 y ω 6 que el AA, independientemente de la localidad.

Palabras clave: Atún enlatado, ácidos grasos, Pacífico mexicano.

SUMMARY. Fatty acids of the tuna of different fishing areas of the Mexican Pacific, canned in oil and water. A direct relationship exists between the state of health and the diet, and inside this some components, such as the fatty acids (FA), influence mostly in the prevention of certain illnesses (coronary heart disease, hypertension, rheumatoid arthritis, inflammatory answer, and arterial pressure). One of the main sources of essential FA are the marine products; the tuna is a marine food of wide consumption in Mexico due its readiness and low cost. The objective of this work was to determine the profile of fatty acids (FA) in tuna canned in oil and in water coming from three fishing areas of the Mexican Pacific. There were randomly obtained 7 oil-tuna commercial marks (AA) and 5 water-tuna (AW) coming from the next fishery areas: Baja California Sur (L1), Colima (L2) and Mazatlán (L3). The samples without draining were liquefied and thereafter it was obtained the methyl esters of fatty acids that were analyzed by gas chromatography with a flame ionization detector. In all the areas were identified 20 FA (mg/100g); three AG ω 3 (EPA, DHA and linolenic) and two ω 6 (linoleic and arachidonic). In the AA of the three areas the most abundant saturated FA were estearic and palmitic acids, the most abundant monounsaturated fatty acid was the cis-vaccenic, followed by the oleic acid. The behavior of those ω 3 in the AA of the three areas were similar: with the less quantity was the linolenic acid (447-755), continued by the EPA (979-1323) and finally high concentrations of DHA (1862-3327). In the AW the DHA was the most abundant fatty acid in all the areas (1086-4456), the most abundant monounsaturated fatty acid was the palmitic (640-3809). It was observed the presence of trans fatty acids in high quantities in AW: linolelaidic (1394-1495) and elaidic (377-1234). The relationship ω 3/ ω 6 in the AA was similar in L1 and L2, and lower in L3; in AW was higher in L2 and L3. In conclusion, evident variation exists in the content of FA among areas; it could be considered that the AA of L3 and AW of L2 as the richest in ω -3 and ω -6 FA. In general, the tuna in water is a richer food in FA ω 3 and ω 6 that the tuna in oil, independently of the fishery area.

Key words: Canned tuna, fatty acids, Mexican Pacific.

INTRODUCCION

México ocupa el lugar 17 en el ámbito mundial por su producción pesquera total, el 21 en términos de balanza comercial y el décimo en especies de tñidos. La participación de los pescados y mariscos en la dieta mexicana aún está condicionada a la proximidad de las zonas de pesca y al consumo ligado a factores culturales. Según cifras de la Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, el consumo actual per cápita en México es de 11.47 kg al año; en 1999 el volumen de captura de tñidos en peso vivo, tanto del litoral del Pacífico como del Golfo y Caribe fue de 147 262 t. La mayor parte de la pesca de atún se destina al consumo humano en el mercado nacional. De acuerdo con la Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT), la flota atunera mexicana realiza alrededor del 3.7% de la captura mundial y el 32% de la efectuada en el Pacífico oriental. México figura entre los principales consumidores de atún enlatado, junto a Japón, Estados Unidos y algunas naciones europeas (1,2).

Por su bajo costo y acequibilidad el atún es un alimento marino de amplio consumo en México. El atún mexicano es principalmente capturado y procesado en las costas del Pacífico (142 960 t para 1999) y se considera un «recurso» ya que está formado por diferentes géneros: *Thunnus*, *Katsuwonus* y *Sarda*, conocidos con los nombres comunes de atún aleta amarilla, albacora, patudo, atún aleta azul, atún ojigrande, atún aleta negra, bonito, barrilete negro y barrilete. La infraestructura portuaria para la captura y procesamiento del atún, sólo en el Pacífico oriental tiene una capacidad de acarreo de más de 42 millones de toneladas métricas (3,4).

En los últimos años numerosos estudios han determinado la importancia de los ácidos grasos (AG). Se tienen grandes avances en el conocimiento de los mecanismos fisiológicos y moleculares de algunos ácidos grasos, principalmente ω -3 y ω -6 en el proceso salud-enfermedad. Específicamente, se han demostrado sus efectos benéficos en la prevención y manejo de enfermedades coronarias, hipertensión, diabetes tipo 2, enfermedad renal, artritis reumatoide, colitis ulcerativa, desarrollo de la retina y cerebro y en la enfermedad pulmonar crónica obstructiva. Hasta la fecha, no existen datos suficientes para determinar el consumo óptimo de AG ω -3 y ω -6, sin embargo, algunas recomendaciones se pueden dar para adultos con una dieta de 2000 kcal (g/d): LA (4.4), ALA (6.67), DHA+EPA (0.65), AGtrans (2.0); durante preñez y lactancia la mujer debe ingerir al menos 300 mg DHA/d (5-8).

Se ha demostrado que los recursos marinos son excelentes fuentes de AG (9), sin embargo, poca importancia se ha dado desde el punto de vista nutricional y terapéutico a la variación que existe en la composición de los AG dependiente de factores bióticos y abióticos tales como: la especie, la zona y época de captura, así como el manejo y proceso industrial al que se somete el recurso, por lo que el objetivo del presente

trabajo fue identificar y cuantificar la concentración de ácidos grasos en atún aleta amarilla *Thunnus albacares* de 3 localidades del pacífico mexicano y en dos tipos de conserva: enlatado en aceite y en agua.

MATERIALES Y METODOS

Obtención y preparación de las muestras

Mediante un muestreo aleatorio simple se seleccionaron 7 marcas comerciales de atún en aceite (AA) y 5 de atún en agua (AW), en diferentes centros de abasto de la Cd. de México. Para cada caso se tomaron tres latas de cada marca. Cada marca se clasificó conforme al lugar de enlatado, señalado en la etiqueta, en: L1-Baja California Sur, L2-Colima y L3-Mazatlán; las tres latas de cada marca se molieron, sin drenar, hasta formar una pasta homogénea, la cual se sometió a un análisis por triplicado de lípidos totales y ácidos grasos.

Análisis químicos

La cuantificación de lípidos totales así como la saponificación y metilación de los ácidos grasos, se realizó de acuerdo a la técnica que a continuación se describe y que es resultado de diversas modificaciones a las técnicas de Folch y col. (10), Bligh y Dyer (11), Morrison y Smith (12) y AOAC (13); desarrolladas en nuestro laboratorio para el análisis de ácidos grasos en alimentos.

Material:

Matraz Erlenmeyer de 125 ml
Vortex
Agitador mecánico
Papel filtro
Balanza analítica
Tubos de vidrio de 50 ml
Tubos de vidrio de 10 ml
Baño de agua con termostato

Reactivos:

Cloroformo GR (grado reactivo)
Metanol GR
Hidróxido de sodio
Agua desionizada
Sulfato de sodio anhidro
Trifluoruro de boro
10-14% metanol
Heptano grado HPLC
Cloruro de sodio

Lípidos totales

Homogeneizar la muestra perfectamente. Pesar de 5-10 gramos de alimento fresco en un matraz Erlenmeyer de vidrio de 125 ml. Agregar 20 ml de una mezcla cloroformo metanol 2:1 y 5 ml de agua desionizada. Agitar los matraces en un agitador mecánico por 2 horas. Esperar aproximadamente 10 minutos para que se separen la fase orgánica y la fase acuosa. Filtrar en papel filtro Whatman No. 42 y sobre sulfato de sodio anhidro la fase orgánica en un tubo de vidrio de fondo cónico el cual debe de estar pesado correctamente hasta diezmilésimas. Lavar tanto el matraz como la muestra filtrada con cloroformo varias veces sobre el sulfato de sodio anhidro del paso anterior. El filtrado (fase orgánica) debe de quedar transparente y sin restos de agua. Evaporar a sequedad la fase orgánica del paso anterior en baño María a 40°C y

con atmósfera de nitrógeno. Para la cuantificación de los lípidos totales, pesar el tubo con el evaporado del paso anterior y restarle el peso del tubo vacío.

Saponificación

Resuspender con 2-5 ml de cloroformo los lípidos de la muestra. Agitar en Vortex durante 1 minuto. Adicionar 5 ml de sosa metanólica (20g de NaOH en 100 ml de metanol). Poner a ebullición durante 10 minutos en baño María.

Metilación

Enfriar y adicionar 1 ml de trifluoruro de boro, agitar y ebullición en baño María durante 2 minutos. Enfriar y adicionar 5 ml de heptano, ebullición 1 minuto en baño María. Enfriar y adicionar 5 ml de una solución saturada de cloruro de sodio, agitar y esperar a que se separen las fases (10-15 min). Separar en tubo de vidrio con pipeta pasteur la fase de heptano sin pasar agua, en caso de que esto sucediera adicionar al tubo Na₂SO₄, centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos y separar en otro tubo el heptano. Evaporar a sequedad en baño María a 40°C y bajo atmósfera de nitrógeno. Resuspender en 1 ml de cloroformo e inyectar en un cromatógrafo de gases de acuerdo al siguiente método cromatográfico:

Método cromatográfico para análisis de los ésteres metílicos de los ácidos grasos

La identificación y cuantificación se realizó por cromatografía de gases en un equipo Varian Star 3400 CX, utilizando un inyector Split con detección por ionización de llama. El programa de temperatura de la columna fue: Temperatura inicial 120°C; 1 min; 1°C/min durante 10 min; 3°C/min durante 5 min y 5°C/min durante 3 min; Temperatura final: 200 °C manteniéndola 5 min. La temperatura del inyector fue de 200°C y la del detector 280°C. EL radio Split fue de 1:50. La columna utilizada fue una DB23 de 30 m x .57 mm utilizando N₂ como gas portador. El volumen de inyección fue de 1 µl Se empleó el ácido tridecanoico (13:0) como estándar interno, según Shanta y Ackman (14).

Cálculo de resultados

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se identificaron por sus tiempos de retención relativos a los estándares; se utilizaron diferentes tipos de estándares. Se inyectaron primero en forma individual y después en forma de mezcla los siguientes estándares de Polyscience (kit N°61C): caproato, heptanoato, octanoato, pelargonato, decanoato, undecanoato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, behenato, undecilinato, oleato, linoleato y el petroselínico (P-9125 de Sigma Chemical Co). El segundo grupo de estándares utilizado fue la mezcla comercial SUPELCO 37 FAME MIX (N°. Catálogo 47885-U).

La concentración de los ácidos grasos de las muestras se

cuantificó utilizando el área de cada pico con relación al área conocida del estándar. Los resultados de los ácidos grasos se presentan en mg/100g de alimento. Todos los reactivos utilizados en la preparación de las muestras fueron grado reactivo y en la separación cromatográfica grado HPLC.

Análisis estadístico

Los resultados de lípidos totales y ácidos grasos de cada localidad geográfica se sometieron a un análisis de la normalidad y se aplicó un análisis de varianza con un diseño totalmente aleatorio. Para la diferencia de medias se empleó la prueba de Tukey con una significancia de 0.05. A los resultados de los AG ω -3 y ω -6 se les realizó una estadística descriptiva con la que se obtuvieron los Intervalos de confianza al 99%, todo mediante el empleo del paquete estadístico Stat100 para Windows (15).

RESULTADOS Y DISCUSION

Bajo las condiciones de laboratorio establecidas y de acuerdo a los estándares con los que se contó durante la realización del presente trabajo, se identificaron y cuantificaron, tanto en atún en agua como en aceite, 20 ácidos grasos (Tablas 1 y 3).

Atún en aceite

Los lípidos totales (Tabla 2) presentaron diferencia significativa en las 3 localidades (P<.05). En la L1 se identificaron 6 ácidos grasos saturados, 8 monoinsaturados y 6 poliinsaturados, en L2 no se identificaron ni el ac. Caproico ni el ac. Caprílico y en L3 el ac. caprílico no se detectó (Tabla 1). Los AG más abundantes fueron los poliinsaturados DHA y EPA, este último con diferencias significativas entre localidades; seguidos de los monoinsaturados oleico y cis-vaccenico; el AG saturado más abundantes fue el palmítico, sin diferencia estadística entre grupos (P>.05). Los AG con mayor variación estadística fueron el oleico y el EPA y los más estables fueron el mirístico, palmítico, eláidico y cis-vaccenico. En general, la localidad 3 presentó los valores mas altos para la mayoría de los AG, lo cual pudiera estar dado por dos posibles factores: 1) factores bióticos, como el tipo de alimentación que el atún encuentre en esa zona o 2) factores abióticos, como el tipo de aceite que se esté empleando en el proceso de enlatado; por el contrario, en la L2 no se detectaron 2 AG saturados, probablemente por la inestabilidad de éstos durante el proceso. Las desviaciones estándar tan elevadas en la mayoría de los casos probablemente se deben al tipo y cantidad de aceite que se empleó en las diferentes empacadoras, ya que este fenómeno no se observó en el atún en agua. La L3 fue la localidad con la mayor concentración de AG, la menor fue L2, con una diferencia de aproximadamente un 25% entre una y otra.

