

# ALAN

Volumen 50. N° 1. Marzo 2000

ARCHIVOS

Órgano 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.  
Avenida Francisco de Miranda-Caracas 1060. Venezuela, S.A.  
Fax (58-2) 284.85.43

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION está registrado en ASEREME e indizado en las siguientes Bases de Datos: LILACS/CD ROM; Food Science & Technology Abstracts; MEDLINE; Life Science Collection; Science Citation Index

## **ENTIDADES PATROCINANTES**

- **Fundación CAVENDES**  
Caracas, Venezuela
- **Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)**  
Guatemala, Guatemala C.A.
- **INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION. Venezuela**
- **KELLOGG'S América Latina**
-  **PRODUCTOS ROCHE. América Latina**
- **Fundación POLAR**
- **Protein Technologies International**  
Caracas, Venezuela
- **Centro de Atención Nutricional Infantil Antímano. CANIA**
- **Alimentos LE BISCUIT C.A.**
- **PARMALAT de Venezuela**
- **BASF Venezolana S.A.**
- **Savoy Brands Venezuela, C.A.**
- **Cadipro Milk Products, C.A.**
- **ADM Protein Specialties**

**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 50

MARZO 2000

Nº 1

---

## Contenido

Páginas

### ARTICULOS GENERALES

#### Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta

Isabel Martínez-Valverde, María Jesús Periago, Gaspar Ros ..... 5

### TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN

#### Nutrición Humana

#### Entrenamiento de paneles sensoriales constituidos por niños

Emma Wittig de Penna, Andrea Bunger Timermann, Lissis Serrano Valdés..... 19

#### Modificación enzimática de las propiedades funcionales, nutricias y sensoriales de la soya para alimentación especial

Ana María Calderón de la Barca, Abraham Wall Medrano, Martín Jara Marini, Aarón F. González Córdova y Adolfo Ruíz Salazar ..... 26

#### Evaluación de los efectos de un programa de desayunos escolares en atención y memoria

José Angel Vera Noriega, Sandra Elvia Domínguez Ibáñez, Martha Olivia Peña Ramos, María Martha Montiel Carbajal ..... 35

#### Bioquímica Nutricional

#### Uso de la altura de rodilla para corregir la talla de ancianos de origen hispano

Odilia I. Bermúdez y Katherine L. Tucker ..... 42

<b>Efecto de la diarrea inducida con lactosa sobre la disponibilidad de los macronutrientes y la función inmune en ratas nutridas y desnutridas</b>	
Esther Linda Arciniegas, Anna María Cioccia y Patricio Hevia .....	48
<b>Dietary proteins on reproductive performance in three consecutive generations of rats</b>	
Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa, Eunice Salzano Lago, Naíde Regueira Teodósio, Francisca Martins Bion .....	55
<b>Ciencia de Alimentos</b>	
<b>Optimización de formulaciones para productos dietéticos de pastelería</b>	
Mario Villarroel T., Edgar Uquiche C., Gladys Brito C., Marcela Cancino R. ....	62
<b>Estudio de algunas características de las proteínas de Canavalia</b>	
Ramírez M., Alejandra O. y Ortiz de Bertorelli Ligia .....	69
<b>Estudio electroforético de las albúminas y globulina de cuatro genotipos de <i>Canavalia ensiformis</i></b>	
Ligia Ortiz de Bertorelli y Alejandra Ramírez .....	74
<b>Tecnología de Alimentos</b>	
<b>Elaboración de un yogurt con base en una mezcla de leche y garbanzo (<i>Cicer arietinum</i>)</b>	
Josefina C. Morales de León, Ma.Lorena Cassís Nosthas, Elizabeth Cortés Penedo .....	81
<b>LatinFoods. Composición de Alimentos</b>	
<b>Nitratos e nitritos em queijos caseiros e industrializados comercializados na região sul de Minas Gerais, Brasil</b>	
Kelly Regina Seraphim & Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira .....	87
<b>Composición química de productos alimenticios derivados de trigo y maíz elaborados en Costa Rica</b>	
Adriana Blanco-Metzler, María de los Angeles Montero-Campos y Mireya Fernández-Piedra .....	91.
<b>Fibra dietética en verduras cultivadas en Chile</b>	
Nelly Pak D. ....	97
<b>Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil - <i>Pleurotus</i> spp e outras espécies desidratadas</b>	
Gilma Lucazechi Sturion & Marcia Regina T. de Camargo Ranzani .....	102
<b>NOTAS</b> .....	109
<b>NUEVOS LIBROS</b> .....	111
<b>CARTAS AL EDITOR</b> .....	112

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the  
Latin American Society of Nutrition

---

VOL 50

MARCH 2000

Nº 1

---

## Contents

	Pages
<b>GENERAL ARTICLES</b>	
<b>Nutritional meaning of the phenolic compounds from the diet.</b> Isabel Martínez-Valverde, María Jesús Periago, Gaspar Ros .....	5
<b>RESEARCH PAPERS</b>	
<b>Human Nutrition</b>	
<b>Sensory training of children</b> Emma Wittig de Penna, Andrea Bunger Timermann, Lissis Serrano Valdés .....	19
<b>Enzymatic modification of the functional, nutritional and sensorial properties of soy protein for special nutrition</b> Ana María Calderón de la Barca, Abraham Wall Medrano, Martín Jara Marini, Aarón F. González Córdova and Adolfo Ruíz Salazar .....	26
<b>Evaluating the effects of a school breakfast program on attention and memory</b> José Angel Vera Noriega, Sandra Elvia Domínguez Ibáñez, Martha Olivia Peña Ramos, María Martha Montiel Carbajal .....	35
<b>Nutritional Biochemistry</b>	
<b>Using knee height to correct stature of elderly Hispanics</b> Odilia I. Bermúdez y Katherine L. Tucker .....	42

<b>Effect of lactose induced diarrhea on macronutrients digestibility and immune function in well-nourished and undernourished rats.</b>	
Esther Linda Arciniegas, Anna María Cioccia and Patricio Hevia .....	48
<b>Dietary proteins on reproductive performance in three consecutive generations of rats</b>	
Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa, Eunice Salzano Lago, Naíde Regueira Teodósio, Francisca Martins Bion .....	55
<b>Food Science</b>	
<b>Optimization of dietetic formulations for pastry products</b>	
Mario Villarroel T., Edgar Uquiche C., Gladys Brito C., Marcela Cancino R. ....	62
<b>Characterization of protein from Canavalia.</b>	
Ramírez M., Alejandra O. and Ortiz de Bertorelli Ligia .....	69.
<b>Electrophoretic study of albumins and globulins of four genotypes of <i>Canavalia ensiformis</i></b>	
Ligia Ortiz de Bertorelli and Alejandra Ramírez .....	74
<b>Food Technology</b>	
<b>Elaboration of yogurt made of milk and chickpea (<i>Cicer arietinum</i>) mixture</b>	
Josefina C. Morales de León, Ma.Lorena Cassís Nosthas, Elizabeth Cortés Penedo .....	81
<b>LatinFoods. Food Composition</b>	
<b>Nitrate and nitrite in homemade and industrialized cheeses commercialized in the Southern region of Minas Gerais, Brazil</b>	
Kelly Regina Seraphim & Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira .....	87
<b>Chemical composition of wheat and corn based food products elaborated in Costa Rica</b>	
Adriana Blanco-Metzler, María de los Angeles Montero-Campos and Mireya Fernández-Piedra .....	91
<b>Dietary fiber in vegetables cultivated in Chile</b>	
Nelly Pak D.....	97
<b>Mineral composition of edible mushrooms cultivated in Brazil - <i>Pleurotus</i> spp and other dehydrated species</b>	
Gilma Lucazechi Sturion & Marcia Regina T. de Camargo Ranzani .....	102
<b>NOTES.....</b>	109
<b>NEW BOOKS:.....</b>	111
<b>LETTERS TO THE EDITOR .....</b>	112

# Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta

*Isabel Martínez-Valverde, María Jesús Periago, Gaspar Ros*

Unidad Docente de Bromatología e Inspección de Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.  
Campus Universitario de Espinardo, Murcia, España

**RESUMEN.** Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, siendo parte importante de la dieta tanto humana como animal. Constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8.000 compuestos distintos. Estos compuestos tradicionalmente han sido considerados como antinutrientes, debido al efecto adverso de uno de sus componentes mayoritarios, los taninos, sobre la digestibilidad de la proteína. Sin embargo, actualmente se ha despertado un reciente interés por estos compuestos debido a sus propiedades antioxidantes y sus posibles implicaciones beneficiosas en la salud humana, tales como en el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedad cardiovascular y otras patologías de carácter inflamatorio. Esta revisión ofrece una visión actual sobre los principales grupos de compuestos fenólicos existentes, sus efectos organolépticos en los alimentos vegetales, sus efectos fisiológicos en el cuerpo humano, su metabolismo y biodisponibilidad, así como su presencia en la dieta.

**Palabras clave:** Compuestos fenólicos, polifenoles, flavonoides, actividad antioxidante.

**SUMMARY.** Nutritional meaning of the phenolic compounds from the diet. Phenols are one of the major groups of nonessential dietary components appearing in vegetable foods. They are a wide chemical compounds group that are considered as secondary plant metabolites, with different activity and chemical structure, including more than 8.000 different compounds. Phenols, has traditionally been considered as antinutritive compounds due to the adverse effect of one of their main components, tannins, on protein digestibility. However, actually there is an increased interest in these compounds because they have been associated with the inhibition of atherosclerosis and cancer. The bioactivity of phenolics may be related to their antioxidant behaviour, which is attributed to their ability to chelate metals, inhibit lipoxigenasa and scavenge free radicals. This review make a global view on the main phenolic compound groups, their organoleptic effects in vegetable foods, their physiological effects in humans, their metabolism, bioavailability as well as their content in the diet.

**Key words:** Phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity.

## INTRODUCCION

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8.000 compuestos distintos. Su forma más frecuente es la de polímeros o lignina insoluble, mientras que su presencia en los tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales (1). La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular (2).

Sus principales funciones en las células vegetales son las de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa (3).

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados (4). Su contribución a la pigmentación de los

alimentos vegetales está claramente reconocida, a través de las antocianidinas, responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y de sus productos (1,5). Además, la reacción de oxidación de los compuestos fenólicos hacia la formación de quinonas, catalizada por las enzimas polifenol oxidasas, produce un pardeamiento enzimático en los alimentos (6), fenómeno de vital importancia para asegurar la calidad de frutas y verduras durante el procesado (1). Igualmente los compuestos fenólicos, y en concreto los taninos condensados o proantocianidinas se asocian con la astringencia que presentan muchas de las frutas comestibles antes de la maduración (1).

En la actualidad este grupo de compuestos fitoquímicos presenta un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. Así, muchas de las propiedades beneficiosas descritas en los alimentos de origen vegetal, asociadas principalmente a la actividad antioxidante y las propiedades antinutritivas de estos compuestos, están relacionadas con la presencia y con el contenido de compuestos fenólicos.

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

tiene interés desde un punto de vista tecnológico y nutricional (7). Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y en el cáncer así como en procesos de envejecimiento por lo que está siendo intensamente estudiado mediante ensayos “in vivo” e “in vitro” (8).

El objetivo de esta revisión es proporcionar una visión general del aspecto nutricional los principales grupos de compuestos fenólicos presentes en la dieta.

### Estructura química y clasificación

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (8). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos (1). Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (9).

Según Harborne (10) los compuestos fenólicos se puede agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica, describiéndose a continuación aquellas con un mayor interés nutricional:

- **Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenil acéticos**  
Dentro de este grupo los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos tales como el gálico, vainillínico, p-hidroxibenzoico, y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos. Por el contrario existe poca información en la literatura científica sobre los ácidos fenilacéticos en los vegetales (5).
- **Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles**  
Los ácidos cinámicos (caféico, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla

general se hayan presentes en forma de derivados. Así por ejemplo, el ácido caféico se encuentra esterificado con el ácido quínico como ácidos clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico (5). Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido (9), mientras que los cromonoles son menos conocidos, y se forman a partir de las antocianidinas ante incrementos del pH del medio (5).

- **Lignan y neolignan**  
Son metabolitos de las plantas de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de p-hidroxi fenilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno (11). Son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno (12). El término lignano se aplica cuando el compuesto está formado a partir de uniones entre el ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano (11).
- **Flavonoides**  
Los flavonoides constituyen el grupo más importante dentro de esta clasificación, dividiéndose en varias subclases con más de 5000 compuestos (13), siendo los polifenoles más distribuidos en las plantas. Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona o pirán heterocíclico (Figura 1). Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, calconas, dihidrocalconas, antocianidinas, leucoantocianidinas o flavandiolo y proantocianidinas o taninos condensados (taninos no hidrolizables). Dentro de todos estos grupos las flavonas (p.e. apigenina, luteolina y diosmetina), los flavonoles (p.e. quercitina, mirecítina y kampferol) y sus glicósidos son los compuestos más abundantes en vegetales (14).
- **Taninos**  
Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular comprendido entre 500 y 3000 D. Estos compuestos contienen un gran número de grupos hidroxilo, entre otros grupos funcionales (1 a 2 por 100 D), siendo por tanto capaces de unirse a proteínas y a otras macromoléculas.  
Los taninos pueden clasificarse en dos grupos: taninos hidrolizables y no hidrolizables o taninos condensados. Los taninos condensados tienen como núcleo central un alcohol polihídrico como la glucosa, y grupos hidroxilo que se encuentran esterificados parcial o completamente bien con el ácido gálico o bien con el ácido hexahidroxidifenico, formando los galotaninos y elagitaninos, respectivamente. Tras la hidrólisis con ácidos, bases o ciertas enzimas, los galotaninos dan glucosa y ácido gálico (15).