TABLA 1
 Ácidos grasos del atún en aceite de tres localidades del Pacífico mexicano*. (mg/100g muestra)

Nombre trivial	Nombre abreviado	L1		L2		L3	
		Media	D.S.	Media	D.S.	Media	D.S.
Saturados							
Caproico	C6:0	0.119	±0.01	ND		0.86	±0.06
Caprílico	C8:0	0.206	±0.01	ND		ND	
Laurico	C12:0	2.7	±1.1 ^a	1.7	±0.4 ^a	3.2	±2.0 ^b
Mirístico	C14:0	39.2	±16 ^a	50.9	±19 ^a	39.4	±21 ^a
Palmítico	C16:0	621.9	±142 ^a	570	±353 ^a	607	±301 ^a
Esteárico	C18:0	246.7	±83 ^a	428.1	±121 ^b	339	±88 ^b
Σ Saturados			911		1051		990
Monoinsaturados							
Miristoleico	C14:1	85.5	±52 ^a	24.4	±15 ^b	28.7	±8.6 ^b
Palmitoleico	C16:1n7	106.2	±37 ^a	256.1	±138 ^b	318	±204 ^b
Petroselínico	C18:1n6	317.8	±142 ^a	496.8	±31 ^b	434	±90 ^b
Oleico	C18:1n9	876.2	±90 ^a	543.6	±34 ^b	694	±226 ^c
Cis-vaccénico	C18:1n11c	815.1	±49 ^a	800.1	±59 ^a	757	±207 ^a
Cis-11-eicosenoico	C20:1n11c	313.6	±123 ^a	106.4	±74 ^a	491	±209 ^b
Erucico	C22:1n9	485.5	±102 ^a	516.5	±67 ^a	336	±188 ^b
Σ Monoinsaturados		3000		2744		3059	
Trans							
Linolelaídico	C18:2n6t	314.4	±77 ^a	460.2	±26 ^b	507	±202 ^b
Elaidico	C18:1n9t	314.4	±9 ^a	281.7	±30 ^a	284	±115 ^a
Σ Trans		629		742		791	
Poliinsaturados							
Linoleico	C18:2n6	311	±129.2 ^a	197.3	±29 ^a	940	±558 ^b
Araquidónico	C20:4n6	442.3	±118.5 ^a	380.3	±105 ^a	1130	±883 ^b
α-Linolénico	C18:3n3	755.1	±179.4 ^a	447.4	±210 ^b	554	±231 ^b
EPA	C20:5n3	1207	±180 ^a	1322.7	±61 ^b	979	±512 ^c
DHA	C22:6n3	2304	±1110 ^a	1861.7	±239 ^a	3327	±1015 ^b
Σ Poliinsaturados		5019		4209		6930	
Total ácidos grasos		9559		8746		11769.5	

a, b, c por columna, literales diferentes indican diferencia significativa P<.05

ND = no detectado

Abr. = abreviado

L1= Baja California

L2= Colima

L3= Mazatlán

Se detectó la presencia de dos ácidos grasos trans, el elaidico y el linolelaídico, este último en cantidades elevadas, sobretodo en la L3. Es probable que esto se deba a las temperaturas de cocción a las que se somete el atún. Las desviaciones estándar altas en la mayoría de los AG, así como los intervalos de confianza tan grandes se deben a los valores encontrados en las diferentes marcas comerciales, y que al agruparse por localidades ocasionan estos comportamientos.

Atún en agua

Los lípidos totales fueron muy semejantes entre los atunes de las diferentes localidades y no se detectó diferencia significativa (P>.05), se identificaron los mismos AG que en AA, pero en este grupo los AG más abundantes fueron el DHA (ω-3) y el linolelaídico (trans), el palmítico fue muy abundante en L2 y L3 (2786 y 3809 mg/100g muestra); otros ácidos abundantes fueron el elaidico (en L1 y L2) y el α-linolénico (en L1). El araquidónico y esteárico se presentan en cantidades intermedias. La desviación estándar en este

grupo, a diferencia del AA, es pequeña y puede estar indicando que las diferencias encontradas se deben a la existencia de los ácidos grasos propios del atún, sin influencia de aceites agregados. Estas diferencias están dadas entonces por dos posibles factores: 1) la calidad del proceso tecnológico y 2) factores ambientales existentes en las diferentes localidades de captura. Con relación a la cantidad de AG trans, se recomienda como máximo un 2% de estos ácidos de la energía total consumida (6).

En general se puede observar que existe diferencia significativa en la mayoría de los AG, excepto para el linolelaídico, miristoleico, estearato, petroselínico y erucico, los cuales fueron semejantes entre L1 y L3. El araquidónico y el oleico no presentaron diferencias entre L1 y L2. La localidad con la mayor concentración de AG fue L2, diferencia dada por el DHA, principalmente. La L2 y L3 tuvieron valores de AG totales muy semejantes, mientras que en L1 el valor de los AG totales fue menor.

TABLA 2

Lípidos totales y ácidos grasos ω-3 y -6 del atún en aceite del Pacífico mexicano.*

	Localidad 1	Localidad 2	Localidad 3
Lípidos Totales (g/100g muestra)	22.5 ± 0.08 ^a	21.5 ± 0.20 ^b	20.9 ± 0.13 ^c
ω-3 (mg/100g muestra)			
α-Linolénico	755 ^a 447 ^b (579 - 930)	554 ^b (225 - 657)	(221 - 763.5)
EPA	1207 ^a (1030.5 - 1398)	1323 ^b (1299 - 1516)	979 ^c (325 - 1551)
DHA	2304 ^a (1229 - 3383)	1862 ^a (1603 - 2145)	3327 ^b (1908 - 4288)
Σ ω-3	4266	3631.8	4860.4
ω-6			
Linoleico	311 ^a (179 - 439)	197 ^a (157 - 237)	940 ^b (185 - 1677)
Araquidónico	442 ^a (317 - 560)	380 ^a (316 - 555)	1130 ^b (721 - 2359)
Σ ω-6	753	578	2070
ω3: ω6	5.7:1	6.3:1	2.3:1

a, b, c por columna, literales diferentes indican diferencia estadística P<.05
* se presenta la media e intervalo de confianza (99%).

Diferencias entre atún en aceite (AA) y en agua (AW)

La concentración de AG totales (Tablas 1 y 3) fue mayor en el AW en las tres localidades; la concentración de lípidos totales en el AA, como era de esperar fue de casi el doble en comparación con el AW. La concentración de AG en el AW corresponde al 89.91% de los lípidos totales presentes en el atún de las 3 localidades. La mayor concentración de AG saturados se observó en el AW con valores de 14%(L1), 24%(L2) y 42%(L3), mientras que el AA presentó un 9.5% (L1), 12%(L2) Y 8.4%(L3). Los AG saturados predominantes en las 3 localidades y en los 2 tipos de atún fueron el palmítico y el esteárico en ese orden en las 3 localidades y dos presentaciones. Los AG monoinsaturados predominantes en el AA fueron el oleico y cis-vaccenico y en el AW fue el palmitoleico. En el AA predominó la concentración de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en las tres localidades en un intervalo de 53-63%. En todos los casos el AGPI predominante fue el DHA. En el AW la concentración total de AG se mantiene entre localidades a diferencia del AA, nuevamente es probable que esta diferencia se deba al tipo y cantidad de aceite que se anexa al pescado durante el proceso.

TABLA 3

Acidos grasos del atún en agua de tres localidades del Pacífico mexicano*. (mg/100g muestra)

Nombre trivial	Nombre abr.	L1		L2		L3	
		Media	D.S	Media	D.S	Media	D.S
Saturados							
Caproico	C6:0	0.59	0.01	0.17	0.01	0.161	.002
Caprílico	C8:0	4.45	0.06	3.00	1.2	0.5	0.29
Laurico	C12:0	1.36	.006	0.38	0.02	2.3	0.13
Mirístico	C14:0	75.84	0.04	55.41	3.4	87.4	2.30
Palmítico	C16:0	640.70	0.25	2786.3	141.7	3809.5	139
Esteárico	C18:0	908.80	0.16	712.3	19.9	937.6	7.90
Σ Saturados		1632		3558		4838	
Monoinsaturados							
Miristoleico	C14:1	9.96	0.27	54.02	3.7	12.6	0.23
Palmitoleico	C16:1n7	568	0.38	447.2	5.6	777.8	.364
Petroselinico	C18:1n6	236.4	0	108.4	14.07	245.2	6.90
Oleico	C18:1n9	323.9	0.27	339.6	19.7	116.9	1.40
Cis-vaccenico	C18:1n11c	74.7	0.19	145.8	3.1	226.5	20.00
Cis-11-eicosenoico	C20:1n11c	235.5	0.15	193.3	6.5	266.2	12.90
Erúxico	C22:1n13c	117.6	0.15	126.4	2.1	117.0	0.54
Σ Monoinsaturados		1566		1415		1762	
Trans							
Elaidico	C18:1n9t	1164.7	3.21	1234.2	52.5	377.3	2.07
Linolelaídico	C18:2n6t	1395.5	0.57	1495.2	28.7	1394.5	1.5
Σ Trans		2560		2729		1772	
Poliinsaturados							
Linoleico	C18:2n6	1407.7	0.46	529.2	4.5	437.8	3.9
Araquidónico	C20:4n6	734.7	1.88	793.2	5.7	527.5	213
α-Linolénico	C18:3n3	739.8	0.16	812.2	60.8	355.8	1.28
EPA	C20:5n3	591.5	0.3	841.1	10.7	995.6	41.2
DHA	C22:6n3	2142.3	1.07	4456.4	106	4086.3	63.2
Σ Poliinsaturados		5616		7432		3403	
Total de ácidos grasos			11374		15134		14775

a,b,c por columna, literales diferentes indican diferencia significativa P<.05

Se presenta la media ± desviación estándar L1 = Baja California L2 = Colima L3 = Mazatlán

TABLA 4
Lípidos totales y ácidos grasos ω -3 y ω -6 del atún en agua del Pacífico mexicano

	Localidad 1	Localidad 2	Localidad 3
Lípidos totales (g/100g muestra)	12.74 \pm 0.22 ^a	12.33 \pm 0.17 ^a	12.88 \pm 0.0 ^a
ω -3 (mg/100g muestra)			
α -Linolénico	739.8 ^a (739.5-740)	812.2 ^b (764-861)	355.8 ^c (346-366)
EPA	591.5 ^a (591-592)	841.06 ^b (830-852)	995.6 ^c (952-1039)
DHA	2142.3 ^a (2140-2144)	4456.4 ^b (4345-4568)	4086.3 ^c (4020-4153)
Σ ω -3	3474	6110	5438
ω -6 (mg/100g muestra)			
Linoleico	1407.7 ^a (1047-1409)	529.2 ^b (526-533)	437.8 ^c (434-442)
Araquidónico	734.7 ^a (732-738)	793.2 ^a (787-799)	527.5 ^b (303-751)
Σ ω -6	2142	1322	965
ω 3: ω 6	1.6:1	4.6:1	5.6:1

a,b,c por columna, literales diferentes indican diferencia estadística $P < 0.05$
• se presenta media e intervalo de confianza (99%).

Ácidos grasos ω -3 y ω -6.

Se identificaron, para AA y AW, tres AG ω -3 (EPA, DHA y linolénico) y dos ω -6 (linoleico y araquidónico); en el AA se observó lo siguiente: un comportamiento similar entre localidades para los ω -3: niveles bajos de linolénico (447 – 755 mg/100g), seguidos del EPA con valores de más del doble (979 – 1323 mg/100g) y elevadas concentraciones de DHA (1862-3327 mg/100g); en todos los casos los intervalos de confianza son amplios. La L3 presentó los valores más altos de DHA y más bajos de EPA, con intervalos de confianza muy amplios. La suma de ω -3 fue similar entre localidades: 4266 mg/100g (L1), 3632 (L2) y 4860 (L3). El ac. Araquidónico fue el más abundante de los ω -6 (442, 380 y 1130 mg/100g). El ac. Linoleico presentó grandes variaciones entre localidades en el ámbito de intervalos de confianza. La suma de ω -6 (Tabla 2) fue mucho mayor en L3 y la relación ω -3: ω -6 fue similar entre L1 y L2 y mucho menor en L3. Se detectó diferencia significativa entre localidades para el EPA, en los demás ω -3 y ω -6 la diferencia se dio sólo en una localidad, esta mayor concentración de ω -3 es importante debido al conocimiento que se tiene sobre el efecto de estos ácidos sobre la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos (5,6,8). En el AW el DHA fue el AG ω -3 más abundante con cantidades muy altas en L2 y L3; el α linolénico fue el AG ω -3 con la menor concentración, sobretodo en L3; este ácido fue similar entre L1 y L2, en L3 fue menor al 50%. La relación ω -3: ω -6 fue mucho mayor en

L3 (5.6:1) y menor el L1 (1.6:1). La relación ω -3: ω -6 entre el AA y AW presentó un comportamiento inverso entre las localidades 1 y 3, y fue mucho mayor en L2 para AA. En los ω -3 detectados se encontró diferencia significativa entre localidades.

Actualmente, en las dietas occidentales la relación ω -6: ω -3 se ha elevado a niveles de 20-30:1, en vez del intervalo tradicional de 1-2:1. Algunos estudios indican que un elevado consumo de AG ω -6 modifica el estado fisiológico a uno protombótico y proagregatorio, caracterizado por el incremento en la viscosidad de la sangre, presencia de vasoespasmos, vasoconstricción y una disminución en el tiempo de coagulación. Los AG ω -3 tienen propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas, antiarrítmicas, hipolipidémicas y vasodilatadoras. Cuando se consume pescado o aceite de pescado, el EPA y DHA ingerido reemplazan parcialmente los ácidos ω -6 de las células de las membranas (plaquetas, eritrocitos, neutrófilos y monocitos) obteniéndose numerosos beneficios tales como: 1) una disminución en la producción de los metabolitos de la PG E₂; 2) disminución en la concentración de tromboxano A₂, potente agregador plaquetario y vasoconstrictor; 3) disminución de la formación de leucotrieno B₄, inductor de la inflamación y potente inductor de quimotaxis y adherencia de leucocitos; 4) incremento en la concentración de tromboxano A₄, potente agregador plaquetario y vasoconstrictor, entre otros. El consumo de alimentos ricos en AG poliinsaturados ha sido relacionado con una disminución de accidentes cardiovasculares (8), por lo que resulta necesario continuar con este tipo de estudios, en los que se identifique y cuantifique su presencia en alimentos de amplio consumo.