### **Cuantificación de compuestos fenólicos**

La cuantificación e identificación de los componentes difenólicos de la dieta ha despertado un gran interés por su importancia nutricional, lo que ha hecho que cada día sean más los datos que se pueden encontrar en la bibliografía científica sobre el perfil fenólico de los alimentos. Además, la gran diversidad de compuestos fenólicos dispersos en los tejidos vegetales, así como sus diferentes estructuras químicas, ha traído consigo la necesidad de desarrollar un gran número de técnicas analíticas para su identificación y cuantificación. Las primeras técnicas desarrolladas fueron técnicas espectrofotométricas, que si bien tienen interés desde el punto de vista del control de calidad, no aportan la suficiente información desde un punto de vista nutricional, por lo que ha sido necesario recurrir a técnicas más precisas, como las cromatográficas, que permitan la identificación individualizada de cada uno de los polifenoles de interés nutricional.

### **Técnicas espectrofotométricas**

Numerosos métodos espectrofotométricos han sido desarrollados para la determinación del contenido de compuestos fenólicos en materiales vegetales. Estos métodos pueden cuantificar todos los compuestos fenólicos extraíbles como grupo 16-18 o pueden determinar una sustancia fenólica específica como la sinapina 19 o el ácido sinápico (20), o una clase determinada de compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos (21-23). Entre este tipo de técnicas, los métodos usados comúnmente para determinar polifenoles en alimentos destacan el ensayo de la vainillina para la determinación de compuestos flavan-3-ol, dihidrocalconas y proantocianidinas que tienen una unión simple en la posición 2,3 y poseen grupos metahidroxilo libres en el anillo B (16,21,24,25) y los ensayos de Folin-Denis (16) y Folin-Cicalteu para la cuantificación de polifenoles totales en alimentos vegetales y en bebidas (23,26,27).

### **Ensayos ultravioletas**

Numerosos estudios se han realizado para desarrollar técnicas rápidas de cuantificación de compuestos fenólicos mediante ensayos ultravioletas. Cada grupo de compuestos fenólicos se caracteriza por tener una o varias absorbancias máximas a distintas longitudes de onda dentro del espectro ultravioleta (1). Así, los fenoles simples tienen una absorbancia máxima entre 220 y 280 nm (28), mientras que los compuestos fenólicos relacionados presentan una amplia variación en la longitud de onda a la cual presentan una absorbancia máxima. Una de las técnicas más empleadas dentro de este grupo es la determinación del ácido clorogénico, el cual es cuantificado tras su extracción con alcohol etílico y posterior lectura de la absorbancia máxima a una longitud de onda de 325-328 nm (29).

### **Técnicas cromatográficas**

Las técnicas cromatográficas han permitido la separación, aislamiento, purificación e identificación de compuestos

fenólicos (30,31), así como el estudio de la interacción entre los polifenoles y otros componentes de los alimentos (32). Las técnicas de cromatografía en papel y en capa fina, son empleadas para la purificación y aislamiento de compuestos fenólicos en los alimentos, sobre todo para la determinación de y la determinación de ácidos fenólicos respectivamente (30).

Hoy en día, las técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) son las más empleadas para la separación y cuantificación de compuestos fenólicos. Existe distintos soportes y fases móviles que permiten el análisis de antocianinas, procianidinas, flavonas y ácidos fenólicos. La utilización del detector de photo-diodo array facilita la detección de estos compuestos por HPLC, al utilizar de forma conjunta el tiempo de retención y el espectro ultravioleta para la identificación de los picos (33). Mediante el empleo de HPLC, podemos determinar un gran número de polifenoles de interés nutricional, como fenoles simples, ácidos fenólicos y sus derivados, y los distintos flavonoides, aunque esta técnica requiere la utilización de métodos de extracción optimizados a cada uno de los compuestos que se vayan a analizar (1). Las técnicas de HPLC han sido utilizadas para la caracterización de los polifenoles en una gran variedad de extractos vegetales (29,34-39), frutas (34,39-43) zumos (14,39,44-46), aceite de oliva (47), vinos y otras bebidas (14,27,48-50).

Actualmente, la utilización de HPLC con detección por photo diodo array y acoplado a un detector de masa se ha empleado para la cuantificación de flavonoles, flavonas y flavononas en alimentos. En esta técnica, las áreas del pico de cada uno de los compuestos a investigar se emplean para la cuantificación, mientras que el detector de masas se utiliza para incrementar la especificidad del método (39).

### **Efecto de los compuestos fenólicos en la calidad organoléptica de los alimentos**

Los compuestos fenólicos intervienen en las características organolépticas de las frutas y verduras, al intervenir en gran medida en el color natural y en el sabor que estas poseen (5).

### **Contribución al color**

Los flavonoides son los responsables del color natural de los alimentos. Entre ellos las antocianinas son los responsables de los colores rosa, escarlata, rojo, malva, azul y violeta de los vegetales, zumos de frutas y vinos (51), y se presentan en forma de glicósidos como antocianos. Las antocianinas son compuestos muy inestables, por lo que la pérdida de su color se puede producir durante el procesado, almacenamiento y congelación de las distintas frutas y vegetales (1).

Las coloraciones amarillas o marfiles pueden ser debidas a la presencia de flavonoles, flavonas, calconas, flavononas e isoflavononas (5). Sin embargo, se ha observado que muchos de estos compuestos carecen de color en estado natural pero pueden convertirse en compuestos coloreados bajo determinadas condiciones en la manipulación y procesado de los

distintos vegetales (1,5). Los flavonoles (kaempferol, quercitina y mirecitina) contribuyen al color del té verde (1) mientras que las flavonas y los flavonoles no intervienen claramente en las coloraciones de las plantas al menos que están presentes en altas concentraciones como ocurre en la piel de la cebolla (37,38).

Además, de forma general, los polifenoles pueden quelar metales modificando la coloración natural de los alimentos de manera que los quelatos de hierro son los responsables de coloraciones azules a negras, mientras que los quelatos de aluminio proporcionan coloraciones amarillo brillante o marrones (5,52).

### Sabor amargo

Las flavononas son los compuestos responsables del sabor amargo en los cítricos. Así, la naringina es el componente amargo mayoritario del pomelo, mientras que la neohesperidina lo es de la naranja amarga. Además, ciertos glicósidos flavanónicos amargos o insípidos pueden transformarse por apertura del anillo en calconas (con sabor dulce), las cuales por hidrogenación posterior se transforman en dihidrocalconas, con poder edulcorante igual o superior al de la sacarina (5). Otros compuestos fenólicos, entre los que destaca el ácido clorogénico, han sido asociados al sabor amargo de la cerveza, el vino y la sidra (1). Mientras que los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados son responsables del sabor amargo de los arándanos (53).

### Sabor astringente

Las proantocianidinas o taninos condensados constituyen la principal fracción fenólica responsable de las características de astringencia de los alimentos vegetales, aunque la intensidad de estas sensaciones depende del peso molecular del compuesto presente en el alimento, observándose que sólo los taninos con un peso molecular entre 500 y 3000, pueden desarrollar una sensación de astringencia (54). Paneles de catadores han demostrado que las proantocianidinas tetraméricas son más amargas, mientras que las más poliméricas son más astringentes, cuando ambas son adicionadas en la misma cantidad (46).

Se ha observado que durante la maduración se produce una pérdida en la astringencia de los frutos que está asociada a una disminución del contenido en taninos (24). Así, el sabor astringente es típico de las manzanas inmaduras, mientras que las maduras, pobres en compuestos fenólicos, no presentan este sabor (5). Distintos mecanismos han sido estudiados para explicar esta pérdida de la astringencia. Según Goldstein y Swain (24), este fenómeno se debe a la polimerización de los taninos y su consecuente pérdida de capacidad para precipitar proteínas, mientras que otros autores lo han relacionado con la formación de quelatos entre los taninos y distintas macromoléculas (55).

### Pardeamiento

El pardeamiento de las frutas y vegetales está también relacionado con el contenido en compuestos fenólicos. Así, la formación de pigmentos amarillos y marrones durante la manipulación y procesado de los alimentos vegetales, está controlada por los niveles de polifenoles, la presencia de oxígeno y la actividad de la polifenol oxidasa (6). Esta enzima contiene cobre y cataliza la reacción entre un grupo fenol y el oxígeno para dar agua y quinona, compuesto responsable de los pigmentos amarillos y marrones (1,46).

### Efectos fisiológicos beneficiosos asociados a los compuestos fenólicos

#### Efecto sobre los macronutrientes

Algunos polifenoles son considerados antinutrientes ya que pueden formar complejos con las proteínas, almidón y enzimas digestivas, causando una reducción en el valor nutritivo de los alimentos (5). Este efecto se ha asociado generalmente a los taninos ya que los taninos hidrolizados se encuentran en cantidades trazas en los alimentos que se consumen habitualmente, se consideran a los taninos condensados o proantocianidinas como principal antinutriente entre todos los polifenoles (15).

Numerosos estudios realizados en animales de granja y experimentación para evaluar el efecto antinutritivo de los taninos debido a su actuación sobre las proteínas, han mostrado que estos compuestos intervienen negativamente sobre la ingesta de alimento, la tasa de crecimiento, la digestibilidad de la proteína, la disponibilidad de los aminoácidos y sobre las distintas producciones de estos animales, pudiendo incluso llegar a ocasionar la muerte (15).

Para que se produzca la unión entre los taninos y las proteínas se requieren moléculas con un peso superior a 350 D, por lo que un flavonoide dimérico o una molécula de ácido elálgico serían suficientes para formar este complejo (56). La unión se realiza mediante enlaces por puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilos de los taninos y los grupos carboxilos de los enlaces peptídicos de las proteínas, presentando los taninos una alta afinidad por las proteínas ricas en prolina (57).

Además del efecto antinutritivo, la formación de complejos entre los taninos y las proteínas supone un gran problema tecnológico, ya que estos complejos solubles pueden dar lugar a complejos coloidales, que pueden llegar a hacerse incluso más grandes con la subsiguiente sedimentación. Este hecho se ha observado en bebidas, dando lugar a un enturbamiento, y afectando por tanto a su vida comercial. Ha sido descrito en cervezas, vinos, zumos de frutas, cafés y tés (58).

Los taninos pueden unir proteínas endógenas en el intestino, principalmente enzimas digestivas, por lo que también afectan a la absorción de otros macronutrientes, debido principalmente a la inhibición de las enzimas involucradas en el proceso digestivo (59,60) y las enzimas microbianas que intervienen en la fermentación (61).

### Efectos sobre la biodisponibilidad mineral

Los polifenoles están reconocidos como antinutrientes de distintos minerales, ya que tienen la capacidad de quelar cationes divalentes, principalmente Fe y Zn, a través de su unión a los grupos hidroxilos y carboxilos, reduciendo la biodisponibilidad de los mismos en el intestino (62,63). Los compuestos fenólicos son liberados del alimento durante la digestión y puede unirse al hierro en el lumen intestinal haciéndolo no biodisponible (64). La capacidad de quelar este catión varía de unos compuestos fenólicos a otros al estar directamente relacionada con la estructura química. Así, la reducción en la biodisponibilidad del Fe se encuentra relacionada con la presencia en la dieta de los flavonoides monoméricos (catequinas) y ésteres del ácido gálico presentes en el té (65,66), de las catequinas del cacao (67), del ácido clorogénico del café (49,68), de los ácidos fenólicos, flavonoides monoméricos y poliméricos de los (69) y de los taninos del sorgo y de la habas (15). Estudios realizados por Hurrell y col. (63) han demostrado que la presencia de polifenoles en té y en distintas infusiones de hierbas, causan una reducción en la biodisponibilidad del hierro del pan enriquecido con sulfato ferroso, cuando se administran de forma conjunta durante el desayuno, siendo esta reducción más acusada en el té que en otras infusiones como consecuencia del mayor contenido en polifenoles.

El efecto de los polifenoles sobre la absorción de Zn y Cu ha recibido poca atención, aunque la información disponible sugiere que tales compuestos pueden quelar dichos minerales, afectando por tanto a su biodisponibilidad (70). Estudios realizados por Ganji and Kies, (71) mostraron que el consumo de té provocaba un efecto pequeño pero no significativo sobre el balance de Zn en humanos. Sin embargo, estudios posteriores realizados en ratas (72) no mostraron efecto alguno del té sobre la absorción de Zn.

De forma general, los polifenoles estudiados y recogidos en la bibliografía científica (62,63,73) se pueden ordenar del siguiente modo, con relación a su mayor o menor efecto sobre la biodisponibilidad mineral: ácido gálico > ácido clorogénico = ácido cafeico > catequinas (73).

### Compuestos fenólicos y actividad antioxidante

La capacidad antioxidante descrita para distintos polifenoles se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades frecuentes en los países desarrollados como son la enfermedad cardiovascular y el cáncer epitelial (74,75).

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación. Los antioxidantes pueden clasificarse en naturales o sintéticos, estando estos últimos en desuso debido a estudios que les atribuyen efectos carcinógenos (76,77). Este hecho ha despertado un creciente interés en el estudio de los antioxidantes naturales entre los

que se encuentran distintos compuestos fenólicos.

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y captar radicales libres, aunque en ocasiones también pueden promover reacciones de oxidación "in vitro". Los compuestos fenólicos actúan como prooxidantes quelando metales, bien de manera que mantienen o incrementan su actividad catalítica o bien reduciendo metales, incrementando así su capacidad para formar radicales libres de los peróxidos (78).

Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas. La primera es que cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar, entretener o prevenir la autooxidación o la oxidación mediada por un radical libre. La segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores. Entre los compuestos fenólicos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos (principalmente hidroxicinámico, hidroxibenzóico, cafeico, clorogénico), taninos (cligataninos), calconas y cumarinas (79,80), los cuales constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos (Tabla 1).