CONCLUSIONES

Existe una variación evidente en el tipo y contenido de AG entre conservas y localidades, en el atún en aceite influye además el proceso tecnológico existente entre las diferentes marcas comerciales, lo cual se observa en los valores de la desviación estándar e intervalos de confianza. Todas las conservas analizadas presentaron una mayor proporción de Ácidos Grasos Poliinsaturados que saturados. En todos los casos el porcentaje de AG ω -3 fue mayor que el de ω -6; se puede considerar al AA de L3 y AW de L2 como los más ricos en AG ω -3 y ω -6. En general, el AW es un alimento más rico en AG ω -3 y ω -6 que el AA; la concentración total de ácidos grasos fue mayor en las tres localidades en el atún en agua, la diferencia también se da en tipo de AG para las dos conservas. El AW presentó cantidades muy elevadas de ácidos trans en comparación con el AA. El AW es rico en ac. palmítico, DHA, linoleico y linoleláidico. En todos los casos la proporción de ω -3 fue mayor a los ω -6 lo cual resulta

benéfico para la salud. El AA es rico DHA y EPA. Independientemente del tipo de conserva y de la zona pesquera, el atún es un alimento altamente recomendable por su contenido de ácidos grasos esenciales, por su acequibilidad y versatilidad.

REFERENCIAS

1. Anónimo. A la pesca de oportunidades. Tecnología de Alimentos. Industria y Mercado, 1998; 33(6):26-38.
2. INEGI. El Sector Alimentario en México. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, México. 2000.
3. Ortega GS, Villa A, Rodríguez R. Pesquería de Atún. In: Casas M, Ponce G, editores. Estudio potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. Semarnap/FAO/UABCS/CIBNOR/CICIMAR/CRIP/CET del Mar. 1996;351-388.
4. Ruiz DF. Recursos pesqueros de las Costas de México. Su conservación y manejo socioeconómico, Limusa: México 1993.
5. Simopoulos AP, Leaf A, Salem N. Workshop on the essential of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. ISSFAL Newslett. 1999, 6(2):14-16
6. Simopoulos AP. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. Symposium: Role of poultry products in enriching the human diet with n-3 pufa. 2000, Poult. Sci. 79:961-970.
7. Encyclopedia of Human Nutrition. Academic Press, 1999.
8. Simopoulos AP. Essential fatty acids in health and chronic disease. 1999. Am J Clin Nutr, 70(suppl):560S-9S.
9. Ackman RG. Animal and marine lipids. In: BS Kamel & Kakuda Y. Technological advances in improved and alternative sources of lipids. Blackie Academic & Professional. England. p 292-328. 1994.
10. Folch JM, Less M, Sloan SH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. 1957, J. Biol. Chem. 226:497-509.
11. Bligh EG and WJ Dyer. A rapid method of total lipid extraction and purification. 1959, Can. J. Biochem. Physiol. 37:911-917.
12. Morrison WR and Smith LM. Preparation of fatty acids methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. 1964, J Lip. Res. 5:600-608.
13. Association of Official Analytical Chemists. Methods of Analysis. AOAC. Washington, D.C. USA. 1996.
14. Shanta NC, Ackman RG. Nervonic acid versus tricosanoic acid as an internal standard in quantitative gas chromatographic analysis of fish oil longer chain n-3 polyunsaturated fatty acid methyl esters. J. Chromatography 1990; 533:1-10.
15. Biosoft. Stat-100. Statistical Analysis Package for Windows. Biosoft. U.K. 1996.

Recibido: 02-02-2000

Aceptado: 06-09-2001

INFORMACION PARA LOS AUTORES

En 1950 el Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela edita su revista Archivos Venezolanos de Nutrición la cual en 1965 es donada a la recién creada Sociedad Latinoamericana de Nutrición, SLAN, para convertirse en su órgano oficial de divulgación Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ALAN.

ALAN acoge en sus páginas trabajos de revisión, editoriales, conferencias y simposia y trabajos científicos originales sobre temas relacionados con alimentación y nutrición, entre ellos, ciencia y tecnología de alimentos, nutrición humana y animal, bioquímica nutricional aplicada, nutrición clínica y comunitaria, educación en nutrición y microbiología de alimentos.

Todos los artículos que se publican pasan por un proceso de arbitraje externo. El Comité Editorial no se hace responsable de los conceptos emitidos en los artículos aceptados para ser publicados y se reserva el derecho de no publicar los originales que no se ajusten a los lineamientos de la revista. No se devolverán originales ni se mantendrá correspondencia sobre aquellos que no sean publicados. ALAN se reserva los derechos de reproducción de los artículos seleccionados.

ALAN se acoge a las normas de los requisitos uniformes del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (CIDRM), también conocido como el Grupo de Vancouver, en su quinta edición (1977) de los requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas (1). A continuación se reproduce esta publicación y se añaden algunas recomendaciones específicas, para ALAN.

Requisitos para la presentación de manuscritos a una revista

Resumen de los requisitos técnicos

- Todas las partes del manuscrito estarán a doble espacio.
- Cada sección o componente comenzará en página nueva.
- Revise la secuencia: página del título, resumen y palabras clave, texto agradecimientos, referencias, cuadros (cada uno en página aparte), pies e epígrafes de las ilustraciones.
- Las ilustraciones se presentaran en forma de impresiones fotográficas sin tomar, y no deberán exceder de 203 x 254 mm.
- Incluya la autorización para reproducir material publicado con anterioridad o para usar ilustraciones en las que se pueda identificar a los sujetos humanos.
- Adjunte la transferencia de los derechos de autor y otros formularios.
- Presente el número exigido de copias impresas del artículo (ALAN exige original y 3 copias).
- Guarde copias de todo lo que envíe.

Preparación del manuscrito

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que llevan estos encabezamientos: introducción, métodos, resultados y discusión. En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas secciones, sobre todo en las de resultados y discusión, a fin de hacer más claro el contenido. Es probable que otro tipo de artículos -como los informes de casos, las revisiones y los editoriales- exijan otra estructura. Para mayor orientación, los autores deberán consultar la revista en la que pretenden publicar.

Mecanografíese el manuscrito en papel bond blanco de 216 x 280 mm o de la medida estándar ISO A4 (212 x 297 mm), con márgenes de por lo menos 25mm (ALAN prefiere la medida de 216 x 280 mm). Escríbase o imprímase solamente sobre una cara del papel. Utilícese doble espacio a lo largo de todo el manuscrito, incluido la página del título, el resumen, el texto los agradecimientos, las referencias, cada uno de los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones. Numérense las páginas en forma consecutiva, empezando por las del título. Sobre el ángulo superior o inferior derecho de cada página anótese el número que le corresponde.

Página del título

La primera página contendrá: 1) el título del artículo, que será conciso pero informativo; 2) nombre de pila preferido y apellidos de cada autor, acompañados de sus grados académicos más importantes y su afiliación institucional; 3) nombre del departamento o departamentos y la institución o instituciones a los que se debe atribuir el trabajo; 4) declaraciones de descargo de responsabilidad, si las hay; 5) nombre y dirección del autor que se ocupará de la correspondencia relativa al manuscrito; 6) nombre y dirección del autor a quien se dirigirán las solicitudes de separatas, o nota informativa de que los autores no las proporcionarán; 7) procedencia del apoyo recibido en forma de subvenciones, equipo, medicamentos o todo ello; y 8) título abreviado (titulillo) que no pase de 40 pulsaciones (contando caracteres y espacios), el cual se colocará, debidamente identificado como tal, en la última línea de la página inicial.

Autoría

Todas las personas designadas como autores habrán de cumplir con ciertos requisitos para tener derecho a la autoría. Cada autor

(1) Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas. Rev Panam Salud Pública. Pan-Am J Pub Health. 1998;3(3):188-1996.

debe haber participado en el trabajo en grado suficiente para asumir responsabilidad pública por su contenido. Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial por lo que se refiere a los siguientes aspectos: 1) la concepción y el diseño o bien el análisis y la interpretación de los datos; 2) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte importante de su contenido intelectual; y 3) la aprobación final de la versión que será publicada. Las tres condiciones tendrán que cumplirse siempre. La participación que consiste meramente en conseguir financiamiento o recoger datos no justifica el crédito de autor. Tampoco basta con ejercer la supervisión general del grupo de investigación. Toda parte del artículo que sea decisiva con respecto a las conclusiones principales deberá ser responsabilidad de por lo menos uno de los autores. Los directores de revistas podrán solicitar a los autores que describan la contribución de cada uno; esa información puede ser publicada.

Cada vez es más común que los ensayos multicéntricos se atribuyan a un autor corporativo. Todos los miembros del grupo que sean designados como autores, ya sea en la línea destinada al nombre de los autores a continuación del título o en una nota a pie de página, deberán cumplir plenamente con los requisitos de requisitos de autoría recién señalados. Los miembros del grupo que no cumplan con dichos criterios serán mencionados, con su autorización, en la sección de agradecimientos o en un apéndice (véase "Agradecimientos").

El orden en que figuran los autores debe reflejar una decisión conjunta de estos. Como los autores se suelen enumerar de distintas maneras, el significado del orden en que aparecen no puede deducirse con exactitud a menos que ellos mismos lo enuncien explícitamente. Para tal efecto, tal vez deseen agregar, en una nota a pie de página, la explicación sobre el orden de enumeración. Al decidir acerca de dicho orden, los autores tendrán presente que muchas revistas imponen un límite al número de autores que figuran en el índice de materias y que, cuando hay más de 25 autores, la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos incluye en MEDLINE tan solo los nombres de los 24 primeros más el del último.

Resumen y palabras clave

La segunda página incluirá un resumen que no sobrepasará las 250 palabras de extensión. En él indicaran los propósitos del estudio o investigación; los procedimientos básicos (selección de los sujetos o los animales de laboratorio incluidos en el estudio; métodos de observación y análisis); los hallazgos más importantes (proporciónense datos específicos y, de ser posibles, su significación estadística), y las conclusiones principales. Hágase hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio o las observaciones.

A continuación del resumen agréguese, debidamente rotuladas, de 3 a 10 palabras o frases cortas clave que ayuden a los indizadores a clasificar el artículo, las cuales se publicarán junto con el resumen. Utilícense para este propósito los términos de la lista "Medical Subject Headings" (MeSH) [Encabezamientos de temas médicos] del Index Medicus; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en dicha lista, podrán usarse las expresiones corrientes. ALAN exige que todo trabajo deberá acompañarse de un Resumen en inglés con sus palabras clave, "key words", si el trabajo original fuese en español, portugués o francés. Si el trabajo original es en inglés, el Resumen debe presentarse en español,

igualmente con sus palabras clave.

Introducción

Expresa el propósito del artículo y resume el fundamento lógico del estudio u observación. Menciones las referencias estrictamente pertinentes y no incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.

Métodos

Describa claramente la forma como se seleccionaron los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos los testigos). Identifique la edad, el sexo y otras características importantes de los sujetos. La definición y la pertinencia de la raza o el grupo étnico son ambiguos. Los autores deberán ser particularmente cuidadosos con respecto a usar estas categorías.

Identifique los métodos, los aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y los procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Proporcione referencias de los métodos acreditados, incluidos los de índole estadística (véase más adelante); dé referencias y explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos; describa los métodos nuevos o que han sido sustancialmente modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos los medicamentos y productos químicos utilizados, sin olvidar nombres genéricos, dosis y vías de administración.

Los informes de ensayos clínicos aleatorizados deberán presentar información sobre todos los elementos importantes del estudio, como son el protocolo (población de estudio, intervenciones o exposiciones, resultados y el fundamento lógico del análisis estadístico), asignación de intervenciones (métodos de aleatorización, ocultamiento de la asignación a los grupos de tratamiento) y método de enmascaramiento (método ciego).

Los autores que presenten manuscritos de revisión incluirán una sección en la que se describan los métodos utilizados para localizar, seleccionar, extraer y sintetizar los datos. Estos métodos se mencionarán también en forma sinóptica en el resumen.

Ética. Cuando informe sobre experimentos en seres humanos, señale si los procedimientos seguidos estuvieron de acuerdo con las normas éticas del comité (institucional o regional) que supervisa la experimentación en seres humanos o con la Declaración de Helsinki de 1975, modificada en 1983. No utilice el nombre de los pacientes, sus iniciales ni los códigos hospitalarios, especialmente en el material ilustrativo. Cuando dé a conocer experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución, las de un consejo nacional de investigación o cualquier ley nacional acerca del cuidado y el uso de animales de laboratorio.

Estadística. Describa los métodos estadísticos con detalles suficientes para que el lector versado en el tema y que tenga acceso a los datos originales pueda verificar los resultados presentados. Siempre que sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de error o incertidumbre de la medición

(por ej., intervalos de confianza). No dependa exclusivamente de las pruebas de comprobación de hipótesis estadísticas, tales como el uso de los valores P, que no transmiten información cuantitativa importante. Analice la elegibilidad de los sujetos de experimentación. Proporcione los detalles del proceso de aleatorización. Describa los medios utilizados para enmascarar las observaciones (método ciego), indicando los resultados que dieron. Informe sobre las complicaciones del tratamiento. Especifique el número de observaciones. Mencione las pérdidas de sujetos de observación (por ej., las personas que abandonan un ensayo clínico). Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos utilizados serán de trabajos vigentes (indicando el número de las páginas), y no de los artículos originales donde se describieron por vez primera. Especifique cualquier programa de computación de uso general que se haya empleado. Las descripciones generales de los métodos utilizados deben aparecer en la sección de métodos. Cuando resuma los datos en la sección de resultados, especifique los métodos estadísticos que se emplearon para analizarlos. Limite el número de cuadros y figuras al mínimo necesario para explicar el tema central del artículo y para evaluar los datos en que se apoya. Use gráficas en vez de cuadros subdivididos en muchas partes; no duplique los datos en las gráficas y los cuadros. Evite el uso no técnico de términos de la estadística, tales como «al azar» (que entraña el empleo de un método de aleatorización), «normal», «significativo», «correlaciones» y «muestra». Defina los términos, las abreviaturas y la mayor parte de los símbolos estadísticos.

Resultados

En el texto, los cuadros y las ilustraciones, presente los resultados siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto todos los datos de los cuadros ni de las ilustraciones; destaque o resuma tan solo las observaciones importantes.

Discusión

Haga hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de ellos. No repita con pormenores los datos u otra información ya presentados en las secciones de introducción y de resultados. Explique en la sección de discusión el significado de los hallazgos y sus limitaciones, incluidas sus implicaciones para la investigación futura. Relacione las observaciones con otros estudios pertinentes.

Establezca el nexo entre las conclusiones y los objetivos del estudio, pero absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que no estén completamente respaldadas por los datos. En particular, los autores evitarán hacer afirmaciones sobre los beneficios y los costos económicos, a menos que su manuscrito incluya datos y análisis económicos. No reclame ningún tipo de precedencia ni mencione trabajos que no estén terminados. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales. Cuando sea apropiado, puede incluir recomendaciones.

Agradecimientos

En un lugar adecuado del artículo (como nota al pie de la primera

página o como apéndice del texto; véanse los requisitos de la revista) uno o varios enunciados especificarán lo siguiente: 1) las colaboraciones que deben ser reconocidas pero que no justifican la autoría, tales como el apoyo general del jefe del departamento; 2) el reconocimiento por la ayuda técnica recibida; 3) el agradecimiento por el apoyo financiero y material, especificando la índole del mismo; y 4) las relaciones que puedan suscitar un conflicto de intereses (véase «Conflicto de intereses»).

Las personas que colaboraron intelectualmente en el artículo pero cuya participación no justifica la autoría pueden ser citadas por su nombre, añadiendo su función o tipo de colaboración; por ejemplo, «asesoramiento científico», «examen crítico de la propuesta para el estudio», «recolección de los datos» o «participación en el ensayo clínico». Estas personas tendrán que conceder su permiso para ser nombradas. Los autores se responsabilizarán de obtener la autorización por escrito de las personas mencionadas por su nombre en los agradecimientos, pues los lectores pueden inferir que estas respaldan los datos y las conclusiones.

El reconocimiento por la ayuda técnica recibida figurará en un párrafo separado de los testimonios de gratitud por otras contribuciones.

Referencias

Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. En este, en los cuadros y en los pies o epígrafes de las ilustraciones, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Las referencias citadas solamente en cuadros o ilustraciones se numerarán siguiendo una secuencia que se establecerá por la primera mención que se haga en el texto de ese cuadro o esa figura en particular.

Emplee el estilo de los ejemplos que aparecen más adelante, los cuales están basados en el formato que la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos usa en el *Index Medicus*. Abrevie los títulos de las revistas de conformidad con el estilo utilizado en dicha publicación. Consulte la *List of Journals Indexed in Index Medicus* [Lista de revistas indizadas en *Index Medicus*], que se publica anualmente como parte del número de enero y como separata. La lista se puede obtener asimismo en el sitio que la biblioteca mantiene en la World Wide Web (<http://www.nlm.nih.gov>).

Absténgase de utilizar los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos que han sido aceptados pero que todavía no se publican se designarán como «en prensa» o «de próxima aparición»; los autores obtendrán por escrito el permiso para citar dichos artículos y también la verificación de que han sido aceptados para publicación. La información proveniente de manuscritos presentados para publicación pero aún no aceptados se citará en el texto como «observaciones inéditas», con el permiso correspondiente de la fuente.

No cite una «comunicación personal» a menos que aporte información esencial que no pueda obtenerse de una fuente pública; en ese caso, el nombre de la persona y la fecha de la comunicación aparecerán entre paréntesis en el texto. En el caso de artículos científicos, los autores deberán obtener el permiso de la fuente y su confirmación de la exactitud de la comunicación personal, ambos

por escrito. Los autores verificarán las referencias cotejándolas contra los documentos originales.

El estilo de los requisitos uniformes (estilo de Vancouver) se basa en gran medida en una norma de estilo ANSI adaptada por la Biblioteca Nacional de Medicina (NLM) para sus bases de datos. En los ejemplos que siguen se han agregado notas cuando el estilo de Vancouver difiere del estilo que actualmente utiliza la NLM.

Artículos de revista

1. Artículo de revista ordinario

Enumere los primeros seis autores y añada la expresión «et al.» (Nota: La NLM incluye ahora hasta 25 autores; si hay más de 25, enumera los primeros 24, continuación el último autor y luego agrega «et al.»)

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1;124(11):980-3.

Optativamente, si se utiliza la paginación continua a lo largo de un volumen (como hacen muchas revistas médicas), se pueden omitir el mes y el número.

(Nota: Para respetar la uniformidad, en todos los ejemplos que se presentan en los requisitos uniformes se aplica esta opción. La NLM, sin embargo, no usa dicha opción.)

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

Más de seis autores:

Parkin DM, Clayton D, Black Rj, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996;73:1006-12.

2. Organización como autor

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996;164:282-4.

3. No se indica el nombre del autor

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

4. Artículo en idioma extranjero (2)

(Nota: La NLM traduce el título al inglés, lo encierra entre corchetes y le agrega la abreviatura correspondiente al idioma original.)

Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infrapatellar seneruptur hos tidligere frisk kvinne. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1996; 116:41-2.

5. Suplemento de un volumen

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994;102 Suppl 1:275-82.

6. Suplemento de un número

Payne DK, Sullivan MD, Massie Mj. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23(1 Suppl 2): 89-97.

7. Parte de un volumen

Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995;32(Pt 3):303-6.

8. Parte de un número

Poole GH, Mills SM. One hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994;107(986 Pt 1):377-8.

9. Número sin volumen

Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995;(320): 110-4.

10. Sin número ni volumen

Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993:325-33.

11. Paginación en números romanos

Fisher GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr;9(2):xi-xii.

12. Indicación del tipo de artículo, según corresponda

Enzensber er W, Fischer PA. Metronome in Parkinson,s disease [carta]. *Lancet* 1996;347:1337.

Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen]. *Kidney Int* 1992;42:1285.

13. Artículo que contiene una retractación

Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML, Seyfried TN. Ceruloplasmin

(2) Evidentemente "extranjero" se entiende aquí en relación con el idioma inglés, pues los ejemplos de referencia bibliográfica se han trasladado directamente del original, sin adaptarlos (N. Del t.).

gene defect associated with epilepsy in EL mice [retractación de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML, Seyfried TN. En: Nat Genet 1994;6:426-31]. Nat Genet 1995;11: 104.

14. Artículo retirado por retractación

Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBP gene expression during mouse development [retirado por retractación en Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:3127]. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:1083-8.

15. Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas

Hamlin JA, Kahn AM. Herniography in symptomatic patients following inguinal hernia repair [se publica una fe de erratas en West J Med 1995;162:278]. West J Med 1995; 162:28-31.

Libros y otras monografías

(Nota: Con anterioridad, el estilo de Vancouver indicaba, incorrectamente, que entre la editorial y la fecha debía ir una coma en vez de punto y coma, como debe ser.)

16. Individuos como autores

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership. skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

17. Directores ("editores"), compiladores como autores

Norinan IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

18. Organización como autor y editorial

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

19. Capítulo de libro

(Nota: Con anterioridad, el estilo de Vancouver prescribía el uso de dos puntos en vez de la letra p antes de las páginas.)

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. En: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

20. Actas de conferencias

Kimura j, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

21. Artículo presentado en una conferencia

Bengtsson S, Tolheim BG. Enforcement of data protection, privacy

and security in medical informatics. En: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

22. Informe científico o técnico

Publicado por la institución financiadora o patrocinadora: Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report No.: HHSIGOE169200860.

Publicado por la institución ejecutora:

Field MjJ Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract No.: AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.

23. Tesis doctoral

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization [tesis doctoral]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

24. Patente

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, titular. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 Jun 25.

Otros trabajos publicados

25. Artículo de periódico

Lee C. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

26. Material audiovisual

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

27. Documentos legales

Ley pública:
Preventive Health Amendments of 1993, Pub. L. No. 103-183, 107 Stat. 2226 (Dec. 14, 1993).

Proyecto de ley sin sancionar:
Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong., 1 st Sess. (1995).

Código de normas federales:
Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441.257 (1995).

Audiencia:

Increased Drug Abuse: the Impact on the Nation's Emergency Rooms: Hearings Before the Subcomm. on Human Resources and Intergovernmental Relations of the House Comm. on Government Operations, 103rd Cong., 1st Sess. (May 26, 1993).

28. Mapa

North Carolina. Tuberculosis rates per 100,000 population, 1990 [mapa demográfico]. Raleigh: North Carolina Dept. of Environment, Health, and Natural Resources, Div. of Epidemiology; 1991.

29. Libro de la Biblia

The Holy Bible. King James version. Grand Rapids (MI): Zondervan Publishing House; 1995. Ruth 3:1-18.

30. Diccionarios y obras de consulta semejantes

Stedman's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p.119-20.

31. Obras clásicas

The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. London: Rex; 1973.

Trabajos inéditos**32. En prensa**

(Nota: La NLM prefiere referirse a estos trabajos como «en preparación» [forthcoming] porque no todos se publicarán impresos.)

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med. En prensa 1996.

Material en soporte electrónico**33. Artículo de revista en formato electrónico**

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [publicación periódica en línea] 1995 jan-mar [citada 1996 jun 51;1(1):[24 pantallas]. Se consigue en: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

34. Monografía en formato electrónico

CDI, clinical dermatology illustrated [monografía en CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

35. Fichero de computadora

Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [programa de computadora]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Cuadros

Mecanografía o imprima cada cuadro a doble espacio y en hoja aparte. No presente los cuadros en forma de impresiones fotográficas. Numérelos consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada uno. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilícese los símbolos siguientes en la secuencia que se indica: *, †, ‡, †, **, ††, ††..

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros. Cerciórese de que cada cuadro aparezca citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde. Incluir un número excesivo de cuadros en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto. Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para publicarlos, queden depositados en un servicio de archivo, como el Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Dichos cuadros se presentarán junto con el artículo para su consideración.

Ilustraciones (figuras)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan 127 x 173 mm, sin exceder de 203 x 254 mm. Las letras, números y símbolos serán claros y uniformes en todas las ilustraciones; tendrán, además, un tamaño suficiente para que sigan siendo legibles incluso después de la reducción necesaria para publicarlos. Los títulos y las explicaciones detalladas se incluirán en los pies o epígrafes, no sobre las propias ilustraciones.

Al reverso de cada figura pegue una etiqueta de papel que lleve anotados el número de la figura, el nombre del autor y cuál es la parte superior de la misma. No escriba directamente sobre el dorso de las figuras ni las sujete con broches para papel, pues quedan marcadas. Las figuras no se doblarán ni se montarán sobre cartón.

Las fotomicrografías incluirán en sí mismas un indicador de la escala. Los símbolos, flechas y letras usados en estas deberán contrastar claramente con el fondo.

Si se usan fotografías de personas, estas no deberán ser identificables; de lo contrario, habrá que anexar un permiso por escrito para poder utilizarlas.

Las figuras se numerarán en forma consecutiva de acuerdo con su primera mención en el texto. Si la figura ya fue publicada, se reconocerá la fuente original y se presentará la autorización por escrito que el titular de los derechos de autor concede para reproducirla. Este permiso es necesario, independientemente de quién sea el autor o la editorial; la única salvedad son los documentos considerados como de dominio público.

Pies o epígrafes de las ilustraciones

Los pies o epígrafes de las ilustraciones se mecanografiarán o imprimirán a doble espacio, comenzando en hoja aparte e identificándolos con los números arábigos correspondientes. Cuando se utilicen símbolos, flechas, números o letras para referirse a ciertas partes de las ilustraciones, será preciso identificar y aclarar el significado de cada uno en el pie o epígrafe. En las fotomicrografías habrá que explicar la escala y especificar el método de tinción.

Unidades de medida

Las medidas de longitud, talla, *peso* y volumen se expresarán en unidades del sistema métrico decimal (metro, kilogramo, litro, etc.) O sus múltiples y submúltiplos.

Las temperaturas se consignarán en grados Celsius. Los valores de presión arterial se indicarán en milímetros de mercurio.

Todos los valores hemáticos y de química clínica se presentarán en unidades del sistema métrico decimal y de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). La redacción de la revista podrá solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores agreguen unidades alternativas o distintas de las del SI.

Abreviaturas y símbolos

Utilice únicamente abreviaturas corrientes. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura en el texto, irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

Envío del manuscrito a la revista

Envíe por correo el número requerido de copias del manuscrito en un sobre de papel resistente; si es necesario, proteja las copias y las figuras metiéndolas entre dos hojas de cartón para evitar que las fotografías se doblen. Meta las fotografías y transparencias en su propio sobre de papel resistente.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de envío firmada por todos los coautores.