TABLA 1  
Fuentes dietéticas de flavonoides y otros compuestos fenólicos con actividad antioxidante

Compuesto	Alimentos
Flavonoides	Vegetales, vino, frutas, té
Ácidos cinámicos y sus derivados	Café, frutas, té, sherry
Cumarinas	Aceite de oliva, avena, especias, boniato
Calconas	Frutas y vegetales coloreados, té, aceite comestibles
Taninos hidrolizables	Té, café, vino

Para comprender mejor la actividad fisiológica de estos compuestos se debe tener en cuenta que la capacidad antioxidante varía en función del grupo de compuestos estudiados y de su solubilidad en fase acuosa o lipídica. Asimismo, la gran diversidad de métodos empleados proporcionan resultados numéricos distintos difíciles de comparar. Para solventar este problema en la mayoría de los estudios científicos en los que se valora la actividad antioxidante bien de compuestos puros, bien de extractos vegetales, se utiliza el Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) como patrón, sustancia que se caracteriza por ser un análogo hidrosoluble de la vitamina E.

El ensayo para medir la actividad antioxidante total o la actividad antioxidante expresada en equivalentes Trolox (TEAC) constituye uno de los métodos que aparece referenciado con gran frecuencia en la bibliografía científica

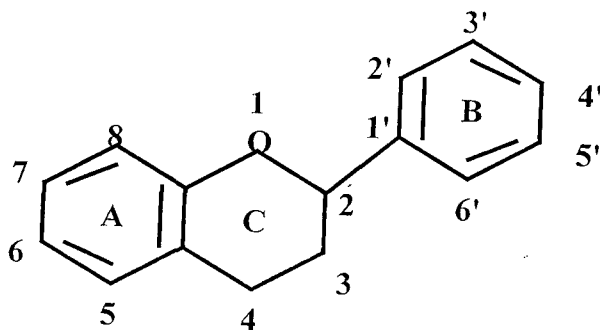
para evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos (81,82). El TEAC se define como la concentración de una solución de Trolox con un potencial antioxidante equivalente a una concentración 1mM del compuesto fenólico a estudiar. Este método mide la concentración de una solución de Trolox con un potencial antioxidante equivalente a una concentración estándar del compuesto estudiado. El TEAC refleja la habilidad de los compuestos antioxidantes, capaces de donar hidrógeno, para secuestrar el catión radical  $ABTS^{\bullet+}$ .

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos varía en función del grupo de compuestos estudiado y de su solubilidad tal y como se describe a continuación:

#### Actividad antioxidante de los flavonoides en fase acuosa

Los flavonoles poseen una gran capacidad antioxidante como resultado de su estructura química. Así el grupo *o*-difenoil en el anillo B, el doble enlace en las posiciones 2 y 3 conjugados con la función 4-oxo, y los grupos hidroxilos en las posiciones 3 y 5 (Figura 1), presentan capacidad para secuestrar radicales libres (9,83,84). Por ello la quercitina, con todas estas características en su estructura química, constituye uno de los más potentes antioxidantes naturales.

FIGURA 1



La quercitina es un flavonoide con un número idéntico de grupos hidroxilo en la misma posición que la catequina, conteniendo también un 2,3 doble enlace en el anillo C y la función 4-oxo. Esta ligera modificación en la estructura ocasiona una considerable diferencia en sus valores de TEAC, al obtenerse valores de 4.7mM en el caso de la quercitina y de 2.4 mM para la catequina. Sin embargo, los glicosidos de los flavonoles no son antioxidantes, presentando únicamente actividad antioxidante su correspondiente aglicona (83,84). Este hecho se debe a que la molécula de azúcar reduce la eficacia antioxidante de los grupos hidroxilos adyacentes debido a ser un obstáculo estérico (79). Así, se ha visto que cuando se produce el bloqueo del grupo 3-hidroxil del anillo C por la unión de un azúcar, como ocurre en la rutina (glicosido de la quercitina) el valor de TEAC del glicosido es mucho menor que el de su correspondiente aglicona (4.7mM en quercitina frente a 2.4mM para la rutina) (85).

#### Actividad antioxidante de los flavonoides frente a los radicales originados en una fase lipofílica

Numerosos estudios han sido llevados a cabo en sistemas lipofílicos para determinar los criterios estructurales de los flavonoides que determinan la estabilidad de las dispersiones de ácidos grasos, lípidos, aceites, lipoproteínas de baja densidad frente a la oxidación. El modo específico de inhibir la oxidación de cada uno de los compuestos fenólicos no está claro, pero pueden actuar de tres formas diferentes: quelando Cu a través de la estructura orto-dihidroxy fenólica, capturando radicales alcoxy y peroxi, al actuar como donantes de hidrógeno y regenerando el  $\alpha$ -tocoferol mediante la reducción del radical  $\alpha$ -tocoferoxyl.

El radical fenoxyl formado mediante la reacción de un antioxidante fenólico con un radical lipídico es estabilizado mediante de localización de electrones desapareados alrededor del anillo aromático. La sustitución *o*-dihidroxy en el anillo B es importante para estabilizar los radicales libres formados.

La comparación de un rango de flavononas y flavonas en su capacidad para incrementar el periodo de inducción de la autooxidación de las grasas ha llevado a la conclusión de que la actividad antioxidante óptima está asociada con diferentes rangos estructurales entre los que destacan la presencia en la molécula de grupos fenólicos múltiples como la configuración 3'-4'-ortodihidroxy en el anillo B o la presencia del grupo 4-carbonilo en el anillo C. Sin embargo, en contraste con las interacciones en la fase acuosa el doble enlace 2,3 es considerado menos importante (85).

#### Actividad antioxidante de los ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos (principalmente hidroxicinámico, hidroxibenzoico, caféico, clorogénico) y sus ésteres, también presentan actividad antioxidante, la cual va a depender del número de grupos hidroxil presentes en la molécula (86).

*Actividad antioxidante de los ácidos hidroxibenzoicos:* se ha observado que dentro de este grupo de compuestos los ácidos monohidroxibenzoicos orto y para no muestran actividad antioxidante como agentes donantes de hidrogeno frente a radicales originados en fases acuosas, mientras que los *m*-hidroxibenzoicos tienen una actividad antioxidante de 0.84 mM. Sin embargo, los monohidroxibenzoatos son efectivos secuestrando radicales hidroxilo, debido a su tendencia a la hidroxilación y a la alta reactividad de este radical (87). Por el contrario, los ácidos dihidroxibenzoicos muestran una respuesta antioxidante dependiente de las posiciones de los grupos hidroxilos en el anillo. Así, el ácido 2,3 dihidroxibenzoico, con grupos hidroxilo en las posiciones orto y meta, muestran valores de TEAC próximos a 1.46 mM, los cuales son ligeramente superiores (1.2.mM) a los obtenidos para el ácido 3,4-dihidroxibenzoico, con sustituciones en las posiciones meta y para (86).

#### Actividad antioxidante de los ácidos hidroxicinámicos:

Los ácidos hidroxicinámicos se encuentran ampliamente distribuidos en los tejidos vegetales, siendo los más importantes el ácido cumárico, el cafeico y el ferúlico. Se ha observado que la introducción de un grupo etilénico entre el anillo fenol, portador de un grupo hidroxilo, y el grupo carboxilado, como ocurre en el ácido p-cumárico tiene un efecto positivo sobre las propiedades reductoras del grupo OH, cuando se compara con el ácido cinámico. La actividad antioxidante del ácido cafeico es de 1.26 mM, habiéndose observado que la glicosilación de su grupo carboxilato no influye en el valor de TEAC (1.24). La investigación del potencial antioxidante de los ácidos fenólicos en sistema lipofílicos ha mostrado que todos los monofenoles, excepto el BHA, son menos efectivos que los polifenoles. La introducción de un segundo grupo hidroxilo en la posición orto, como ocurre en el ácido cafeico, o para, mejora la actividad antioxidante en los sistemas lipídicos, siendo por tanto estos compuestos fenólicos más eficientes que sus correspondientes monofenoles (ácido p-hidroxibenzoico y p-cumárico). Estudios en sistemas lipídicos han mostrado que el ácido sinápico tiene un mayor efecto protector que el ácido ferúlico, el cual a su vez es más activo que el p-cumárico. Asimismo han observado que el ácido siringico tiene más capacidad antioxidante que los ácidos vainillínico y p-hidroxibenzoico (86).

Recientemente, también se ha descrito la capacidad antioxidante de las proantocianinas o taninos condensados y los taninos hidrolizables (elligataninos) de alto peso molecular, que llega a ser incluso 15 ó 30 veces superior a la atribuida a los fenoles simples. Como estos polifenoles no son absorbidos, pueden desarrollar su actividad antioxidante en el tracto gastrointestinal y proteger a las proteínas, lípidos e hidratos de carbono del daño oxidativo durante la digestión, actuando como antioxidantes solubles (88).

#### Compuestos fenólicos y su relación con diversas patologías

Además de las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos, se les han atribuido a los mismos actividades farmacológicas y médicas relacionadas con la prevención y/o mejora del estado de salud. Entre éstas destacan sus efectos vasodilatadores, anticarcinogénicos, antiinflamatorios, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, antivirales, efectos estrogénicos e inhibidores de la fosfolipasa A2, de la ciclooxigenasa, lipooxigenasa, glutatión reductasa y xantina oxidasa (86).

Los polifenoles pueden interferir distintas etapas que conducen al desarrollo de tumores malignos al proteger al ADN del daño oxidativo, inactivando de este modo los carcinógenos, inhibiendo la expresión de los genes mutágenos y de la actividad de las enzimas encargadas de la activación de procarcinógenos, y activando los sistemas enzimáticos responsables de la detoxificación de xenobióticos (9). Numerosos estudios in vivo con animales se han desarrollado para establecer los efectos anticarcinogénicos de los polifenoles,

mediante aplicaciones típicas, o bien tras la administración de dietas enriquecidas con polifenoles y/o con alto contenido en estos compuestos, siendo necesarias altas concentraciones para poder observar este tipo de respuesta. Diferentes estudios epidemiológicos han puesto en evidencia el efecto preventivo de los polifenoles frente al cáncer de vejiga (89) así como frente a otros tipos de cánceres, como el de pulmón (90), aunque en algunos casos los resultados obtenidos pueden no ser concluyentes o ser por el contrario contradictorio. Por lo que este efecto de los polifenoles deber ser verificado y explorado con el fin de establecer una estrategia sobre la quimioprevención.

#### Fuentes de compuestos fenólicos en la dieta

La mayoría de las plantas, sino todas ellas, contienen polifenoles los cuales están presentes en cantidades diferentes dependiendo de la planta y del grupo de compuesto fenólico estudiado, diferenciándose estos contenidos de acuerdo a la parte del vegetal que se trate, bien sea fruto, hoja o parte leñosa de la planta. En general, las hojas, flores, frutas y otros tejidos de las plantas contienen glicósidos (1,91). Los tejidos leñosos contienen agliconas, las semillas pueden contener ambas formas 1, mientras que las raíces y tubérculos contienen escasas concentraciones de flavonoides, a excepción de ciertas plantas como las cebollas (37-39,91). En la Tabla 2 se muestra la concentración relativa de flavonoides y ácido cinámicos en distintos tejidos vegetales según Pratt (79) De todos los grupos mencionados en el apartado de clasificación, los principales polifenoles presentes en los alimentos vegetales son: ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos, estilbenos, cumarinas y taninos (13).

A continuación se detallan los principales compuestos fenólicos presentes en los alimentos de origen vegetal que forman parte de la dieta.

TABLA 2  
Concentración relativa de flavonoides y ácidos cinámicos en distintos tejidos vegetales

Tejido	Contenido relativo
Frutas	Acido cinámico > catequinas > leucoantocianidinas > flavonoles
Hojas	Flavonoles ≈ ácido cinámico > catequinas ≈ leucoantocianidinas
Corteza y madera	Catequina ≈ leucoantocianidinas > flavonoles > ácido cinámico

#### Presencia de compuestos fenólicos en legumbres y cereales

En legumbres y cereales los principales compuestos fenólicos son los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos. El contenido de polifenoles en cereales es <1% de la materia seca, excepto para alguna variedad de sorgo (*Sorghum bicolor*) en los que alcanzan contenidos superiores al 10% (9,91). La

harina de arroz contiene 85.6 mg/100 g de ácidos fenólicos, siendo este contenido similar al que tienen las harinas de trigo y avena respectivamente (92). Tanto en la harina de arroz como en la de trigo destaca el ácido ferúlico como el principal componente fenólico, constituyendo en la última el 89.1% del total de los ácidos fenólicos (92).

Los taninos son considerados sustancias antinutritivas presentes en las judías y en los guisantes, encontrándose en concentraciones del 2% expresados como equivalentes de catequinas o de ácido tánico (93). Las legumbres con un mayor contenido en compuestos fenólicos son las de color oscuro entre las que destacan las judías rojas y las negras. Las isoflavonas son compuestos fenólicos también presentes en las legumbres (9).

### Compuestos fenólicos presentes en vegetales

Los vegetales poseen una amplia variedad de compuestos fenólicos dependiendo de la especie (9,91).

De forma global, Hertog y col (34), encontraron entre un total de 28 vegetales analizados, que los principales flavonoides presentes en ellos eran la quercetina seguida del kaempferol. El principal aporte de quercetina lo constituye la cebolla (347 mg/kg), la col rizada (110 mg/kg), lechuga (14 mg/kg), y el tomate (8 mg/kg) siendo las principales fuentes de kaempferol la col rizada fresca, el brócoli, las judías verdes francesas y las judías verdes troceadas. Estudios similares posteriores realizados por Crozier (35) en tomate mostraron una amplia variedad de resultados dependiendo de la variedad de tomate y de la época del año, oscilando entre 2 µg para una tomate español variedad Daniella y 203 µg para la variedad Paloma enana de tomate español. Otros flavonoides fueron detectados en alimentos vegetales aunque con un menor interés. Así, la mirecítina solo fue detectada en judías verdes frescas anchas (26mg/kg) mientras que la luteolina solo se encontró en el pimiento rojo, presentando el apio contenidos de 108 mg de apigenina por 100 kg de muestra (34).