INDICE GENERAL DEL VOLUMEN 51-2001

EDITORIAL	5
 ARTÍCULOS GENERALES	
Enfoque alimentario para mejorar la adecuación nutricional de vitaminas y minerales María-Teresa Oyarzún, Ricardo Uauy y Sonia Olivares.....	7
La nutrición en la práctica deportiva adaptación de la pirámide nutricional a las características de la dieta del deportista Marcela González-Gross, Angel Gutiérrez, José Luis Mesa, Jonatan Ruiz-Ruiz, Manuel J. Castillo	321
Oligosacáridos de la leche humana. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante Montserrat Gudiel-Urbano e Isabel Goñi	332
 SUPLEMENTO 51 N° 1 2001	
Presentación Oscar Pineda.....	Supl(1)1
Deficiencia de hierro y el mundo en desarrollo A.Patrick MacPhail.....	Supl(1)2
La química del hierro ferroso bis-glicinato quelado Stephen D. Ashmead.....	Supl(1)7
Absorción y metabolismo del hierro aminoquelado H. DeWayne Ashmead.....	Supl(1)13
Biodisponibilidad del hierro bis-glicinato quelado dado en agua Manuel Olivares G., Fernando Pizarro A.....	Supl(1)22
Toxicidad e inocuidad de Ferrochel y de otros aminoquelados de hierro Robert B. Jeppsen.....	Supl(1)26
Efecto de cambios de pH sobre la solubilidad del hierro bis-glicinato quelado y de otros compuestos de hierro María Nieves García-Casal y Miguel Layrisse.....	Supl(1)35
Suplementación dietética de micronutrientes – Un cuarto nuevo enfoque Michael C. Latham, Deborah Ash, Godwin Ndossi, Haile Mehansho y Simón Tatala	Supl(1)37
Efectividad relativa del hierro bis-glicinato quelado (Ferrochel) y del sulfato ferroso en el control de la deficiencia de hierro en mujeres embarazadas Sophia Cornbluth Szarfarc, Luz Marina Núñez de Cassana, Elizabeth Fujimori, Elvira Maria Guerra-Shinohara, Ida Maria Vianna de Oliveira.....	Supl(1)42
Uso de bollos fortificados con hierro bis.glicinato quelado en la prevención de anemia por deficiencia de hierro en preescolares Giorgini E., Fisberg M., De Paula RAC., Ferrerira AMA., Valle J., Braga JAP.....	Supl(1)48
El uso de azúcar fortificado con hierro tris-glicinato quelado en la prevención de anemia ferroptiva en preescolares Regiane A. Cardoso de Paula, Mauro Fisberg.....	Supl(1)54
Comentario final Oscar Pineda.....	Supl(1)60

Nutrición Humana

Prevalencia de las anemias nutricionales de mujeres en edad fértil. Costa Rica. Encuesta nacional de nutrición, 1996	
Sara Rodríguez, Adriana Blanco, Louella Cunningham, Melany Ascencio, Mario Chávez, Leda Muñoz	19
Prevalencia de deficiencia subclínica de vitamina A y desnutrición en niños marginales de Maracaibo-Venezuela.	
Haydée V. Castejón , Pablo Ortega, María E. Díaz, Daisy Amaya, Gisela Gómez, María Ramos, María V. Alvarado, Jesús R. Urrieta	25
Niveles de zinc en leche humana de término y pretérmino	
Ronayne de Ferrer P.A., Weisstaub A., López N., Ceriani Cernadas J.M.	33
Prevalencia de anemia, deficiencia de hierro y folatos en niños menores de siete años. Costa Rica, 1996	
Louella Cunningham, Adriana Blanco, Sara Rodríguez, Melany Ascencio	37
Association between prematurity and maternal anemia in Venezuelan pregnant women during third trimester at labor	
Arturo Martí, Guiomar Peña-Martí, Sergio Muñoz, Fernando Lanas, Gabriela Comunian	44
Comparação da gordura corporal de mulheres idosas segundo antropometria, bioimpedância e dexa	
Aline Rodrigues Barbosa, Maria Santarém, Wilson Jacob Filho, Eduardo Souza Meirelles, José Maria de Fátima Nunes Marucci	49
Nutrition and cataract in low-income Mexicans: experience in an Eye Camp	
Claudia P. Sánchez-Castillo, José Lara, José Romero-Keith, Guillermo Castorena, Antonio R. Villa, Norma López, José Pedraza, Omar Medina, Carolina Rodríguez, Federico Chávez-Peón Medina and W. Philip T. James.....	113
Growth of exclusively breast-fed infants from a poor urban population	
Rubens G. Ricco, Carlos A. Nogueira-de-Almeida, Luiz A. Del Ciampo, Júlio C. Daneluzzi, Maria Lúcia Silveira Ferlin, Gerson Muccillo.....	122
Dietary calcium intake by a group of 13 18-year-old Costa Rican teenagers	
Rafael Monge-Rojas, Hilda P. Nuñez.....	127
Absorption of unlabeled reduced iron of small particle size from a commercial source. A method to predict absorption of unlabeled iron compounds in humans	
Horacio González, Concepción Mendoza and Fernando E. Viteri.....	217
Utilização de diferentes concentrações de ferro por adolescentes grávidas também suplementadas com zinco e ácido fólico	
Nadir do Nascimento Nogueira, Dilina do Nascimento Marreiro, Joaquim Vaz Parente, Silvia M. Franciscato Cozzolino	225
Growth and hematological studies on Brazilian children of low socioeconomic level	
Carlos A Nogueira-de- Almeida, Rubens G. Ricco, Luiz A. Del Ciampo, Ana María de Souza, José Eduardo Dutra-de-Oliveira	230
Serum lipids and lipoprotein levels in Costa Rican 13-18 year-old teenagers	
Rafael Monge-Rojas.....	236
Total dietary fiber in urban and rural Costa Rican adolescents' diets	
Rafael Monge-Rojas, Hilda Nuñez Rivas.....	340
Efectividad de dos indicadores antropométricos en el diagnóstico nutricional de gestantes eutróficas y desnutridas	
Ingrid Rached de Paoli, Gladys Henríquez Pérez, Arelis Azuaje Sánchez.....	346
Cambios en las variables antropométricas durante la gestación en mujeres eutróficas	
Ingrid Rached de Paoli, Arelis Azuaje Sánchez, Gladys Henríquez Pérez.....	351

Nutrición Experimental

Influencia del desayuno sobre la función cognoscitiva de escolares de una zona urbana de Valencia, Venezuela

Mercedes Márquez Acosta, Rosalía Sutil de Naranjo, Carmen E. Rivas de Yépez, Manuel Rincón Silva, Marysabel Torres, Rafael Dario Yépez, Zulay Portillo.....	57
Algunas consideraciones sobre el impacto de la desnutrición en el desarrollo cerebral, inteligencia y rendimiento escolar	
Boris Leiva Plaza, Nèlida Inzunza Brito, Hernán Pérez Torrejón, Verónica Castro Gloor, Joan Manuel Jansana Medina, Triana Toro Díaz, Atilio Almagiá Flores, Arturo Navarro Díaz, María Soledad Urrutía Cáceres, Jorge Cervilla Oltremari, Daniza Ivanovic Marincovic	64

Bioquímica Nutricional

Uso de uma mistura alimentar contendo bioproteínas (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>): efeitos sobre a gestação, a lactação e o crescimento de ratos	
Silvana Ribeiro Passos de Oliveira, Francisca Martins Bion, Silvia María Limongi Lopes Anastácia Cavalcanti Metri	72
Efectos de la intervencion nutricional sobre las variables antropométricas, la ingesta y las concentraciones de lípidos y lipoproteínas del plasma en niños con dislipidemia	
Flor María Carneiro Muziotti, Virgilio Bosch Román, y Melania Izquierdo Rodríguez.....	132
Relación entre el índice de masa corporal durante la gestación en embarazadas adolescentes y adultas, indicadores antropométricos de crecimiento fetal y retardo de crecimiento intrauterino. La Costa, Argentina, 1999	
Andrés Guillermo Bolzán, Luis Manuel Guimarey.....	145
Absorción de grasa proveniente de tres fuentes dietarias en ratas con diarrea inducida con lactosa	
González E.G., Sánchez G., Cioccia A.M., Hevia, P.....	244
Phytate from an alternative dietary supplement has no effect on the calcium, iron and zinc status in undernourished rats	
Egle M.A. Siqueira, Sandra F. Arruda, Lucilene M. de Sousa and Elizabeth M.T. de Souza	250
Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina	
Rosimar Regina da Silva, Tânia Toledo de Oliveira, Tanus Jorge Nagem, Aloísio da Silva Pinto. Luiz Fernando Teixeira Albino, Márcia Rogéria de Almeida, George Henrique Kling de Moraes, José Geraldo Pinto	258
Maillard's reaction in parenteral solutions supplemented with arginine	
M.R.C.G. Novaes, L.A.M. Lima, M.V. Sousa.....	265
Obesidade mórbida em mulheres – Estilos alimentares e qualidade de vida	
Graziela Aparecida Nogueira de Almeida, Sonia Regina Loureiro, José Ernesto dos Santos.....	359

Nutrición Comunitaria

Macronutrientes, fibra, ácidos grasos y minerales en almuerzos servidos en un comedor universitario	
Gisell C. Alfonso G., Anna María Cioccia R. y Patricio Hevia.....	151
Complementary feeding: Study on prevalence of food intake in two Health Centers of São Paulo City	
Dirce Maria Lobo Marchioni, Maria do Rosário Dias de Oliveira Latorre, Sophia Cornbluth Szarfarc, Sônia Buongiorno de Souza.....	161

Consumo de Alimentos

Fruits and vegetables consumption among Costa Rican adolescents	
Rafael Monge Rojas.....	81

Microbiología de Alimentos

Resistencia térmica de levaduras en jugo de naranja a diferentes concentraciones de sólidos solubles	
Zoraida Medina de Salcedo, Betzabé Sulbarán de Ferrer, Alexis Ferrer Ocando y Graciela Ojeda de Rodríguez	167

Estudio de la estabilidad microbiológica del melón (<i>Cucumis melo L</i>) mínimamente procesado por impregnación al vacío	
Félix Rafael Millán Trujillo, Sonia López Plá, Valentín Roa Tavera, María Soledad Tapia, Rita Cava.....	173
Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, <i>Staphylococcus</i> sp. y hongos en ensaladas para perro caliente, expandidas en la ciudad de Maracay, Venezuela	
Laura Acevedo, Clever Mendoza y Rafael Oyón.....	366
Cinética de crecimiento y producción de proteasas de <i>Pseudomonas fluorescens</i> en leche cruda a temperaturas de refrigeración	
Costa M., Gómez M. F., Molina L.H. y Romero A.....	371
Tratamientos de desinfección de lechugas (<i>Lactuca sativa</i>) y frutillas (<i>Fragaria chiloensis</i>)	
Luis López V. José Romero R. Y Fernando Ureta V.....	376

Ciencia de Alimentos

Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz	
Ana Cristina Billeb de Sinibaldi y Ricardo Bressani.....	86
Discrimination of Brazilian arabica green coffee samples by chlorogenic acid composition	
R.F.A. Moreira, L.C. Trugo, C.A.B. de Marfá, A.G.B. Matos, S.M. Santos & J.M.C. Leite.....	95
Development and sensory evaluation of soy milk based yoghurt	
C.S. Fávaro Trindade, Terzi, S.C., L.C. Trugo, R.C. Della Modesta, S. Couri.....	100
Estudio de la estabilidad de las características químicas, microbiológicas y sensoriales de mazorcas refrigeradas de híbridos de maíz super dulce	
Candelario Camacho, Braunnier Alfonso, Ligia Ortiz de Bertorelli y Frank de Venanzi.....	180
Efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de maíz (<i>Zea mays L.</i>) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, reológicas, estructurales y texturales del grano, masa y tortillas de maíz	
Arámbula Villa Gerónimo, Barrón Ávila Laura, González Hernández J., Moreno Martínez Ernesto y Luna Bárcenas Gabriel.....	187
Avaliação biológica de soja com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor kunitz	
Edna Mayumi Yuhashi Miura, Marco Aurélio R. Binotti, Daliane Souza de Camargo, Ivone Yurika Mizubuti, Elza Iouko Ida.....	195
Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do “iogurte” de soja	
Daniela Cardoso Umbelino, Helena Maria André Bolini Cardello, Elizeu Antonio Rossi.....	199
Changes in protein fractions, trypsin inhibitor and proteolytic activity in the cotyledons of germinating chickpea	
Valdir Augusto Neves and Euclides Joaquim Lourenço.....	269
O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose	
Admar Costa de Oliveira, Keila da Silva Queiroz, Elizabete Helbig, Soely Maria Pissini Machado Reis, Francisco Carraro.....	276
Actividad ureásica en productos de soja. Propuesta de un nuevo método	
M.C. Olguin, M.I. Zingale, G.C. Revelant, M. E. Vignale.....	284
Inefficacy of cooking methods on mercury reduction from shark	
Elizabeth Lemos Chicourel, Alice M. Sakuma, Odair Zenebon, Alfredo Tenuta- Filho.....	288
Efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora (<i>Homalaspis plana</i>)	
Vilma Quitral, Lilian Abugoch, Julia Vinagre y M ^a Angélica Larraín.....	382
Atividade inibitoria de tripsina do feijão (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>): avaliação critica dos métodos de determinação	
Maria Inés Genovese and Franco M. Lajolo.....	386

Tecnología de Alimentos

Elaboración y caracterización de frejoles fritos tipo “snak” cultivar Pinto 114, Suave 85 y Tórtola Inia María Luz Hurtado P. Berta Escobar A., Ana María Estévez A.....	204
Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal Juan de Dios Figueroa Cárdenas, María Guadalupe Acero Godinez, Nora Lilia Vasco Méndez, Alejandro Lozano Guzmán, Luz María Flores Acosta Y Jesús Gonzalez-Hernández.....	293
Mezclas legumbre/cereal por fritura profunda de maíz amarillo y de tres cultivares de frejol para consumo “snack” María Luz Hurtado P., Berta Escobar A., Ana María Estévez A.....	303