En general, los vegetales de la familia Solanaceae aportan gran parte tanto del ácido clorogénico de la dieta como de otros ácidos hidroxicinámicos (41). Así, los tomates y los pimientos maduros son ricos en ácidos clorogénico y ferúlico, siendo la patata es uno los vegetales con un mayor contenido en ácido clorogénico (17.36 mg/100g de peso fresco) el cual constituye el 88,9% del total de los polifenoles presentes en ella. El contenido en ácido clorogénico se encuentra afectado por el tratamiento térmico, observándose que las mayores concentraciones se presentan en la patata cruda (0,800 mg/100 g de peso seco), decreciendo en la cocinada en microondas (0,434mg /100 g de peso seco) y en la hervida (0,319 mg/100 g de peso seco) (29).

### Compuestos fenólicos presentes en frutas

Las frutas destacan en la dieta por su alto contenido en flavonoles, conteniendo también cantidades considerables de otros compuestos fenólicos dependiendo del tipo de fruta

analizada. El principal flavonoide presente en las frutas es la quercetina, encontrándose altos contenidos en manzanas (36 mg/kg). De los cuatro flavonoides determinados por Hertog y col. 34 sólo las fresas presentaron kaempferol (12mg/kg) mostrando las uvas blancas y negras mostraron un bajo contenido en mirecítina (4.5 mg/kg).

El contenido de ácidos hidroxibenzoicos es bajo en general, con la excepción de las moras, las frambuesas (95), la grosella morada, y la grosella roja y (96), siendo mayor en general el contenido en ácidos hidroxicinámicos. El ácido caféico es el ácido hidroxicinámico predominante en muchas frutas, constituyendo el 75% del total de estos ácidos y encontrándose en ciruelas, manzanas, albaricoques y arándanos. Sin embargo, el ácido p-cumárico es el componente mayoritario, dentro del grupo de los ácidos hidroxicinámicos, de los cítricos y de la piña (55). La presencia de ácido clorogénico en frutas también ha sido ampliamente estudiada (97-100). Se han encontrado altas concentraciones de este compuesto en manzanas, y en los arándanos (98). Los contenidos de este ácido en manzanas oscilan entre 25,08-61,47 mg/L en el puré, y 38,85-81,28 mg/L en el concentrado. Estos contenidos fueron superiores en el puré y en el concentrado de melocotón con valores comprendidos entre 26,43-50,60 y 145,5-220,2 mg/L respectivamente (101).

### Compuestos fenólicos presentes en zumos de frutas y bebidas

El contenido de polifenoles en los zumos de frutas oscila generalmente entre 2 y 500 mg/L, dependiendo del tipo analizado, aunque zumos de ciertas variedades de naranja poseen concentraciones mucho mayores (hasta 700 mg/mL), debido a su alto contenido en hesperidina (9). Las mayores concentraciones se han encontrado en la pulpa de la naranja donde se detectan valores del orden de 31 mg/100 g de peso fresco (39). El contenido de hesperidina encontrado en la pulpa de pomelo es menor (1.5 mg/100g de peso fresco), encontrándose en ella también pequeñas concentraciones de quercetina y kaempferol (0,5 y 0,4 mg/100 g de peso fresco respectivamente) (39).

El vino es una fuente muy estudiada de compuestos fenólicos, sobre todo de ácidos fenólicos, antocianinas, taninos y flavonoides 9. Dentro de estos grupos, los compuestos fenólicos de más interés son los ácidos benzóicos e hidroxicinámicos, los grupos flavan-3-ols y flavan-3-diols, las antocianinas, las antocianidinas, los flavonoles, las flavonas y los taninos condensados (1). Así, Hertog y col (14) mostraron que el contenido en quercetina en vino tinto osciló entre 4 y 16 mg/L, mientras que el zumo de uva contenía entre 7 y 9 mg/L. Existen diferencias entre el contenido de compuestos fenólicos en vino blanco y en vino tinto, siendo menor en el primer caso. Así, el contenido medio de compuestos fenólicos en un vino blanco típico es del orden de 250 mg/L, aunque se pueden encontrar algunos tipos con un contenido de 2000 mg/L. Por el contrario, el contenido de compuestos fenólicos

totales en un vino tinto típico oscila entre 1000 y 4000 mg/L 102.

El té es una de las bebidas con un mayor contenido en compuestos fenólicos de interés nutricional, destacando por su alta concentración en catequinas, las cuales constituyen más del 30% del peso seco de la hoja, flavonoles (quercitina, kaempferol y sus glicósidos), flavonas y ácidos fenólicos (ácido gálico y ácido clorogénico) (1). La fermentación del té conlleva importantes variaciones en su composición fenólica: el té verde es muy rico en flavanoles, mientras que el té negro contiene elevadas concentraciones de polifenoles oxidados (teoflavinas y teorubigins) (9). Las infusiones de té poseen concentraciones elevadas de quercitina oscilan entre 10 y 25 mg/L 14.

### Ingesta de compuestos fenolíticos

Actualmente, existe poca información disponible sobre el consumo de compuestos fenólicos procedentes de la dieta. Los principales estudios de este tipo se han realizado sobre la ingesta de flavonoides, aunque se están realizando estudios acerca de la ingesta de ácidos fenólicos, de interés nutricional, especialmente ácidos hidroxicinámicos la ingesta. La contribución relativa de los diferentes alimentos vegetales a la ingesta total de estos compuestos dependerá del grado de consumo de otros recursos dietéticos ricos en dichos compuestos tales como el té, el vino (35), el café y los cereales (103).

La ingesta total de flavonoides en U.S.A. se estimó en 1 gramo aproximadamente, del cual alrededor de 100 mg (expresados como agliconas) eran flavonoles y flavonas. Sin embargo, estas estimaciones estaban basadas posiblemente en tablas de composición de alimentos incompletas e inadecuadas. El té es considerado una de las principales fuentes de flavonoides en los adultos en el Reino Unido, pero su ingesta en gente joven está siendo desplazada por las bebidas carbonatadas y el café las cuales son pobres en dichos (35). Hertog y col (104) estimaron que la ingesta media de flavonoles y flavonas combinada es aproximadamente 23 mg/día, usando los datos obtenidos por ellos mismos en combinación con datos de consumo en Holanda proporcionados por el National Food Consumption Survey 1987-1988. Así, las principales fuentes de flavonoides y flavonas en Holanda fueron el té negro (48% de la ingesta total), cebolla (29%) y manzanas (7%). También se determinaron las ingestas de flavonoles y flavonas en otros siete países mediante análisis equivalentes de composición de alimentos representantes de su dieta media hacia 1960 (105). El consumo de flavonoides fue el más alto en Japón (64 mg/día) y el menor en Finlandia (6 mg/día). Los vinos tintos son la principal fuente de flavonoides en Italia y Francia, donde el consumo de té es muy bajo. Las principales fuentes de quercitina fueron el té en Japón, vino tinto en Italia y las cebollas en U.S.A., la antigua Yugoslavia y Grecia.

Respecto al consumo de ácidos hidroxicinámicos, se ha observado que la ingesta de ácido clorogénico puede ser

superior a 200 mg en los consumidores de cantidades elevadas de café. Además, la ingesta de cantidades elevadas de cereales, proporciona un aporte considerable de ácido ferúlico (>100 mg/día) (103). Estos datos sugieren que la ingesta diaria de ácidos hidroxicinámicos puede superar sustancialmente la ingesta de flavonoides. Es por tanto necesario que las tablas de composición de los alimentos incluyan datos sobre el contenido en compuestos fenólicos de interés nutricional de los alimentos con el objetivo de poder cuantificar la ingesta real de los mismos.

### Absorción y metabolismo de los compuestos fenolicos

Poco se sabe sobre la biodisponibilidad, absorción y metabolismo de los compuestos fenólicos en los humanos, pero es sabido que los diferentes grupos de flavonoides poseen distintas propiedades farmacocinéticas. Es evidente que algunos compuestos fenólicos, tanto los polifenoles extraíbles o los solubles son metabolizados en el tracto gastrointestinal. Las agliconas y los compuestos fenólicos simples libres, los flavonoides (quercitina y genisteina) y los ácidos fenólicos pueden ser directamente absorbidos a través de la mucosa del intestino delgado (106, 107). Los compuestos fenólicos libres (ácidos cinámicos y sus derivados, ácido p-cumárico, ferúlico, cafeico, etc.) han sido absorbidos en tracto intestinal tanto en ensayos in vivo con ratas como en experimentos in vitro realizados con jejunio aislado de (108). La mediación de las enzimas bacterianas en la biodisponibilidad de los glicósidos fenólicos ha sido probada por Griffiths y Barrow (109), quienes mostraron que los glicósidos de los flavonoides fueron excretados en las heces de ratas libres de gérmenes. La fermentación bacteriana de carbohidratos también podría liberar compuestos fenólicos unidos a la fibra, los cuales podrían ser metabolizados al igual que los polifenoles extraíbles. En el colon, las agliconas son absorbidas a través del epitelio intestinal y metiladas y/o conjugadas con ácido glucurónico o sulfato en el hígado. El principal órgano involucrado en el metabolismo de los polifenoles es el hígado, aunque también se encuentran implicados los riñones y la mucosa intestinal, ya que contienen enzimas que intervienen en el metabolismo de los polifenoles (109).

Los derivados conjugados y los derivados 3'-Ometilados han sido detectados en el plasma de ratas a las que se les han administrado flavonoles (catequinas) (110), flavonoles (quercitina, rutina e isorhamnitina) e isoflavonas (genisteina) (111). Estos metabolitos han sido detectados en la orina y en la bilis. En este último caso, pueden introducirse en el ciclo enterohepático, ser deconjugados por la acción de la flora del colon y ser reabsorbidos.

Los compuestos fenólicos que han sido más estudiados son los flavonoides. Sin embargo, el grado de absorción de los flavonoides presentes en la dieta es un problema importante y que está sin resolver, a pesar de sus potenciales efectos beneficiosos para la salud. De hecho, se ha afirmado con frecuencia que los flavonoides presentes en los alimentos no

pueden ser absorbidos en el intestino ya que se encuentran en forma de glicósidos unidos a proteínas. Solamente los flavonoides libres de azúcar, es decir la aglicona, son capaces de atravesar la pared intestinal, pero no se sintetizan ni están presentes en el intestino enzimas que puedan hidrolizar o romper las uniones  $\beta$ -glicosídicas (105). La naturaleza hidrofílica de los glicósidos y su relativo elevado peso molecular excluye la absorción en el intestino delgado. Además, los flavonoides  $\beta$ -glicósidos resisten la acción de las hidrolasas intestinales, por lo que los glicósidos pueden pasar inalterados al intestino grueso (112). La hidrólisis ocurre en el colon por microorganismos, los cuales al mismo tiempo degradan los flavonoides (105). La flora presente en el intestino produce glicosidasas capaces de liberar la aglicona de su azúcar. Además, dicha flora puede romper el anillo pirona (anillo C) originando ácido fenil acético y fenil propiónico y otros derivados. Existe por tanto una acumulación de agliconas en el intestino las cuales podrán ser potencialmente absorbidas por la pared intestinal. Sin embargo, estudios recientes sugieren que la absorción de los flavonoides no se produce vía la aglicona. Hollman y col., (84) realizaron un estudio sobre la absorción de flavonoles en voluntarios sanos a los que se les había realizado una ileostomía. Fruto de esta investigación se vio que los glicósidos de la quercitina eran absorbidos directamente a través de la pared del intestino delgado y a un ratio de absorción más rápido que la correspondiente aglicona, y además especularon sobre la posibilidad de que la absorción de los glicósidos podría ocurrir a través del transportador glucosa/Na<sup>+</sup>. Estudios anteriores realizados por Mizuma y col., (114) mostraron que la absorción de naphthol glicósidos en el intestino delgado de ratas dependía de la naturaleza del azúcar conjugado y de la presencia de Na<sup>+</sup> consecuente con su relación con el sistema transportador glucosa/Na<sup>+</sup>. La absorción de estos glicósidos es inhibida por el phloridzin, un inhibidor del transporte de la glucosa y por si mismo, un glicósido estructuralmente relacionado con los flavonoles. Si de hecho se establece que la absorción de los glicósidos de los flavonoles ocurre en el intestino delgado a través de un mecanismo específico de absorción, mostrando selectividad entre los diferentes glicósidos de los flavonoles, serán necesarios estudios detallados de la naturaleza química de los glicósidos y de sus niveles en los alimentos vegetales en la forma química en la cual se ingieren normalmente dichos alimentos (37).

Poco se conoce sobre el destino de la mayoría de los compuestos fenólicos tras su ingestión. El metabolismo de los flavonoles y flavonas de la dieta permanece todavía sin concretar y existen pocos datos sobre su farmacocinética, probablemente debido a la carencia de métodos selectivos para la determinación de estos compuestos en fluidos corporales (115). Se ha demostrado que las catequinas son absorbidas en el intestino humano tras la administración de 3-O-metilcatequina marcada radiactivamente, encontrándose posteriormente sus metabolitos en orina (glucuronidos de la 3-

3-O-dimetilcatequina y un glucuronido y un sulfato de la 3-O-metilcatequina) (87). Rutina y quercitina son pobremente absorbidos mientras que el ácido caféico parece que se absorbe bien, aunque en estudios realizados en humanos solo se han identificado en la orina entre 1 y 5 metabolitos. Sin embargo, estos estudios fueron desarrollados con sustancias puras cristalinas, mientras que en los alimentos las sustancias se encuentran generalmente en forma de glicósidos o de ésteres, o en solución en el componente lipídico terpeno de los alimentos (121). Se han hecho algunos estudios sobre quercitina. Así, se sabe que la ingestión de una cantidad conocida de este compuesto reveló que menos del 1% es absorbido en el intestino. Más del 50% de la dosis dada fue degradada por los microbios en el colon, mientras que el resto se perdió en las heces. Muestras de orina tomadas a las 24 horas de la ingestión en voluntarios a los que se les administró 4 gramos de quercitina, no mostraron ni dicho compuesto ni ninguno de sus conjugados. La presencia de quercitina, procedente de la dieta, no absorbida en el colon o alternativamente, la liberación de quercitina de su glicósido rutina cuando es atacada por la microflora del colon podría actuar como agente que podría proteger, prevenir o inhibir la carcinogénesis en este lugar. Además, estudios experimentales en los que se induce un cáncer mamario en ratas a las que se les alimenta con quercitina revelan una disminución en la incidencia de los tumores, aunque la cantidad repartida a la glándula mamaria por esta vía todavía es cuestionable (116). Finalmente, se sabe que la quercitina de la dieta se absorbe en humanos y se elimina lentamente a lo largo del día, pudiendo de esta manera contribuir a las defensas antioxidantes presente en el plasma (114).

## CONCLUSION

La gran diversidad de compuestos fenólicos de origen vegetal hace muy complejo el estudio detallado de cada uno de ellos así como el estudio de la relación entre los polifenoles y los efectos fisiológicos beneficiosos de cada uno de ellos. Sin embargo, y a pesar de esta complejidad el interés por este grupo de compuestos es cada vez mayor, ya que pueden tener importantes aplicaciones en la prevención y en el tratamiento de enfermedades tales como la enfermedad cardiovascular, el cáncer, la úlcera duodenal y gástrica, procesos patológicos de carácter inflamatorio, fragilidad vascular, infecciones etc. Para valorar la importancia nutricional de este amplio grupo de compuestos es necesario conocer no solo la concentración de ellos en los alimentos, sino también su biodisponibilidad y mecanismo de acción, así como su posible sinergismo o antagonismo con otros componentes de la dieta o del organismo humano. El estudio de todos estos aspectos constituye actualmente un amplio campo de investigación por desarrollar.

## AGRADECIMIENTOS

Al Ministerio de Educación y Ciencia español por propor-

cionarme la beca de la que disfruto y la cual me proporciona la financiación necesaria para desarrollar mi trabajo de investigación y a la empresa Alimentos del Valle S.A. por la financiación de dicho trabajo.

### REFERENCIAS

1. Shahidi F y Nacz M. Foods phenolics. Sources, Chemistry, Effects, Application. Tecnnomic, Publishing CO., INC eds. Lancaster, Pennsylvania, USA, 1995.
2. Andary C y Mondolot-Cosson L. Histolocalization of plant polyphenols in tissues and cell walls. Some applications. En: Polyphenols in foods. Proceedings of a European COST concerted action scientific workshop, 1997 Aberdeen, Scotland. 1997;41-44.
3. Butler LG. Protein polyphenol interactions: nutritional aspects. En: Proceedings of the 16th International Conference of Grape Polyphenol, 1992; Volume 16, Part II, Pp. 11-18.
4. Clifford MN. Sensory and dietary properties of phenols. En: Proceedings of the 16th International Conference of Grape Polyphenol, Volume 16, Part II, 1992: 18-23.
5. Belitz y Grosch. Química de los alimentos. Ed. Acribia España: Zaragoza., 1988.
6. McEvily AJ, Iyenger R y Gross AT. Inhibition of polyphenols oxidase by phenolics compounds. En: Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I: Analysis, Occurrence and Chemistry, Ho, C.T., Lee, C.T. y Huang, M.T. Eds., ACS Symposium Series 506. American Chemical Society, Washington, DC, 1992: 318-321.
7. Berra B, Caruso D, Cortesi N, Fedeli E, Rasetti MF, Galli G. Antioxidant properties of minor polar components of olive oil on the oxidative processes of cholesterol in human LDL. Riv. It. Sost. Grasse 1995;72: 285- 291.
8. Tsimidou, M.. Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. Ital J Food Sci 1998;2,(10): 99-116.
9. Bravo L. Poliphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutr Rev, 1998; 56 (11): 317-333.
10. Harborne JB. General procedures and measurements of total phenolics. In: Harborne J.B. Ed. Plant Phenolics, vol 1, from "Methods in Plant Biochemistry Series": Academic Press, London. 1989:1-28
11. The Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Windholz, M. Ed . U.S.A:
12. Chesson A, Russell WR y Provan GJ. Metabolites of the phenylpropanoid pathway - common origin - common properties? In: Polyphenols in foods. Proceedings of a European COST concerted action scientific workshop 1997, Aberdeen, Scotland 1997: 17-23.
13. Harborne JB. The flavonoids: Advances in Research Since 1986. Chapman y Hall Ed., London, 1993.
14. Hertog MGL, Hollman PCH, Van de Putte B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. J Agric Food Chem. 1993;41:1242-1246.
15. Chung K-T, Wong T-Y, Wei C-I, Huang Y-W y Lin Y. Tannins and Human Health: A review. Crit. Rev. Food Sci. 1998; 38 (6): 421-464.
16. Swain T y Hills WE. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I. The quantitative analysis of Phenolics Constituents. J Sci Food Agric. 1959;10: 63-68.
17. Price ML y Buttler LG. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of shorgum grain. J Agric Food Chem. 1977;26:1214-1219.
18. Earp CF, Akingbala JO, Ring SH y Rooney LW. Evaluation of several of methods to determine tannins in shorgum with varying kernel characteristics. Cereal Chem. 1981;58: 234-239.
19. Tzagoloff A. . Metabolism of sinapine in mustard plants I. Degradation of sinapine into sinapic acid and choline. Plant physiol. 1963; 38: 202-210.
20. Nacz M, Wanasundara PKJ P.D. and Shahidi F. A facil espectrophotometric quantification method of sinapic acid in hexae-extracted and methanol ammonia water treated mustard and rapeseed meals. J Agric Food Chem. 1992;44: 444-452.
21. Price ML, Van Scoyoc S y Buttler LG. A critical evaluation of the vainillin reaction as an assay for tannin in shorgum. J Agric Food Chem 1978;26:1214-1220.
22. Nacz M y Shahidi F. Critical evaluation of quantification methods of rapeseed tannins. In: Rapeseed in a Changing world. Proceedings of the 8th International Rapeseed Congress. Volume 5, Mc Gregor, D.I., De., Saskatoon, Canada 1991;135-138.
23. Brune M, Hallberg L, and Skanberg AB. Determination of iron-binding phenolics groups in foods. J Food Sci 1991;56: 128.
24. Goldstein JL y Swain T. Changes in tanin in ripening fruits. Phytochem. 1963; 2: 371-
25. Gupta RK y Haslam E. Vegetable tannins: Structure and Byosynthesis. In: Hulse, J.H. ed. Polyphenols in Cereals and legumes. International development research center Ottawa, Canada, 1980: pp 15-31.
26. Hoff JF y Singleton KI. A method for determination of tannin in foods by means of immobilized enzymes. J Food Sci. 1977;42: 1566.
27. Singleton VL, Salgues M, Zaya J y Trousdale E. Caftaric acid disappearance and conversion to product on enzymic oxidation in grape mass and wine. American J. Enol. Viti. 1985; 36: 50-57.
28. Owades JL, Rubin G y Brenner MW. Determination of foods tanins by ultraviolet spectrophotometry. J Agric Food Chem. 1958; 6: 44-48.
29. Dao L y Friedman M. Chlorogenic acid contents of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. J Agric Food Chem 1992; 40: 2152-2156.
30. Jackman LR, Yada RY y Tung MA. A review: Separation and chemical properties of antocyaninns using for their qualitative and quantitative analysis. Food Biochem 1987; 11: 279-.292.
31. Karchesy JJ, Bae Y, Chalker-Scott L, Helm RF' y Foo LY. Chromatography of proantocyanidins. In: Hemingay, R.W. y Karchsy, J.J. Eds. Chemistry and significance of condensed tanins. Plenum Press New, York, 1989: 139161.
32. Oh HI, Hoff JE y Haff LA. Immobilized condensed tannins and their interactions with proteins. J Food Sci 1985; 50: 1652.
33. Bartolomé B, Bengoechea ML, Gálvez MC, Pérez-Illarbe FJ, Hernández T, Estrella I y Gómez-Cordovés C. Photo-diode array detection for elucidation of the structure of phenolic compounds. J Chromatogr. A 1993;655: 119-125.
34. Hertog MGL, Hollman PCH y Katan MB. Content of potentially anticarcinogenic flavonols of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. J Agric Food Chem 1992; 40: 2379-2383.

35. Crozier A, Lean MEJ, Morag SM, and Black C. Quantitative analysis of the flavonoid content of Commercial Tomatoes Onions, Lettuce and Celery. *J Agric Food Chem* 1997; 47: 590-595.
36. Ferreres F, Gil MI, Castañer M y Tomás-Barberán FA. Phenolic metabolites in red pigmented lettuce (*Lactuca sativa*). Changes with minimal processing and cold storage. *J Agric Food Chem*. 1997; 45: 4249-4254.
37. Price KR and Rhodes MJC. Analysis of the Major Flavonol Glycosides Present in Four Varieties of Onion (*Allium cepa*) and Changes in Composition resulting from Autolysis. *J Sci Food Agric*. 1997; 74: 331-339.
38. Price AR, Bacon JR y Rhodes MJC. Effect of storage and domestic processing on the content and composition of flavonols glucosydes in onions (*Allium cepa*). *J Agric Food Chem*. 1997; 45: 938-942.
39. Justesen U, Knuthsen P, and Leth T. Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavonones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *J Chromatogr A*. 1998; 799: 101-110.
40. Bengoechea ML, Hernández T, Quesada C, Bartolomé B, Estrella I, y Gómez-Cordovés, C. Structure of hydroxycinnamic acid derivates, established by high performed liquid chromatography awith photo diode array detection. *Chromatographia* 1995; 41 (1-2): 94-98.
41. Bartolomé B, Hernández T, Bengoechea ML, Quesada C, Gómez-Cordovés C y Estrella C. Determination of some structure features of procyanidins and related compounds by photo diode array detection. *J Chromatogr A* 1996; 723: 19-26.
42. Yinrong L y Foo LY. Identification and cuantification of major polyphenols in apple pomace. *Food Chem*. 1997; 59 (2): 187-194.
43. Häkkinen SH, Kärenlampy SO, Heinonen IM, Mykkänen HM y Törrönen AR. HPLC method for screening of flavonoids and phenolic acids y berries. *J Sci Food Agric*. 1998; 77: 543-541.
44. Spanos GA, Wrolstad RE y Heatherbell D.A. Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juices. *J Agric Food Chem*. 1990; 38: 1572-1579.
45. Lee HS, Carter RD, Barros SM, Dezman DJ y Castle WS. Chemical characterization by liquid chromatography of Moro blood orange juices. *J Food Compos Analysis* 1990; 3: 9-14.
46. Spanos GA y Wrolstad RE. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage-A review. *J Agric Food Chem* 1992; 40: 1478-1487.
47. Litridou M, Linsay J, Schols H, Bergmans M, Posthumus M, Tsimidou M y Boskou D. Phenolic compounds in virgen olive oils: fractionation by solid phase extraction and antioxidant activity assessment. *J Sci Food Agric*. 1997;74: 169-174.
48. Haslam E. Plant polyphenols. Cambridge University Press. Cambridge, 1989.
49. Clifford MN y Ramírez-Martínez JL. Phenols and caffeine in wet-processing coffe beans and coffe pulp. *Food Chem*. 1991; 40: 35.
50. Singleton VL. Tannins and the qualities of wines. In: Hemingway, R.W. and Laks, P.E. eds. *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance*. Plenum Press, New York. 1992:859 880.
51. Mazza G y Miniati C. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. CRC Press, Boca Ratón, FL. 1994.
52. Swain T. Economic importance of flavonoid compounds: Foodstuffs. In Geissman, T.A. Ed., *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. Pergamon Press, Oxford, 1962: 513-535.
53. Marwan AJ y Nagel CW. Separation and purification of hydroxycinnamic acid derivates in cranberries. *J Food Sci* 1982; 47: 585.
54. Haslam E y Lilley TH. Natural astringency in foodstuffs. *Molecular Interpretation CRC Crit Rev Food Sci Nutr*. 1988; 27: 1-25.
55. Macheix JJ, Fleuriet A y Billot J. *Fruit phenolics*. CRC Press, Boca Raton FL, USA. 1990.
56. White T. Tannins, their occurrence and significance. *J Sci Food Agric*. 1987; 8: 377- 392.
57. Hagerman AE, y Butler LG. Determination of protein in tannin-protein precipitates. *J Agric Food Chem*. 1980; 28: 944-959.
58. Siebert KJ, Troukhanova NV y Lynn PY. Nature of polyphenol. Protein interactions. *J Agric Food Chem*. 1996; 44: 80-85.
59. Yaper Z y Clandinin DR. Effect of tanins in rape seed meal on its nutritional value for chicks. *Poult Sci*. 1972; 52: 222-228.
60. Davis AB y Hosney RC. Grain sorghum condensed tannins. I. Isolation, estimation, and selective adsorption by starch. *Cereal Chem*. 1979; 56: 310-317.
61. Watson TG. Inhibition of microbial fermentation by sorghum grain and malt. *J Applied Bacteriology* 1975.
62. Coudray C, Bousset C, Pépin D, Tressol JC, Belanger J y Rayssiguier Y. Effect of acute ingestion of polyphenol compounds on zinc and copper absorption in the rat. Utilisation of stable isotopes and ICP/MS technique. In: *Polyphenols in foods. Proceedings of a European COST concerted action scientific workshop 1997. Aberdeen, Scotland. 1997: 173-178.*
63. Hurrell RF, Reddy M y Cook JD. Influence of polyphenol-containing beverage on iron absorption. En: *Polyphenols in foods. Proceedings of a European COST concerted action scientific workshop. 1997. Aberdeen, Scotland. 1997: 169-172.*
64. Hurrell RF, Reddy M y Cook JD. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British J Nutrition* 1999; 81, 289-295.
65. Disler PB, Lynch SR, Charlton RW, Torrance JD, Bothwell TH, Walker RB y Mayet F. The effect of tea on iron absorption. *Gut* 1975; 16: 193-200.
66. Hallberg L y Rossander L. Effect of different drinks on the absorption of non-heme iron from composite meals. *Human Nutrition and Applied Nutrition* 1982; 36: 116-123.
67. Shahidi F y Wanasundara PKJPD. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 32: 67-103.
68. Morck TA, Lynch SR y Cook JD. Inhibition of food iron absorption by coffee. *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 416-420.
69. Lunte JM, Blankenship KD y Scott AR. Detection and identification of procyanidins and flavonoids in wine by dual-electrode liquid chromatography. *Analyst*. 1988; 113: 99-103.
70. Coudray C, Bousset C, Tressol JC, Pépin D, y Rayssiguier Y. Short-term ingestion of chlorogenic or caffeic acids decreases zinc but not copper absorption in rats, utilization of stable isotopes and inductively-coupled plasma mass spectrometry technique. *British J Nutrition*, 1998;80: 574-584.