LatinFood.Composición de Alimentos

Contenido de cromo en alimentos y estimación de su ingestión dietaria en el noroeste de México María Isabel Grijalva Haro, Martha Nydia Ballesteros Vázquez y Rosa María Cabrera Pacheco.....	105
Estudo do conteúdo mineral de iogurtes naturais e com sabor de frutas, comercializados na cidade de São Paulo, Brasil Nilva Aparecida Rassinetti Pedro, Elisabeth de Oliveira, Sabrina Penazzi Filli e Darilena Monteiro Porfírio...	210
Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central Ricardo Bressani, Juan C. Turcios, Luis Reyes y Roberta Mérida.....	309
Carotenoid composition and vitamin A value of an Argentinian squash (<i>Cucurbita moschata</i>) González Evangelina, Montenegro Mariana A., Nazareno Mónica A., López de Mishima Beatriz A.....	395
Acidos grasos en sardina en salsa de tomate de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano María Isabel Castro González, Sara Montaña Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo.....	400
Acidos grasos del atún de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano, en aceite y agua María Isabel Castro González, Sara Montaña Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo.....	407
NOTAS	111
NUEVOS LIBROS	216
INFORMACION PARA LOS AUTORES	314,414
INDICE GENERAL DEL VOL. 51, 2001	421
INDICE DE AUTORES	426
INDICE DE MATERIA	434

INDICE POR AUTORES DEL VOLUMEN 51-2001

A

Abugoch, Lilian Véase Quitral, Vilma.....	382
Acevedo, Laura. Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, <i>Staphylococcus sp.</i> Y hongos en ensaladas para perro caliente expedida en la ciudad de Maracay, Venezuela.....	366
Acero Godinez, María Guadalupe Véase Figueroa Cárdenas, Juan de Dios.....	293
Alfonzo, Braunnier Véase Camacho Candelario.....	180
Alfonzo, Gisell C. Macronutrientes, fibra, ácidos grasos y minerales en almuerzos servidos en un comedor universitario.....	151
Alvarado, María V. Véase Castejón, Haydeé V.	25
Amalgia Flores, Atilio Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Amaya, Daisy Véase Castejón, Haydeé V.....	25
Arámbula Villa, Gerónimo. Efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de maíz (<i>Zea mays l.</i>) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, reológicas, estructurales y texturales del grano, masa y tortillas de maíz.....	187
Arruda, Sandra F. Véase Siquiera, Egle M.A.....	250
Ascencio, Melany Véase Cunningham, Louella.....	37
Ascencio, Melany Véase Rodríguez, Sara	19
Ash, Deborah Véase Latham, Michael C.....	Supl (1) 37
Ashmead, Stephen D. La química del hierro ferroso bis-glicinato quelado.....	Supl (1) 7
Ashmead, H. DeWayne. Absorción y metabolismo del hierro aminoquelado.....	Supl (1) 13
Azuaje Sánchez, Arelis Véase Rached de Paoli, Ingrid.....	346
Azuaje Sánchez, Arelis Véase Rached de Paoli, Ingrid.....	351

B

Ballesteros Vázquez, Nydia Véase Grijalva Haro, María Isabel.....	105
Barrón Avila, Laura Véase Arámbula Villa, Gerónimo.....	187
Billeb de Sinibaldi, Ana Cristina. Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz.....	86
Blanco, Adriana Véase Cunningham, Louella.....	37
Bolini Cardello, Helena Maria André Véase Cardoso Umbelino, Daniela.....	199
Bolzán, Andrés Guillermo. Relación entre el índice de masa corporal durante la gestación en embarazadas adolescentes y adultas, indicadores antropométricos de crecimiento fetal y retardo de crecimiento intrauterino. La Costa, Argentina, 1999.....	145
Binotti, Marco Aurélio R. Véase Yuahasi Miura, Edna Mayumi.....	195
Blanco, Adriana Véase Rodríguez, Sara.....	19
Bosch Román, Virgilio Véase Carneiro Muziotti, Flor María.....	132
Buongermino De Souza, Sônia Véase Lobo Marchioni, Dirce Maria.....	161
Braga, JAP. Véase Giorgini, E.....	Supl (1) 48
Bressani, Ricardo. Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central.....	309
Bressani, Ricardo Véase Billeb de Sinibaldi, Ana Cristina.....	86

C

Cabrera Pacheco, Rosa María Véase Grijalva Haro, María Isabel.....	105
Camacho, Candelario. Estudio de la estabilidad de las características químicas, microbiológicas y sensoriales de mazorcas refrigeradas de híbridos de maíz super dulce.....	180
Cardoso de Paula, Regiane A. El uso de azúcar fortificado con hierro tris-glicinato quelado en la prevención de anemia ferropriva en preescolares.....	Supl (1) 54
Cardoso Umbelino, Daniela. Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do “iogurte” de soja.....	199
Carneiro Muziotti, Flor María. Efectos de la intervención nutricional sobre las variables antropométricas, la ingesta y las concentraciones de lípidos y lipoproteínas del plasma en niños con dislipidemia.....	132
Carraro, Francisco Véase Costa de Oliveira, Admar.....	276
Castejón, Haydeé V. Prevalencia de deficiencia subclínica de vitamina A y desnutrición en niños marginales de Maracaibo-Venezuela.....	25
Castillo, Manuel J. Véase González-Gross, Marcela.....	321
Castorena, Guillermo Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Castro Gloor, Verónica Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Castro González, María Isabel. Ácidos grasos del atún de diferentes zonas pesqueras del Pacífico maxicano, en aceite y agua.....	407
Castro González, María Isabel. Ácidos grasos en sardina en salsa de tomate de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano.....	400
Cava, Rita Véase Millán Trujillo, Félix Rafael.....	173
Ceriani Cernadas, J.M. Véase Ronayne Ferrer, P.A.....	33
Cervilla Oltremari, Jorge Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Chávez, Mario Véase Rodríguez, Sara.....	19
Chávez-Peón Medina, Federico Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Cioccia, R., Anna María Véase Alfonso G., Gisell C.....	151
Cioccia, A.M. Véase Gonzalez, E.G.....	244
Comunian, Gabriela Véase Martí, Arturo.....	44
Cornbluth Szarfarc, Sophia Véase Lobo Marchioni, Dirce Maria.....	161
Cornbluth Szarfarc, Sophia. Efectividad relativa del hierro bis-glicinato quelado (Ferrochel) y del sulfato ferroso en el control de la deficiencia de hierro en mujeres embarazadas.....	Supl (1) 42
Costa, M. Cinética de crecimiento y producción de proteasas de <i>Pseudomonas fluorescens</i> en leche cruda a temperaturas de refrigeración.....	371
Costa de Oliveira, Admar. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência, estaquiose e verbascose.....	276
Couri, S. Véase Fávoro Trindade, C.S.....	100
Cunningham, Louella. Prevalencia de anemia, deficiencia de hierro y folatos en niños menores de siete años. Costa Rica, 1996.....	37
Cunningham, Louella Véase Rodríguez, Sara.....	19

D

Daneluzzi, Júlio C. Véase Ricco, Rubens G.....	122
Da Silva Pinto, Aloísio Véase Da Silva, Rosimar Regina	258
Da Silva Queiroz, Keila Véase Costa de Oliveira, Admar.....	276
Da Silva, Rosimar Regina. Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina	258
De Maria, C.A.B. Véase Moreira, R.F.A.....	95
De Oliverira, Elisabeth Véase Rassinetti Pedro, Nilva Aparecida.....	210
De Paula RAC. Véase Giorgini E.....	Supl(1) 48

De Souza, Ana Maria Véase Nogueira-de-Almeida, Carlos A.....	230
De Souza, Elizabeth M.T. Véase Siqueira, Egle M.A.....	250
De Souza, Lucilene M. Véase Siqueira, Egle M.A.....	250
De Venanzi, Frank Véase Camacho, Candelario.....	180
Del Ciampo, Luiz A. Véase Nogueira-de-Almeida, Carlos A.....	230
Del Ciampo, Luiz A. Véase Ricco, Rubens G.	122
Della Modesta, R.C. Véase Fávoro Trindade, C.S.....	100
Dias de Oliveira Latorre, Maria do Rosário Véase Lobo Marchioni, Dirce Maria.....	161
Díaz, María E. Véase Castejón, Haydeé V.....	25
Do Nascimento Marreiro, Dilina Véase Do Nascimento Nogueira, Nadir.....	225
Do Nascimento Nogueira, Nadir. Utilização de diferentes concentrações de ferro por adolescentes grávidas também suplementadas com zinco e ácido fólico.....	225
Dos Santos, José Ernesto Véase Nogueira de Almeida, Graciela Aparecida.....	359
Dutra -de-Oliveira, José Eduardo Véase Nogueira-de-Almeida, Carlos A.....	230

E

Escobar A., Berta Véase Hurtado P, María Luz.....	204
Escobar A., Berta Véase Hurtado P, María Luz.....	303
Estévez A., Ana María Véase Hurtado P, María Luz.....	204
Estévez A., Ana María Véase Hurtado P, María Luz.....	303

F

Fávoro Trindade, C.S. Development and sensory evaluation of soy milk based yoghurt.....	100
Ferrer Ocando, Alexis Véase Medina de Salcedo, Zoraida.....	167
Ferreira AMA. Véase Giorgini E.....	Supl (1) 48
Figuroa Cárdenas, Juan de Dios. Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal.....	293
Filho, Wilson Jacob Véase Rodrigues Barbosa, Aline.....	49
Fisberg, Mauro Véase Cardoso de Paula, Regiane A.....	Supl (1) 54
Fisberg, Mauro Véase Giorgini E.....	Supl (1) 48
Flores Acosta, Luz María Véase Figuroa Cárdenas, Juan de Dios.....	293
Franciscato Cozzolino, Silvia M. Véase Do Nascimento Nogueira, Nadir.....	225
Fujimori, Elizabeth Véase Cornbluth Szarfarc, Sophia.....	Supl (1) 42

G

García-Casal, María Nieves. Efecto de cambios de pH sobre la solubilidad del hierro bis-glicinato quelado y de otros compuestos de hierro.....	Supl (1) 35
Genovese, Maria Inés. Atividade inibitoria de tripsina do feijão (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>): avaliação crítica dos métodos de determinação.....	386
Giorgini, E. Uso de bollos fortificados con hierro bis-glicinato quelado en la prevención de anemia por deficiencia de hierro en preescolares.....	Supl (1) 48
Gómez, M.F. Véase Costa M.....	371
Gómez, Gisela Véase Castejón, Haydeé V.....	25
González , E.G. Absorción de grasa proveniente de tres fuentes dietarias en ratas con diarrea inducida con lactosa.....	244
González, Evangelina. Carotenoid composition and vitamin A value of an Argentinian squash (<i>Cucurbita moschata</i>).....	395
González, Horacio. Absorption of unlabeled reduced iron of small particle size from a commercial source. A method to predict absorption of unlabeled iron compounds in humans.....	217

González-Gross, Marcela. La nutrición en la práctica deportiva Adaptación de la pirámide nutricional a las características de la dieta del deportista.....	321
González Hernández, J. Véase Arámbula Villa, Gerónimo.....	187
González- Hernández, Jesús Véase Figueroa Cárdenas, Juan de Dios.....	293
Goñi, Isabel Véase Gudiel-Urbano, Montserrat.....	332
Guerra-Shinohara, Elvira María Véase Cornbluth Szarfarc, Sophia.....	Supl (1) 42
Grijalva Haro, María Isabel. Contenido de cromo en alimentos y estimación de su ingestión dietaria en el noroeste de México.....	105
Gudiel-Urbano, Montserrat. Oligosacáridos de la leche humana. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante.....	332
Guimarey, Luis Manuel Véase Bolzán Andrés Guillermo.....	145
Gutiérrez, Angel Véase González-Gross, Marcela.....	321

H

Helbig, Elizabete Véase Costa de Oliveira, Admar.....	276
Henríquez Pérez, Gladys Véase Rached de Paoli, Ingrid.....	346
Henríquez Pérez, Gladys Véase Rached de Paoli, Ingrid.....	351
Hevia, Patricio Véase Alfonso G., Gisell C.....	151
Hevia, Patricio Véase González, E.G.....	244
Hurtado P., María Luz. Elaboración y caracterización de frejoles fritos tipo “snack” cultivar Pinto 114, Suave 85 y Tórtola Inia.....	204
Hurtado P., María Luz . Mezclas legumbre/cereal por fritura profunda de maíz amarillo y de tres cultivares de frejol para consumo “snack”.....	303

I

Inzunza Brito, Nélica Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Iouko Ida, Elza Véase Yuahasi Miura, Edna Mayumi.....	195
Ivanovic Marincovich, Daniza Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Izquierdo Rodríguez, Melania Véase Carneiro Muziotti, Flor María.....	132

J

James, W. Philip T. Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Jansana Medina, Joan Manuel Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Jeppsen, Robert B. Toxicidad e inocuidad de Ferrocquel y de otros aminoquelados de hierro.....	Supl (1) 26

K

Kling de Moraes, George Henrique Véase Da Silva, Rosimar Regina.....	258
---	-----

L

Lajolo, Franco M. Véase Genovese, Maria Inés.....	386
Lanas, Fernando Véase Martí, Arturo.....	44
Lara, José Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Larraín, Mª Angélica Véase Quitral, Vilma.....	382
Lathan, Michael C. Suplementación dietética de micronutrientes - un cuarto nuevo enfoque.....	Supl (1) 37
Layrisse, Miguel Véase García-Casal, María Nieves.....	Supl (1) 35