71. Ganjji V y Kies CV. Zinc bioavailability and tea consumption: study in healthy humans consuming self-selected and laboratory controlled diets. *Plant foods for human Nutrition*, 1994; 46:267-276.
72. Record IR, McNerney JK y Dreosti IE. Black tea, green tea, and tea polyphenols: effects on trace elements status in weaning rats. *Biological trace elements research*, 1996; 5: 27-43.
73. Brune M, Rossander L y hallberg L. Iron absorption and phenolic compounds: Importance of different phenolic structures. *Europ J Clin Nutr* 1989; 43: 547-558.
74. Wang H, Cao G y Prior RL. Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 701-705.
75. Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F y col. Flavonoid intake and long term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries. *Study Arch Intern Med*. 1995; 155: 381-386.
76. Ito N, Fukushima S, Hasegawa A y Ogiso T. Carcinogeny of butylated hydroxy anisole in F344 rats. *J Natl Cancer Inst*. 1983; 70: 343-347.
77. Velioglu YS, Mazza G, Gao L y Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J Agric Food Chem*. 1998; 46 (10): 4113-4117.
78. Decker EA. Phenolics: Prooxidants or antioxidants?. *Nutritional Reviews*, 1997; 55(1), 396-398.
79. Pratt DE. Natural antioxidant from plant material. In: Huang, M.T., Ho, C.T. and Li, C.Y. Eds., ACS Symposium Series 507. Phenolic compounds in food and their effects on health II. Antioxidants and cancer prevention. American Chemical Society, Washington, DC. 1992, 54-68..
80. Pratt DE y Hudson B.J.F. Natural antioxidant no exploited commercially. In: Hudson, B.J.F. de. Elsevier Applied Sciences. *Food Antioxidants*. London, 1990; 171-180.
81. Miller NJ y Rice-Evans CA. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS+ radical cation assay. *Free Radical Research*, 1997; 26: 195-199.
82. Wang H, Cao G y Prior R. Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem*, 1996; 44: 701-705.
83. Vinson JA, Dabbagh YA, Serry MM and Jang J. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro model for heart disease. *J Agric Food Chem* 1995; 43: 2800-2802.
84. Hollman PCH y Katan MB. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed and Pharmacother* 1997; 51: 305-310.
85. Rice-Evans CA, Miller J, y Paganga G. Structure-Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 1996; 20 (7): 933-956.
86. Guohua C, Sofic E y Ronald LP. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids. Structure activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*. 1997; 22 (5): 749-760.
87. Grootveld M, y Halliwell B. Aromatic hydroxylation as a potential measure of hydroxyl radical formation in vivo. *Biochem Journal*. 1986; 238: 499-504.
88. Satué-Gracia MT, Heironen M y Frankel EN. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. *J Agric Food Chem*, 1997; 45: 3362-3367.
89. Stavric B. Mutagenic food flavonoids. *Federation Proceedings* 1984; 43: 2454-2458.
90. Malaveille C, Hautefeuille A, Pignatelli B, Talaska G, Vineis P y Bartsch H. Dietary phenolics as anti-mutagens and inhibitors of tobacco-related DNA adduction in the urothelium of smokers. *Carcinogenesis* 1996; 17(10): 2193-2200.
91. Knekt P, Järvinen R, Seppänen R, Heliövaara M, Teppo L, Pukkala E y Aromaa A. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am J Epidemiol*. 1997; 146(3): 223-230.
92. Hermann H. On the occurrence of flavonols and flavone glycoside in vegetables. *Z. Lebensm. Unters Forsch* 1988; 186: 1-5.
93. Nelson IR y Cummings DG. Effect of tannin content and temperature on storage of propionic acid treated grain sorghum. *Agron J*. 1975; 67: 71-76.
94. Clifford MN. Review: Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence, and dietary burden. *J Sci Food Agric*. 1999; 79: 362-372.
95. Bressani R, Elias LG. The nutritional role of polyphenols in beans. In: Hulse, J.H. Ed. *Polyphenols in cereals and legumes.. The Intern. Develop Res. Centre, Ottawa*, 1980: 43-59
96. Mosel HD y Herrman K. The phenolics of fruits. III. The contents of catechins and hydroxycinnamic acids in pome and stone fruits. *Z. Lebensm. Unters Forsch*. 1974; 154: 6-12.
97. Stohr A y Herrmann K. The phenolics of fruits V. The phenols of strawberries and their changes during development and ripeness of fruits. *Z. Lebensm. Unters. Forsch*. 1975; 158: 341-348.
98. Hermann K. The phenolics of fruits. I. Our Knowledge of occurrence and concentrations of fruit phenolics and of their variations in the growing fruit. *Z. Lebensm. Unters. Forsch*. 1973; 151: 41-50.
99. Hermann K. Flavonols and flavones in food plants: A review. *J Food Technol*. 1976; 11: 433-449.
100. Schuster, B. y Herrmann, K.. Hydroxibenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits. *Phytochem*. 1985, 24: 2761.
101. Moller B, y Hermann K. Quinic acid esters of hydroxycinnamic acids in stone and pome fruit. *Phytochem*. 1983; 22: 477.
102. Bengochea ML, Sancho AI, Bartolomé B, Estrella I, Gómez-Cordovés, Hernández, T. Phenolic composition of industrially manufactured purées and concentrates from peach and Apple fruits. *J Agric Food Chem*. 1997; 45: 4071-4075.
103. Kroom PA y Williamson G. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *J Sci Food Agric*, 1999; 79: 355-361.
104. Salunke DK, Chaven JK y Kadam SS. Dietary tannins: Consequences and remedies. CRC Press, Boca Raton, FL. 1990.
105. Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn MD, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S y col.. Flavonoid intake and long-term risk of Coronary Heart Disease and Cancer in the Seven countries Study. *Arch Intern Med*. 1996; 155: 381-386.
106. Hertog MGL y Hollman PCH. Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *Europ. J Clin Nutr*. 1996; 50: 63-71.
107. Jiménez-Ramsey LM, Rogler JC, Housley TL y col. Absorption and distribution of <sup>14</sup>C-labelled condensed tannins and related sorghum phenolics in chickens. *J Agric Food Chem*. 1994; 42: 963-967.
108. Buchanan CJ, Wallace G, Fry SC, Eastwood MA. In vivo release of <sup>14</sup>C labelled phenolics groups from intact dietary spinach cell walls during passage through the rat intestine. *J Sci Food Agric*. 1996; 71; 459-469.

109. Griffiths LA y Barrow A. Metabolism of flavonoid compounds in germ-free rats. *Biochem J.* 1972; 130: 1161-1162.
110. Hackett AM. The metabolism of flavonoid compounds in mammals. In: Cody. V, Middleton. E. and Harborne, J.B. eds. *Plant flavonoids in biology and Medicine: biochemical, pharmacological, structure-activity relationships.* New York, 1986.
111. Manach C, Morand C, Demigne C y col. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. *FEBS Lett* 1997; 409: 12-16.
112. Sfakianos J, Coward L, Kirk M, Barnes S. Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavone genistein in rats. *J Nutr.* 1997; 127: 1260-1268.
113. Formica JV y Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Fd Chem Toxic.* 1995; 33 (12): 1061-1080.
114. Mizuma T, Ohta K, Awazu S. The  $\beta$ -anomeric and glucose preferences of glucose transport carrier for intestinal active absorption of monosaccharide conjugates. *Biochem Biophys. Acta* 1994; 1200: 117-122.

Recibido: 03-07-1999

Aceptado: 02-03-2000

## Entrenamiento de paneles sensoriales constituidos por niños

*Enma Wittig de Penna, Andrea Bunger Timermann, Lissis Serrano Valdés*

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

**RESUMEN.** En el desarrollo de alimentos para niños es recomendable definir las características del producto con grupos de niños representativos de la población a la cual están destinados los alimentos. Para asegurar el éxito de los alimentos infantiles, se deben considerar tanto las expectativas de calidad como aquellas relacionadas con la satisfacción hedónica al ingerir el alimento. Con el fin de cumplir estas premisas, se seleccionó y entrenó un grupo de niños escolares, beneficiarios del Programa de Alimentación Complementaria del Ministerio de Salud. Se trabajó con un grupo de 33 niños de edades entre 9 y 12 años de la Escuela Básica República de Colombia de la ciudad de Santiago, cuyos padres aceptaron y apoyaron la participación de sus hijos en este proyecto. La primera etapa estuvo destinada a familiarizarlos con las técnicas y metodología de Evaluación Sensorial y medir su sensibilidad. Cumplido el programa de 8 sesiones se seleccionaron los que cumplían con los requisitos mínimos para constituir un grupo en entrenamiento. Esta segunda etapa fue realizada en 12 sesiones, con 14 niños, cuyo entrenamiento estuvo destinado a desarrollar el vocabulario para describir calidad y defectos, realizar pruebas de jerarquización, tests discriminativos y manejo de escalas de diferente tipo. Se realizaron pruebas para verificar la confiabilidad, la veracidad y reproducibilidad de los juicios ( $p < 0.05$ ). Con el grupo entrenado se evaluaron diferentes preparaciones culinarias del Programa. Los resultados obtenidos permitieron proponer algunos criterios de calidad para mejorar las raciones.

**Palabras clave:** Evaluación sensorial, entrenamiento, paneles de niños, raciones, pruebas sensoriales, metodología.

**SUMMARY. Sensory training of children.** In the development of food products for children, it is advisable to establish the characteristics of the product with groups of children that represent the target population. To ensure the success of the products, the quality and hedonic satisfaction expectations must be considered. In order to accomplish this premises, a group of children under the Program of Complementary Feeding of the Health Ministry- was selected and trained. The project was developed with a group of 33 children ages 9 to 12 years- from the Republic of Colombia School of Santiago, whose parents agreed and supported the participation of their children in this project. The first step was teaching the technics and methodology of Sensory Evaluation, and increasing their sensitivity. After the 8 programmed sessions, those children who met the minimal requirements for a training group were chosen. The second step was performed during 12 sessions, working with 14 children. The training was aimed at the development of the vocabulary to describe quality and defects, ranking tests, discriminative tests and the use of different scales. Tests to verify reliability, veracity and reproducibility of judgements ( $p < 0.05$ ) were carried out. The trained group was able to assess different meals of the Program. The obtained results allowed to propose the improvement of some quality criteria of the Program meals.

**Key words:** Sensory evaluation, training, children panel, meals, sensory tests, methodology.

### INTRODUCCION

Los trabajos sobre el desarrollo de nuevos productos se realizan siguiendo una serie de etapas que es necesario cumplir metódicamente para asegurar un impacto positivo del nuevo producto al llegar al consumidor. Las industrias elaboradoras de alimentos están diversificando cada vez más los alimentos que produce con el fin de satisfacer las expectativas del consumidor y cumplir los objetivos formulados cuando fue diseñado. Por esta razón se ha producido una verdadera invasión de alimentos para infantes, para deportistas, para hipertensos, para diabéticos, para escolares, para adultos mayores, etc, etc. Al desarrollar un producto, es importante lograr que la calidad resultante sea acorde con las especificaciones que se establecieron en la etapa del diseño.

Muchas veces el industrial explora hasta esta etapa su producto, sin considerar cuál sería el impacto que producirá en el consumidor objetivo. Otras veces se arriesga a explorar la aceptabilidad que podría tener el producto antes de lanzarlo al mercado, y de esta forma asegurar su posicionamiento en el mercado. En nuestra experiencia es importante conocer la opinión de los usuarios desde la etapa de diseño del producto, con el fin de establecer las especificaciones de acuerdo a las expectativas del consumidor y a sus reales necesidades. Esta no es tarea fácil, por cuanto están presentes una serie de variables que acompañan a los trabajos con consumidores y que no siempre es posible minimizar su efecto (1-4).

Cuando se diseñan alimentos para los Programas de Alimentación, el Estado establece claramente los aportes nutricionales y de energía que deben entregar las raciones,

pero es difícil establecer si las formulaciones serán bien aceptadas por los niños.

Ante esta realidad, se programó una investigación en la cual se planteó la hipótesis de considerar las opiniones de los niños que comerían los alimentos de estas raciones, no sólo en sentido hedónico, sino también respecto de exigencias de calidad (5).

Es imprescindible dentro del desarrollo de alimentos para niños definir las características del producto, con grupos de niños que sean representativos de la población a la cual están destinados estos alimentos.

La primera dificultad al tratar de medir estos aspectos, es la falta de vocabulario adecuado o el mal uso que se tiene del idioma. De tal forma que una misma percepción es descrita de diferente forma por cada uno de los individuos interpelados. La situación es aun más dramática cuando se trata de cuantificar la sensación, ya que la reacción es de una variabilidad abismante y los resultados que pudieran obtenerse carecen completamente de objetividad y confiabilidad (6).

Esta realidad nos llevó a abordar un proyecto que tuvo por finalidad contar con un panel entrenado conformado por niños, el que tendría como aplicación la evaluación de la calidad de las raciones de los desayunos y almuerzos que se distribuyen a través de los Programas de Alimentación Complementaria que financia el Ministerio de Salud.

En este manuscrito se presenta la metodología empleada para el entrenamiento de los niños.

## MATERIALES Y METODOS

Se trabajó con niños de edades comprendidas entre 9 y 12 años, que asistían a la Escuela Básica República de Colombia, de la Región Metropolitana, y eran beneficiarios del Programa de Alimentación Complementaria.

La conformación del panel se realizó en 3 etapas: reclutamiento, selección y entrenamiento.

### Etapas de selección

Para la etapa de selección se adaptaron los métodos y técnicas propuestas por Jellinek para el entrenamiento de paneles de adultos (7-9,11).

Las pruebas de esta etapa tenían por objetivo evaluar las capacidades individuales, familiarizarlos con las pruebas y técnicas de Evaluación Sensorial, medir su sensibilidad individual a diferentes estímulos estandarizados, desarrollar algunos conceptos y enseñarles a jerarquizar según diferentes parámetros de calidad (textura, dulzor, acidez, color, etc.)

Se realizó a lo largo de 8 sesiones de 2 horas cada una. Cada sesión comprendió una exposición teórica de las actividades que se desarrollarían y la distribución y evaluación de las diferentes muestras programadas. Los resultados de cada sesión se analizaron y discutieron con todo el grupo, con el fin de corregir las fallas detectadas o aclarar dudas sobre cómo

practicar las pruebas o cómo contestar los cuestionarios, también aclarar algunos conceptos y términos mal empleados, practicar el uso de antónimos, de sinónimos, etc.

Una vez terminada la sesión, se les informó de las respuestas correctas para cada trabajo realizado, y como conservaban en sus mesas las muestras evaluadas, podían repetir la evaluación en los casos de errores, dudas o faltas.

Con el fin de aumentar el interés y la atención para cumplir bien el programa de entrenamiento, se distribuyeron caramelos, confites o galletas a modo de premio, de acuerdo a los resultados obtenidos en la sesión anterior. Se ensayó hacerlo individualmente y también por equipos, considerando los asientos que ocuparon en la sala. Ambas modalidades fueron recibidas con mucho entusiasmo, como era de esperar.

El programa desarrollado en esta etapa se presenta en la Tabla 1.

TABLA 1  
Programa de pruebas de la etapa de selección

Prueba realizada	Muestras evaluadas	Referencia
Gustos básicos	Soluciones acuosas	(7,8)
Umbrales del gusto	Soluciones dulces y soluciones saladas	(7)
Aromas en bandas	Aldehído C-18, limón, tomate (H&R), caramelo (Givaudan)	(8)
Ordenamiento gusto	Gusto dulce: 0,2-0,4-0,8-1,0-1,5 g sacarosa/100ml agua	(7)
Ordenamiento color	Jugo rojo guinda al 2,5-5-7,5-10-12,5%	(7,8)
Ordenamiento gusto	Gusto salado: 0,06-0,10-0,13-0,18-0,20 % NaCl	(7)
Ordenamiento color	Jugos amarillo limón: 5-7,5-10-12,5-15%	(7,8)
Ordenamiento dureza	14 conos truncados de Tilgner	(7)
Ordenamiento granulosis	Postres de maicena, sémola y arroz	(8)
Aromas (von Skramlik)	Cebolla rallada, tocino, vainilla, naranja	(7,8)
Ordenamiento firmeza	Gelatina comercial de piña en diferentes concentraciones	(7,8)
Gustos básicos	10 Soluciones acuosas	(7,8)
Ordenamiento color	2,5-3,5-5-10-15 ml leche sabor fresa en 100ml leche sin sabor	(7,8)
Ordenamiento crocancia	Galletas cracker en 3 diferentes condiciones humedad	(8)
Alimentos aromáticos	Con / sin vista : laurel, clavos, canela, vainilla, vinagre, ajos, chocolate, cebolla, cáscara de naranjas	(8)

### Evaluación de los resultados de esta etapa

Las diferentes pruebas fueron evaluadas como frecuencia de aciertos por prueba practicada, por cada participante. El 100% significa haber acertado en la totalidad de tratamientos evaluados

Al final de esta etapa la selección se realizó de acuerdo a los criterios de rendimientos mínimos por prueba realizada.

aceptándose a todos aquellos candidatos que cumplieran con estos criterios y observaron una buena asistencia, igual o superior al 70% de las sesiones (7,11).

**Etapa de entrenamiento**

Para la tercera etapa se practicaron diferentes técnicas y métodos descritos en la literatura y en normas técnicas, tales como pruebas de diferencia, pruebas de ordenamiento, reconocimiento de aromas, pruebas pareadas, pruebas descriptivas cuali y cuantitativas, pruebas de aceptabilidad, pruebas de preferencia, pruebas de jerarquización, manejo de escalas etc. (1,7,8,12).

La frecuencia del programa es igual a la de la etapa anterior. Se realizaron en total 14 sesiones de 2-2,5 horas cada una, en que se explicó la metodología a usar, se analizaron los resultados y se corrigieron las faltas o confusiones, si era el caso, en igual forma que en la etapa anterior. Se trabajó con

estándares de sensaciones antónimas para aclarar bien el uso correcto de los descriptores de las percepciones recibidas (8,15,16). También se practicó el uso de escalas (numéricas, ordinales, de intensidad, de calificación)

Las pruebas descriptivas de los diferentes alimentos, se practicaron en la modalidad de panel abierto (15), distribuyendo a los niños en 2 grupos alrededor de una superficie cuadrada que albergó a 2 niños por lado. Esta forma de trabajo permitió fomentar la discusión, acostumbrarlos a fundamentar los criterios de evaluación, usar un vocabulario común y crear una actitud analítica frente al problema planteado (8,15,16)

Al igual que en la etapa anterior se premió con diferentes golosinas el buen rendimiento de los mejores, aunque la mayoría de las veces todo el grupo fue acreedor de premios, los que por supuesto fueron siempre muy recibidos y apetecidos.

El programa de sesiones de esta etapa se presenta en la Tabla 2.

**TABLA 2**  
Programa de pruebas de la etapa de entrenamiento

Prueba realizada	Muestras evaluadas	Referencia
Triangular	Jugos de fruta normal vs. Adicionado de 0,8% sacarosa	(7,8,11)
Ordenamiento del gusto	4 jugos de manzanas con 0,2-0,3-0,4-0,5g ácido cítrico/litro	(7)
Generación de descriptores	Galletas de coco y de limón del Programa	(8)
Escala hedónica	Galletas de soda del Programa y de marca comercial (Mackay)	(7,8,11)
Triangular	Gelatina vs la misma adicionada de 10% sacarosa	(8)
Ordenamiento de preferencias	4 sustitutos lácteos del Programa (bocado, caramelo, plátano y piña)	(8)
Aceptabilidad	Galletas de vainilla y de limón del Programa	(7,8,11)
Preferencia	Galletas de vainilla y de coco del Programa	(7,8,11)
Ordenamiento de preferencias	4 jugos fantasía: piña, naranja, fresa, guinda	(8)
Generación de descriptores	Almuerzo recién ingerido	(8)
Ordenamiento por viscosidad	4 jugos preparados con incrementos de 0,2% carboximetilcelulosa	(8)
Identificación de aromas	Bandas olfatorias con caramelo, vainilla, manjar	(7,8)
Preferencias	3 sustitutos lácteos en desarrollo: cherry, durazno, damasco	(8)
Ordenamiento de color	Mezclas opalescentes de jugo de duraznos a incrementos de 2,5% de agua	(8)
Triangular	2 niveles de humedad en galletas bocado	(8)
Triangular	2 leche-cereal normal vs. Adicionada de 15% agua	(7,8,11)
Comparación pareada	Acidez de jugo de naranja normal vs adicionado de 0,05% ác. cítrico	(7)
Generación de descriptores	Apariencia, color, olor, sabor, textura de bizcochuelo	(8)
Identificación de aromas	Con vista bloqueada: vainilla, manjar, chocolate	(7,11)
Generación de descriptores	2 pares de hígado comerciales	(8)
Triangular	Galletas con 2 niveles de saborizante naranja	(7,8,11)
Generación de descriptores	2 variedades de manzanas frescas	(8,16)
Triangular	Yogurt batido de frutilla vs el mismo adicionado de 0,4% sacarosa	(8)
Ordenamiento de preferencias	4 marcas comerciales de leche-cereal	(8)
Generación de descriptores	Apariencia, color, olor, sabor, textura de mermelada de duraznos	(8)
Generación de descriptores	Apariencia, color, olor, sabor, textura de un guiso de verduras	(8,16)
Generación de descriptores	Apariencia, color, olor, sabor, textura de sopa crema de legumbres	(8,16)

**Evaluación de resultados de la etapa de entrenamiento**

Los resultados de cada participante fueron evaluados de acuerdo a la prueba realizada. En el caso de las pruebas triangulares ( 6 pruebas con 2 repeticiones) se calculó por chi cuadrado y además se usaron las Tablas de Mínimo de Juicios para establecer diferencias significativas (7,8,13,14). Para las pruebas de ordenamiento se usaron las Tablas de Kramer

(7,8,11) y de Newell y MacFarlane (14). En ambos casos se calculó el % de respuestas acertadas totales del conjunto de pruebas practicadas con una misma metodología. Para las demás pruebas se consideró la frecuencia de respuestas correctas considerando 100% el máximo. Los resultados se expresaron en % de aciertos para la totalidad de la prueba practicada, con el fin de compararlos con los criterios de

selección usados (7,8,11). Para el conjunto de pruebas discriminativas se aplicó el método secuencial de selección (13,14).

Para conformar el panel definitivo se eligió a aquellos niños que demostraron veracidad, reproducibilidad y consistencia en sus juicios ( $p < 0,05$ ) (13,14).

### RESULTADOS Y DISCUSION

#### Etapa de Reclutamiento

Se partió con 33 niños autorizados por sus padres, de los cuales sólo 29 pasaron a la etapa siguiente, ya que los demás no pudieron concurrir en el horario fijado que se compartía con otras actividades extraprogramáticas de la Escuela.

TABLA 3  
Resultados de las pruebas realizadas durante la etapa de selección

PANELISTAS	Gustos básicos	Umbral de gusto salado	Umbral de gusto dulce	Identificación de 5 aromas	Ordenamiento del gusto ácido	Ordenamiento del gusto dulce	Ordenamiento de soluciones rojas	Ordenamiento de soluciones amarillas.	Ordenamiento de soluciones saladas	Ordenamiento de firmeza	Ordenamiento de granulosis	Identificación de aromas	Ordenamiento de firmeza (gelatinas)	Gustos básicos	Ordenamiento de crocancia	Ordenamiento de color	Alimets aromáticos con vista bloqueada	Alimentos aromáticos sin vista bloqueada
A*	50	no	no	50	20	40	100	(-)	(-)	100	33	100	(-)	(-)	100	100	20	90
B*	30	no	no	0	100	20	100	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	100	60	33	100	70	90
C	40	no	no	100	0	(-)	(-)	50	25	43	(-)	(-)	100	30	(-)	(-)	(-)	(-)
D	40	no	no	75	60	(-)	(-)	20	50	77	0	25	33	50	33	100	40	70
E*	80	si	(-)	25	100	60	100	(-)	(-)	57	100	100	100	100	33	60	50	70
F	(-)	no	si	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
G*	60	no	no	25	100	100	100	100	50	100	100	75	100	100	(-)	(-)	(-)	(-)
H*	40	si	no	(-)	(-)	100	100	100	50	100	100	100	100	80	33	100	80	50
I	no	no	no	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
J	(-)	(-)	(-)	50	100	(-)	(-)	60	50	14	(-)	(-)	100	50	0	60	20	90
K	40	no	no	50	20	(-)	(-)	(-)	(-)	100	100	50	33	70	(-)	(-)	(-)	(-)
L	50	(-)	NO	no	(-)	(-)	(-)	20	(-)	(-)	0	(-)	(-)	(-)	33	(-)	(-)	(-)
M*	40	si	no	75	60	20	100	100	50	100	100	75	100	60	100	60	40	90
N*	50	no	no	50	0	(-)	(-)	40	0	77	100	100	100	80	33	0	90	90
O*	40	si	no	100	20	(-)	(-)	100	50	0	100	100	100	60	0	60	50	90
P	40	no	si	0	40	20	(-)	(-)	(-)	0	(-)	(-)	33	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Q*	60	si	si	25	20	(-)	(-)	100	50	100	0	100	100	70	0	100	30	90
R	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0	100	100	50	77	100	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
S*	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	60	25	77	33	25	100	100	100	60	80	100
T*	60	si	no	25	100	20	100	100	100	100	100	50	100	60	100	60	60	90
U*	(-)	no	no	25	60	40	100	100	100	57	0	100	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
V*	60	no	si	50	60	60	100	60	0	100	0	50	100	90	33	20	70	80
W	50	no	si	50	20	(-)	(-)	25	0	100	0	0	100	70	(-)	(-)	(-)	(-)
X*	40	no	no	25	0	60	100	60	100	100	33	75	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Y*	70	no	no	(-)	(-)	20	100	100	100	(-)	(-)	(-)	0	50	33	60	70	70
Z*	40	si	si	100	100	20	100	100	50	77	100	0	100	80	0	100	80	80
AA	(-)	no	no	(-)	(-)	(-)	100	(-)	(-)	(-)	33	(-)	(-)	(-)	33	(-)	(-)	(-)
BB*	50	si	si	25	100	20	100	100	100	100	100	75	100	70	100	60	80	100
CC	80	no	si	(-)	(-)	(-)	100	20	(-)	(-)	(-)	(-)	100	90	33	100	90	90

Resultados expresados como porcentaje

\* Niños seleccionados en esta etapa

### Etapa de selección

Los 29 niños reclutados realizaron las pruebas descritas para esta etapa en Materiales y Métodos. Los resultados obtenidos por niño, se presentan en la Tabla 3.