Lima, L.A.M. Véase Novaes, M.R.C.G	265
Leite, J.M.C. Véase Moreira, R.F.A.....	95
Leiva Plaza, Boris. Algunas consideraciones sobre el impacto de la desnutrición en el desarrollo cerebral, inteligencia y rendimiento escolar.....	64
Lemos Chicourel, Elizabeth. Inefficacy of cooking methods on mercury reduction from shark.....	288
Lobo Marchioni, Dirce Maria. Complementary feeding: study on prevalence of food intake in two Health Centers of São Paulo City.....	161
López V., Luis. Tratamientos de desinfección de lechugas (<i>Lactuca sativa</i>) y frutillas (<i>Fragaria chiloensis</i>).....	376
López, N. Véase Ronayne de Ferrer, P.A.....	33
López, Norma Véase Sánchez-Castillo, Claudia P	113
López Plá, Sonia Véase Millán Trujillo, Félix Rafael.....	173
López de Mishima Beatriz A. Véase González, Evangelina.....	395
Loureiro, Sonia Regina Véase Nogueira de Almeida, Graciela Aparecida.....	359
Lourenço, Euclides Joaquim Véase Neves, Váldir Augusto.....	269
Lozano Guzmán, Alejandro Véase Figueroa Cárdenas, Juan de Dios.....	293
Luna Bárcenas, Gabriel Véase Arámbula Villa, Gerónimo.....	187

M

Mac Phail, A. Patrick. Deficiencia de hierro y el mundo del desarrollo.....	Supl (1) 2
Márquez Acosta, Mercedes. Influencia del desayuno sobre la función cognoscitiva de escolares de una zona urbana de Valencia, Venezuela.....	57
Martí, Arturo. Association between prematurity and maternal anemia in Venezuelan pregnant women during third trimestre at labor.....	44
Matos, A.G.B. Véase Moreira, R.F.A.....	95
Medina, Omar Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Medina de Salcedo, Zoraida. Resistencia térmica de levaduras en jugo de naranja a diferentes concentraciones de sólidos solubles.....	167
Mehansho, Haile Véase Latham, Michael C.....	Supl(1) 37
Mendoza, Cléver Véase Acevedo, Laura.....	366
Mendoza, Concepción Véase González, Horacio.....	217
Mérida, Roberta Véase Bressani, Ricardo.....	309
Mesa, José Luis Véase González-Gross, Marcela.....	321
Millán Trujillo, Félix Rafael. Estudio de la estabilidad microbiológica del melón (<i>Cucumis melo</i>) mínimamente procesado por impregnación al vacío.....	173
Molina, L.H. Véase Costa M.....	371
Monge-Rojas, Rafael. Dietary calcium intake by a group of 13 18 -year-old Costa Rican teenagers.....	127
Monge-Rojas, Rafael. Fruits and vegetales consumption among Costa Rican adolescents.....	81
Monge-Rojas, Rafael. Serum lipids and lipoprotein levels in Costa Rican 13-18 year-old teenagers.....	236
Monge-Rojas, Rafael. Total dietary fiber in urban and rural Costa Rican adolescents diets.....	340
Montaño Benavides, Sara Véase Castro González, María Isabel.....	400
Montaño Benavides, Sara Véase Castro González, María Isabel.....	407
Monteiro Porfirio, Darilena Véase Rassinetti Pedro, Nilva Aparecida.....	210
Montenegro, Mariana A. Véase González, Evangelina.....	395
Moreira, R.F.A. Discrimination of Brazilian arabica free coffee samples by chlorogenic acid composition..	95
Moreno Martínez, Ernesto Véase Arámbula Villa, Gerónimo.....	187
Mucillo, Gerson Véase Ricco, Rubens G.....	122
Muñoz, Leda Véase Rodríguez, Sara.....	19
Muñoz, Sergio Véase Martí, Arturo.....	44

N

Nagem, Tanus Jorge Véase Da Silva, Rosimar Regina.....	258
Navarro Díaz, Arturo Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Nazareno, Mónica A. Véase González, Evangelina.....	395
Ndossi, Godwin Véase Latham, Michael C.....	Supl(1) 37
Neves, Váldir Augusto. Changes in protein fractions, trypsin inhibitor and proteolytic activity in the cotyledons of germinating chickpea.....	269
Nogueira-de-Almeida, Carlos A. Véase Ricco, Rubens G.....	122
Nogueira-de-Almeida, Carlos. Growth and hematological studies on Brazilian children of low socioeconomic level.....	230
Nogueira de Almeida, Graziela Aparecida. Obesidade mórbida em mulheres-Estilos alimentares e qualidade de vida.....	359
Novaes, M.R.C.G. Maillard's reaction in parenteral solutions supplemented with arginine.....	265
Nunes Marucci, José María de Fátima Véase Rodríguez Barbosa, Aline.....	49
Nuñez, Hilda P. Véase Monge-Rojas, Rafael.....	127
Núñez Rivas, Hilda Véase Monge-Rojas, Rafael.....	340
Nuñez de Cassana, Luz Marina Véase Cornbluth Szarfarc, Sophia.....	Supl (1) 42

O

Olguin, M.C. Actividad ureásica en productos de soja. Propuesta de un nuevo método.....	284
Olivares G., Manuel. Biodisponibilidad del hierro bis-glicinato quelado dado en agua.....	Supl (1) 22
Olivares, Sonia Véase Oyarzún, María-Teresa.....	7
Ojeda de Rodríguez, Graciela Véase Medina de Salcedo, Zoraida.....	167
Ortega, Pablo Véase Castejón, Haydeé V.....	.25
Ortiz de Bertorelli, Ligia Véase Camacho, Candelario.....	180
Oyarzún, María-Teresa. Enfoque alimentario para mejorar la adecuación nutricional de vitaminas y minerales.....	7
Oyón, Rafael Véase Acevedo, Laura.....	366

P

Pedraza, José Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Penazzi Filli, Sabrina Véase Rassinetti Pedro, Nilva Aparecida.....	210
Peña-Martí, Guiomar Véase Martí, Arturo	44
Pérez-Gil Romo, Fernando Véase Castro González, María Isabel.....	400
Pérez-Gil Romo, Fernando Véase Castro González, María Isabel.....	407
Pérez Torrejón, Hernán Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Pineda Oscar. Comentario final.....	Supl(1) 60
Pineda, Oscar. Presentación.....	Supl (1) 1
Pinto, José Geraldo Véase Da Silva Rosimar Regina.....	258
Pissini Machado Reis, Soely Maria Véase Costa de Oliveira, Admar.....	276
Pizarro A., Fernando. Véase Olivares G., Manuel.....	Supl (1) 22
Portillo, Zulay Véase Márquez Acosta, Mercedes.....	57

Q

Quitral, Vilma. Efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora (<i>Homolaspis plana</i>).....	382
--	-----

R

Rached de Paoli, Ingrid. Efectividad de dos indicadores antropométricos en el diagnóstico nutricional de gestantes eutróficas y desnutridas.....	346
Rached de Paoli Ingrid. Cambios en las variables antropométricas durante la gestación en mujeres eutróficas.....	351
Ramos, María Véase Castejón, Haydée V.....	25
Ressinetti Pedro, Nilva Aparecida. Estudo do conteúdo mineral de iogurtes naturais e com sabor de frutas, comercializados na cidade de São Paulo, Brasil.....	210
Revelant, G.C. Véase Olguin, M.C.....	284
Reyes, Luis Véase Bressani, Ricardo.....	309
Ribeiro Passos de Oliveira, Silvana. Uso de uma mistura alimentar contendo bioproteínas (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>): efeitos sobre gestação alactação e o crescimento de ratos.....	72
Ricco, Rubens G. Growth of exclusively breast-fed infants from a poor urban population.....	122
Ricco, Rubens G. Véase Nogueira-de-Almeida, Carlos A.....	230
Rincón Silva, Manuel Véase Márquez Acosta, Mercedes.....	57
Rivas de Yépez, Carmen E. Véase Márquez Acosta, Mercedes.....	57
Roa Tavera, Valentín Véase Millán Trujillo, Félix Rafael.....	173
Rodrigues Barbosa, Aline. Comparação da gordura corporal de mulheres idosas segundo antropometría, bioimpedância e dexa.....	49
Rodríguez, Carolina Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Rodríguez, Sara. Prevalencia de las anemias nutricionales de mujeres en edad fértil. Costa Rica. Encuesta nacional de nutrición, 1996.....	19
Rodríguez, Sara Véase Cunningham Louella.....	37
Rogéria de Almeida, Marcia Véase Da Silva, Rosimar Regina.....	258
Romero, A. Véase Costa M.....	371
Romero-Keith, José Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Romero R., José Véase López V., Luis.....	376
Ronayne de Ferrer, P.A. Niveles de zinc en leche humana de término y pretérmino.....	33
Rossi, Elizeu Antonio Véase Cardoso Umbelino, Daniela.....	199
Ruiz-Ruiz, Jonatan Véase González-Gross, Marcela.....	321

S

Sakuma, Alice M. Véase Lemos Chicourel, Elizabeth.....	288
Sánchez, G. Véase González E.G.....	244
Sánchez-Castillo, Claudia P. Nutrition and cataract in low-income Mexicans: experience in an Eye Camp.....	113
Santarém, María Véase Rodríguez Barbosa, Aline.....	49
Santos, S.M. Véase Moreira, R.F.A.....	95
Silveira Ferlin, Maria Lúcia Véase Ricco, Rubens G.....	122
Siquiera, Egle M.A. Phylate from an alternative dietary supplement has no effect on the calcium, iron and zinc status in undernourished rats.....	250
Sousa, M. V. Véase Novaes, M.R.C.G.....	265
Souza de Camargo, Daliane Véase Yuahasi Miao, Edna Mayumi.....	195
Souza Meirelles, Eduardo Véase Rodríguez Barbosa, Aline.....	49
Sulbarán de Ferrer, Betzabé Véase Medina de Salcedo, Zoraida.....	167
Sutil de Naranjo, Rosalía Véase Márquez Acosta, Mercedes.....	57

T

Tapia, María Soledad Véase Millán Trujillo, Félix Rafael.....	173
--	-----

Tatala, Simón Véas Latham, Michael C.....	Supl(1) 37
Teixeira Albino, Luiz Fernando Véase Da Silva, Rosimar Regina.....	258
Tenuta-Filho, Alfredo Véase Lemos Chicourel, Elizabeth.....	288
Terzi, S.C. Véase Fávaro Trindade, C.S.....	100
Toledo de Oliveira, Tânia Véase Da Silva, Rosimar Regina.....	258
Toro Díaz, Triana Véase Leiva Plaza, Boris.....	64
Tores, Marysabel Véase Márquez Acosta, Mercedes.....	57
Trugo, L.C. Véase Fávaro Trindade, C.S.....	100
Trugo, L.C. Véase Moreira, R.F.A.....	95
Turcios, Juan C. Véase Bressani, Ricardo.....	309

U

Uauy, Ricardo Véase Oyarzún, María-Teresa.....	7
Ureta V., Fernando Véase López V., Luis.....	376
Urrieta, Jesús R. Véase Castejón, Haydeé V.....	25
Urrutia Cáceres, María Soledad Véase Leiva Plaza, Boris.....	64

V

Vasco Méndez, Nora Lilia Véase Figueroa Cárdenas, Juan de Díos.....	293
Vaz Parente, Joaquim Véase Do Nascimento Nogueira, Nadir.....	225
Valle, J. Véase Giorgini E.....	48
Vianna de Oliverira, Ida María Véase Cornbluth Szarfarc, Sophia.....	Supl (1) 42
Vignale, M.E. Véase Olguin M.C.....	284
Villa, Antonio R. Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	113
Vinagre, Julia Véase Quitral, Vilma.....	382
Viteri, Fernando E. Véase González, Horacio.....	217

W

Weisstaub, A. Véase Ronayne de Ferrer, P.A.....	33
--	----

Y

Yépez, Rafael Dario Véase Márquez Acosta, Mercedes.....	57
Yuahasi Miura, Edna Mayumi. Avaliação biológica de soja com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor kunitz.....	195
Yurika Mizubuti, Ivone Véase Yuahasi Miura, Edna Mayumi.....	195

Z

Zenebon, Odair Véase Lemos Chicourel, Elizabeth.....	288
Zingale, M.I. Véase Olguin, M.C.....	284

INDICE POR MATERIAS DEL VOLUMEN 51-2001

A

Almuerzos servidos , macronutrientes, fibra, ácidos grasos y minerales en, en un comedor universitario	151
Anemia , association between prematurity and maternal, in Venezuelan pregnant women during third trimester at labor.....	44
Anemia , prevalencia de, deficiencia de hierro y folatos en niños menores de siete años. Costa Rica, 1996	37
Anemias nutricionales , prevalencia de las, de mujeres en edad fértil. Costa Rica. Encuesta nacional de nutrición, 1996.....	19
Atún , ácidos grasos del, de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano, en aceite y agua	407

B

Breast-fed , growth of exclusively, infants from a poor urban population.....	122
--	-----

C

Calcium , dietary, intake by a group of 13 18- year- old Costa Rican teenagers.....	127
Calcium , Phytate from an alternative dietary supplement has no effect on the, iron and zinc status in undernourished rats.....	250
Cataract , nutrition and, in low-income Mexicans: experience in an Eye Camp.....	113
Comentario final.....	Supl(1)60
Crecimiento de ratos , uso de uma mistura alimentar contendo bioproteínas (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>): efeitos sobre a gestação, a lactação e o.....	72
Cromo , contenido de, en alimentos y estimación de su ingestión dietaria en el noroeste de México.....	105

D

Desayuno , influencia del, sobre la función cognoscitiva de escolares de una zona urbana de Valencia, Venezuela.....	57
Desnutrición , algunas consideraciones sobre el impacto de la, en el desarrollo cerebral, inteligencia y rendimiento escolar.....	64
Diarrea Inducida , absorción de grasa proveniente de tres fuentes dietarias en ratas con, con lactosa.....	244
Dieta del deportista , la nutrición en la práctica deportivas adaptación de la pirámide nutricional a las características de la.....	321

F

Feijão (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>), atividade inibitória de tripsina de, avaliação crítica dos métodos de determinação.....	386
Ferro , efeito de diferentes sais de, sobre as características sensoriais do “iogurte” de soja.....	199
Ferro , utilização de diferentes concentrações de, por adolescentes grávidas também suplementadas com zinco e ácido fólico.....	225
Ferrocquel , toxicidad e innocuidad de, y de otros aminoquelados de hierro.....	Supl(1)26
Fiber , total dietary, in urban and rural Costa Rican adolescents' diets.....	340
Flatulência , o processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de, rafinose, estaquiose e verbascose.....	276
Flavonóides naringina efeito hipolipidêmico dos, e rutina.....	258

Food , complementary feeding: study on prevalence of, intake in two Health Centers of São Paulo City.....	161
Frejoles fritos , elaboración y caracterización de, tipo “snack” cultivar Pinto 114, Suave 85 y Tórtola Inia.....	204
Fruits and vegetables , consumption among Costa Rican adolescents.....	81

G

Germinating chickpea , changes in protein fractions, trypsin inhibitor and proteolytic activity in the cotyledons of.....	269
Gestantes eutróficas , efectividad de dos indicadores antropométricos en el diagnóstico nutricional de, y desnutridas.....	346
Gordura corporal , comparação da, de mulheres idosas segundo antropometria, bioimpedância e dexa.....	44
Green coffee , discrimination of Brazilian arabica, samples by chlorogenic acid composition.....	95

H

Hematological studies , growth and, on Brazilian children of low socioeconomic level.....	230
Hierro , absorcion y metabolismo del, aminoquelado.....	Supl(1)13
Hierro , biodisponibilidad del, bis-glicinato quelado dado en agua.....	Supl(1)22
Hierro , deficiencia de, y el mudo en desarrollo.....	Supl(1)2
Hierro , efectividad relativa del, bis-glicinato quelado (Ferrochel) y del sulfato ferroso en el control de la deficiencia de hierro en mujeres embarazadas.....	Supl(1)42
Hierro , efecto de cambios de pH sobre la solubilidad del, bis-glicinato quelado y de otros compuestos de hierro.....	Supl(1)35
Hierro , el uso de azúcar fortificado con, tris-glicinato quelado en la prevención de anemia ferropriva en preescolares.....	Supl(1)54
Hierro , la química del, ferroso bis-glicinato quelado.....	Supl(1)7
Hierro , uso de bollos fortificados con hierro bis-glicinato quelado en la prevención de anemia por deficiencia de, en preescolares.....	Supl(1)48

I

Iogurtes naturais , estudo do conteúdo mineral de, e com sabor de frutas, comercializados na cidade de São Paulo, Brasil.....	210
Iron , absorption of unlabeled reduced, of small particle size from a commercial source. A method to predict absorption of unlabeled iron compounds in humans.....	217

L

Leche , cinética de crecimiento y producción de proteasas de <i>Pseudomonas fluorescens</i> en, cruda a temperaturas de refrigeración.....	371
Leche humana , niveles de zinc en, de término y pretérmino.....	33
Leche humana , oligosacáridos de la. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante.....	332
Lechugas (<i>Lactuca sativa</i>), tratamientos de desinfección de, y frutillas (<i>Fragaria chiloensis</i>).....	376
Levaduras en jugo de naranja , resistencia térmica de, a diferentes concentraciones de sólidos solubles.....	167
Lípidos y lipoproteínas , efectos de la intervención nutricional sobre las variables antropométricas, la ingesta y las concentraciones de, del plasma en niños con dislipidemia.....	132
Lisina , efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de, disponible en carne de jaiba mora (<i>Homolaspis plana</i>).....	382

M

Maillard's reaction in parenteral solutions supplemented with arginine.....	265
--	-----

Maíz , caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de, de consumo humano en América Central.....	309
Maíz (<i>Zea mays L.</i>) , efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de, nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, reológicas, estructurales y texturales del grano, masa y tortillas de maíz.....	187
Masa corporal , relación entre el índice de, durante la gestación en embarazadas adolescentes y adultas, indicadores antropométricos de crecimiento fetal y retardo de crecimiento intrauterino. La Costa, Argentina, 1999.....	145
Mazorcas , estudio de la estabilidad de las características químicas, microbiológicas y sensoriales de, refrigeradas de híbridos de maíz super dulce.....	180
Maíz , características de cocción por nixtamalización de once variedades de.....	86
Melón (<i>Cucumis melo L.</i>) , estudio de la estabilidad microbiológica del, mínimamente procesado por impregnación al vacío.....	173
Mercury , inefficacy of cooking methods on, reduction from shark.....	288
Micronutrientes , suplementación dietética de, Un cuarto nuevo enfoque.....	Supl(1)37
Mujeres eutróficas , cambios en las variables antropométricas durante la gestación en.....	351
O	
Obesidade , mórbida em mulheres – Estilos alimentares e qualidade de vida.....	359
P	
Perro caliente , Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, <i>Staphylococcus sp.</i> y hongos en ensaladas para, expedidas en la ciudad de Maracay, Venezuela.....	366
S	
Sardina , ácidos grasos en, en salsa de tomate de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano.....	400
Serum lipids and lipoprotein levels in Costa Rican 13-18 year-old teenagers.....	236
Snack , mezclas legumbre/cereal por fritura profunda de maíz amarillo y de tres cultivares de frejol para consumo.....	303
Soja , actividad uréasica en productos de, Propuesta de un nuevo método.....	284
Soja . Avaliação biológica de, com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor kunitz..	195
Soy milk , development and sensory evaluation of, based yoghurt.....	100
T	
Tortillas , fortificación y evaluación de, de nixtamal.....	293
V	
Vitamina A , carotenoid composition and, value of an Argentinian squash (<i>Cucurbita moschata</i>).	395
Vitamina A , prevalencia de deficiencia subclínica de, y desnutrición en niños marginales de Maracaibo-Venezuela.....	25
Vitaminas , enfoque alimentario para mejorar la adecuación nutricional de, y minerales.....	7

Fuerte como un roble.

Ahora tus cereales Kellogg's[®]
vienen con Forticalcio[®],
todas las fortalezas del calcio
para huesos y dientes
sumamente fuertes.



FORTICALCIO[®] de *Kellogg's[®]*

Más fortalezas para crecer.
www.kelloggs-latino.com

**En Venezuela y hacia y desde todo el mundo,
en IPOSTEL le ofrecemos**

**SERVICIOS TRADICIONALES de Cartas, Impresos y
Encomiendas.**



... y además contamos con novedosos

SERVICIOS EXPRESOS



A nivel nacional ofrecemos: EEE (Entrega Especial Expresa) es un servicio que le permite enviar documentos y encomiendas a todo el Territorio del país de una forma expresa, económica y segura.



EMS, (Express Mail Service), es un servicio tipo courier que le permite enviar documentos y mercancías a nivel internacional, respondiendo a su necesidad de entrega en tiempo breve y a los precios más económicos del mercado.

SERVICIOS ELECTRONICOS

CORREO ELECTRONICO Y KIOSCO INTERNET

Ipostel habilitó para aquellos usuarios que les gusta navegar en el mundo de la red, kioscos de internet, ubicados en Altamira, C.C.C.T y los Ruices, los cuales disponen de computadoras de fácil acceso a todas aquellas personas interesadas en explorar dentro del campo de la comunicación.



AUTOMATIZACION DE TAQUILLA

La automatización de taquillas cuenta con modernos accesorios como balanza electrónica e impresora de recibos; esta permite mejorar la atención en las taquillas postales y simultáneamente establecer un control eléctrico de los ingresos por venta de servicios.



SEGURIDAD Y RASTREO POR CODIGO DE BARRA

El Código de barra permite registrar los datos más importantes de los envíos EMS entrantes y salientes, este sistema actualmente es utilizado a nivel internacional, para envíos EMS.



Un Mundo de Servicios para Usted...

Artes Finales: Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 993.81.43

Portada: Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 285.55.29

Impresión: Editorial Texto C.A., Caracas, Venezuela
Teléfonos: (02) 632.97.17 - 632.74.86

SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION (SLAN)

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada el 10 de Noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental. El actual Consejo Directivo de la SLAN (2001-2003) está constituido por los siguientes miembros:

Presidente	Adolfo Chávez
Vicepresidente (Presidente Electo)	Helio Vannucchi
Secretario General	Abelardo Avila Curiel
Tesorero	Fernando Pérez-Gil Romo
Presidente Saliente	Alejandro O'Donnell
Vocal de Salud Pública	Juan Rivera Dommarco
Vocal de Alimentación y Dietética	Consuelo Velásquez
Vocal de Nutrición Infantil	Homero Martínez
Vocal de Ciencia de los Alimentos	Jóse Angel Ledesma Solano
Vocal de Tecnología de Alimentos	Eduardo Mendoza Martínez
Vocal en Nutrición Básica	Salvador Villalpando
Vocal en Nutrición Animal	Silvia Carrillo
Vocal en Estatutos y Organización	Natalia Berún de Tamez
Vocales de Informática	Teresa Shamah Levy
	José Félix Chávez Pérez (ALAN)
	Héctor Araya (AEN)
Vocales de Congreso y Reuniones	Miriam Muñoz Rivera
	Mara Rosa Ochoa Camposeco
	Claudia Hunot
	María Concepción Sánchez Roveló

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Editor General	José Félix Chávez Pérez
Editor Asociado	Maritza L. de Jiménez

MIEMBROS DE CUERPO EDITORIAL PERIODO 2001-2003

Juan de Dios Alvarado	María L.P. Martín de Portela
Héctor Araya	Lilia Masson Salaué
María Laura Arias E.	Reynaldo Martorell
Jaime Ariza M.	Rafael Monge R.
Guillermo Arroyave	Josefina Morales de León
José María Bengoa	Santiago Muzzo B.
Adriana Blanco M.	Rosa María Ortega A.
Héctor Bourges R.	Saturnino de Pablo
Ricardo Bressani	Nelly Pak
Jesús Bulux	Emma W. de Penna
Benjamín Caballero	Ernesto Pollitt
Germán Camejo	Myriam Puig A.
Sara J. Closa	María Ester Rfo
Omar Dary M.	María Elena Sambucetti
Elizabet Dini G.	Nilson E. de Sousa
J.E. Dutra de Oliveira	Nora Slobodianik
Juan Ignacio Egaña	Liseti Solano R.
Patricia R. de Ferrer	Noel W. Solomons
María N. García Casal	Luiz C. Trugo
Marisa Guerra M.	Ricardo Uauy D.
Werner G. Jaffé	Mirtha E. Valencia
Gladys Henríquez P.	Mauro Valencia J.
Eva Hertrampf	Yolanda H. de Valera
Patricio Hevia O.	Mario Villarroel T.
Miguel Layrisse	Tomás Walter
Luis López Valladares	Carolyn Jane Wyatt
Julio Sergio Marchini	Enrique Yáñez S.

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Volumen 51. N° 4, Diciembre 2001

Contenido

ARTICULOS GENERALES

La nutrición en la práctica deportiva: Adaptación de la pirámide nutricional a las características de la dieta del deportista

Marcela González-Gross, Angel Gutiérrez, José Luis Mesa, Jonatan Ruiz-Ruiz, Manuel J. Castillo..... 321

Oligosacáridos de la leche humana. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante

Montserrat Gudiel-Urbano e Isabel Goñi..... 332

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

Total dietary fiber in urban and rural Costa Rican adolescents' diets

Rafael Monge-Rojas, Hilda Nuñez Rivas 340

Efectividad de dos indicadores antropométricos en el diagnóstico nutricional de gestantes eutróficas y desnutridas

Ingrid Rached de Paoli, Gladys Henríquez Pérez, Arelis Azuaje Sánchez 346

Cambios en las variables antropométricas durante la gestación en mujeres eutróficas

Ingrid Rached de Paoli, Arelis Azuaje Sanchez, Gladys Henríquez Pérez 351

Bioquímica Nutricional

Obesidade mórbida em mulheres - Estilos alimentares e qualidade de vida

Graziela Aparecida Nogueira de Almeida, Sonia Regina Loureiro, José Ernesto dos Santos 359

Microbiología de Alimentos

Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, *Staphylococcus* sp. y hongos en ensaladas para perro caliente expandidas en la ciudad de Maracay, Venezuela

Laura Acevedo, Clever Mendoza y Rafael Oyón..... 366

Cinética de crecimiento y producción de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* en leche cruda a temperaturas de refrigeración

Costa M., Gómez M.F., Molina L.H. y Romero A. 371

Tratamientos de desinfección de lechugas (*Lactuca sativa*) y frutillas (*Fragaria chiloensis*)

Luis López V., José Romero R. y Fernando Ureta V. 376

Ciencia de Alimentos

Efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*)

Vilma Quitral, Lilian Abugoch, Julia Vinagre y M^a Angélica Larraín 382

Atividade inibitória de tripsina do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): avaliação crítica dos métodos de determinação

Maria Inés Genovese and Franco M. Lajolo 386

LatinFood. Composición de Alimentos

Carotenoid composition and vitamin A value of an Argentinian squash (*Cucurbita moschata*)

González Evangelina, Montenegro Mariana A., Nazareno Mónica A., López de Mishima Beatriz A. 395

Ácidos grasos en sardina en salsa de tomate de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano

María Isabel Castro González, Sara Montaña Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo 400

Ácidos grasos del atún de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano, en aceite y agua

María Isabel Castro González, Sara Montaña Benavides, Fernando Pérez-Gil Romo 407

INFORMACION PARA LOS AUTORES 414

INDICE GENERAL DEL VOL. 51, 2001 421

INDICE DE AUTORES 426

INDICE DE MATERIA 434