Se analizó el rendimiento individual frente a cada una de estas pruebas, considerando los requisitos mínimos de panelistas semientrenados (7,11) con el fin de continuar con la etapa de entrenamiento definitivo en alimentos de los Programas y técnicas más finas de evaluación. Las dificultades más frecuentes que presentó el grupo, se refieren a falta de concentración para memorizar las instrucciones, confundir el orden

para realizar las evaluaciones, dificultades para expresarse, contestar y escribir en las fichas de respuestas.

De acuerdo a este criterio, se seleccionaron los 17 niños que aparecen sombreados en la Tabla 3.

Al comunicar la nómina de los niños que continuarían con la etapa siguiente, se entregó un premio más importante a los que no continuaron, ya que el mantenerse dentro del grupo que va a conformar el panel es en sí un premio a su rendimiento.

### Etapa de entrenamiento

Los resultados de los 17 niños que participaron en esta etapa se presentan en la Tabla 4.

**TABLA 4**  
Resultados de la etapa de entrenamiento

PANELISTAS	Comparación pareada	Reconoc aromas s/vista*	Identificación de aromas con vista*	Triangular de Purita-cereal*	Ordenamiento del gusto ácido	Triangular de galletas*	Triangular de yogurt*	Ordenamiento del gusto ácido	Triangular de jugos*	Triangular de gelatinas*	Ordenamiento de viscosidad	Identificación de aromas	Ordenamiento de color	Triangular de galletas*
A	(-)	0	0	2	(-)	(-)	2	(-)	(-)	0	100	0	(-)	(-)
B	0	1	2	0	25	0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	100	1
E	2	0	0	1	50	2	2	100	1	1	100	0	100	1
G	2	0	0	2	100	2	2	100	2	2	100	0	100	1
H	1	2	2	1	50	1	2	100	2	2	100	0	100	2
M	2	0	0	1	(-)	(-)	0	100	2	2	100	33	100	2
Q	0	1	2	2	50	0	1	(-)	(-)	(-)	100	33	100	1
S	1	0	2	1	100	0	2	100	0	1	50	0	100	1
T	1	0	2	2	25	0	1	100	1	2	100	100	100	1
U	1	0	1	1	(-)	(-)	2	(-)	(-)	2	100	100	100	1
V	1	1	2	1	100	1	2	100	1	2	100	100	100	0
Y	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	2	100	2	2	(-)	(-)	(-)	(-)
Z	1	0	0	1	50	2	(-)	50	2	2	100	0	60	0
BB	2	0	2	0	100	2	2	100	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Resultados expresados en porcentaje.

\* Resultados expresados como respuestas correctas en 2 repeticiones de la misma muestra.

Como puede observarse los rendimientos fueron bastante parejos. Las dificultades de esta etapa fueron menores que en la anterior, pudiendo asimilar con bastante rapidez las instrucciones y técnicas practicadas. Hubo un marcado progreso en dar lo mejor de cada cual para encontrar correctamente las muestras diferentes en las pruebas triangulares y un esfuerzo notable por usar un vocabulario más técnico y preciso. También las pruebas se realizaron en menos tiempo que en la etapa anterior y con mayor orden. Las pruebas que realizaron con

mayor interés y seguridad fueron las pruebas triangulares y las pruebas de ordenamiento. El uso de escalas necesitó de varias sesiones de práctica hasta poder emplearlas con soltura y seguridad. Para las pruebas descriptivas en las primeras sesiones fue necesario ayudarles con listas de antónimos de los posibles componentes de cada parámetro de calidad, para que seleccionaran el que no podían recordar. Posteriormente ya no fue necesaria esta ayuda puesto que habían memorizado correctamente el vocabulario necesario.

El interés por conocer los resultados de cada cual convirtió el entrenamiento en una verdadera competencia por destacarse.

Se insistió mucho en las pruebas descriptivas, ya que sería una de las aplicaciones más frecuente que tendría el panel para evaluar la calidad de guisos y alimentos de los Programas de Alimentación, en etapa de desarrollo y/o de los que ya formaban parte del Programa, pero tenían un alto índice de rechazo.

El trabajo de discusión en panel abierto fue muy bien aceptado por los niños y se tradujo en una verdadera competencia por sobresalir con respuestas mejor elaboradas y fundamentadas.

Se evaluaron los resultados de cada niño, considerando el análisis secuencial para las pruebas discriminativas y las Tablas de Mínimo de Juicios para Establecer Diferencias Significativas, su rendimiento en las pruebas de descriptores, el interés en el trabajo realizado, la puntualidad y asistencia al entrenamiento.

De esta forma el panel quedó constituido por 14 niños que demostraron consistencia, veracidad y reproducibilidad en sus juicios ( $p=0,05$ ). En la Tabla 4 aparecen sombreados los resultados de los 14 niños elegidos para conformar el panel definitivo.

### Algunas aplicaciones del panel

Con el fin de comprobar el grado de entrenamiento alcanzado por el panel, se procedió a evaluar la calidad de los siguientes guisos del Programa:

- \* Carne y pollo para ensalada
- \* Salsa de carne enlatadas

Las respuestas de estas evaluaciones pueden encontrarse en las Tablas 5 y 6, respectivamente, que resumen los diferentes descriptores de calidad empleados. En base a esta información se hicieron las recomendaciones correspondientes a la Empresa para modificar la calidad de los productos evaluados, sugiriéndose optimizar la apariencia, el sabor y la textura de las dos ensaladas y optimizar la formulación de salsa de tomates y carne codificada como Z, en especial la apariencia y consistencia.

TABLA 5  
Evaluación sensorial de ensaladas de carne y pollo

Ensalada de carne	Descriptores de calidad
Apariencia	Granulosa, áspera, sin forma, con trozos blancos, mala, un trozo con un pelo negro
Forma	Irregular, apelotonada, en trozos pequeños
Color	Café, oscuro, parece carne
Olor	A bife, a carne, a guisado, a vegetales, a arvejas, repulsivo
Sabor	A bife, a carne, algo agradable
Textura	Grasosa, grumosa, áspera, seca, algo suave
Ensalada de pollo	Descriptores de calidad
Apariencia	Grasosa, mala, grumosa, espesa, repulsiva
Forma	Amorfa, en trocitos chicos, deformada
Color	Café claro, algunos trozos más claros
Olor	Malo, desagradable, a quemado, a estofado
Sabor	A pollo, algo desagradable
Textura	Grasosa, apelotonada, grumosa, seca, poco suave

TABLA 6  
Evaluación sensorial de tres fórmulas de salsa de tomates con carne

Parámetro de calidad	Fórmula X	Fórmula Y	Fórmula Z
Apariencia	Algo espesa. Trozos duros, granulosa	Mala carne, trozos grandes, grasosa, apelotonada	Aceitosa, roja, muy líquida, muy fluída
Forma	Desuniforme, apelotonada, granulosa, trozos grandes, muy aceitosa	Espesa, mala, seca, mucha carne, desuniforme, muy apelotonada, granulosa	Como sopa fluída, granulosa, apelotonada, aceitosa, trozos grandes
Color	Rojo pardo, oscuro, intenso	Café pardo, oscuro, rojo oscuro, malo	Rojo intenso, anaranjado, rojizo
Olor	A guiso, a carne asada, algo ácido, a cebollas, carne	Malo, a quemado, amargo, a carne, desagradable	A guiso, a carne, a tomates, a salsa de carne y tomate
Sabor	Cebollas y tomates, malo, salado, ácido, a zanahoria	A quemado, mala, seca, demasiada carne	Agradable, carne y tomates, a salsa de carne y tomate
Textura	Espesa, demasiada carne, aceite bien, algo espesa, trozos grandes, granulosa	Espesa, granulada, mala, áspera, seca, trozos grandes irregulares, apelotonada	Fluída, suave, aceitosa, granulosa, trozos pequeños, granulosa
Consistencia	Espesa	Demasiado espesa, no fluye	Delgada, fluída

### CONCLUSIONES

El programa empleado en la selección y entrenamiento capacitó en buena forma el panel constituido por 14 niños para evaluar en forma objetiva y confiable la calidad de los productos entregados en el Programa de Alimentación Complementaria de la JUNAEB (Junta de Auxilio Escolar y Becas).

Las minutas del Programa evaluadas reflejaron los aspectos de calidad que deberían mejorarse para lograr alimentos más aceptables por el grupo consumidor objetivo.

Se recomienda mantener en actividad el panel. En caso de interrumpir las actividades se debería verificar que el panel sigue siendo confiable.

Se aconseja considerar la incorporación de nuevos panelistas que deberían cumplir las mismas etapas de selección y entrenamiento que aquí se proponen, con el fin de reponer la participación de aquellos niños que vayan abandonando la Escuela, y de esta forma, seguir contando con un panel entrenado confiable.

**AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo fue financiado parcialmente por la Empresa Nutreco S.A. y la Universidad de Chile.

Vayan nuestros especiales agradecimientos al Sr. Oscar Vega Saez por su valiosa cooperación y ayuda técnica.

Agradecemos muy sentidamente la participación de los profesores y autoridades de la Escuela República de Colombia que respaldaron nuestro trabajo y facilitaron nuestra tarea.

**REFERENCIAS**

1. Moskowitz HR. New direction for product testing and sensory analysis of foods. Food and Nutrition Press Inc, Wetsport Conn, USA, 1985.
2. Birch LL. Dimension of preschool children's food preferences. J Nutr Educ. 1979; 11,77-80.
3. Birch LL. Preschool children's food preferences and consumption patterns. J Nutr Educ. 1979;11,169-192.
4. Head M, Giesbrecht F, Johnson GN. Food acceptability research: Comparative utility of three types of data from school children. J Food Sci. 1977;42, 246-251.
5. Kimmel SA, Sigman-Grant M, Guinard JX. Sensory testing with young children. Food Technol 1994;48:3,92-99.
6. Dasso I. La participación de niños en análisis sensoriales. La Alimentación Latinoamericana . 1996;215, 38-41.
7. Jellinek G. Sensory evaluation of food, theory and practice. Ellis Horwood Ltd., Chichester, England. 1985.
8. Wittig de Penna E. Evaluación Sensorial. una metodología actual para tecnología de alimentos. Talleres Gráficos USACH. Santiago, Chile. 1981.
9. Colwill JS. Sensory analysis of consumers. Food Manufact. 1987;53.
10. Schraidt MF. ASTM News 1991;42.
11. ASTM Guidelines for the selection and training of sensory panel members. STP 758. American Society for Testing and Materials. Filadelfia. USA. 1981.
12. Kroll BJ. Evaluating rating scales for sensory testing with children. Food Technol. 1990;44:11, 78-86.
13. Amerine MA, Pangborn RM, Roessler EB. Principles of sensory evaluation of foods. Academic Press. Nueva York. 1965.
14. Pedrero D, Pangborn RM. Evaluación Sensorial de Alimentos. Alhambra Mexicana, México. 1989.
15. Paulus K, Zacharias R, Robinson L, Geidel H. Kritische Betrachtungen zur "Bewertenden Prüfung mit Skale" als einem wesentlichen Verfahren den sensorischen Analyse. Lebensmit. Wiss. u. Technol. 1979;12, 52-61.
16. Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. Sensory evaluation techniques. CRC Press. Inc. USA. 1991.

Recibido: 05-11-1998

Aceptado: 15-09-1999

## Modificación enzimática de las propiedades funcionales, nutricias y sensoriales de la soya para alimentación especial

Ana María Calderón de la Barca, Abraham Wall Medrano, Martín Jara Marini,  
Aarón F. González Córdova y Adolfo Ruíz Salazar

Dirección de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México

**RESUMEN.** En la producción de fórmulas hipoalérgicas, bebidas fortificadas y nutracéuticos para alimentación especial, se requieren ingredientes ideales. En este estudio, se obtuvieron ingredientes proteicos por medio de hidrólisis y síntesis enzimática con metionina a la proteína de soya. La hidrólisis se realizó al 4% (p/v) con enzimas pancreáticas porcinas al 4% (p/p), 50 °C, 6 h y pH 8. El hidrolizado seco se resuspendió al 20% (p/v) e incubó con 7.6% de metiléster de metionina (p/p), quimotripsina al 1% (p/p) y glicerol 3 M, 37 °C, 3 h y pH 7.0. Antes y después del enriquecimiento (E), el hidrolizado se fraccionó en 3 partes por ultrafiltración (UF): FI>10, 10>FII>3 y 3>FIII>1 kDa. A la proteína nativa y todas las fracciones se les evaluaron propiedades funcionales, aminoácidos, factores antifisiológicos y antigenicidad; así como calidad proteica y características sensoriales a 2 de ellas. La hidrólisis y síntesis modificaron las propiedades proteicas y el enriquecimiento se dio en un mínimo de tiempo y metionina añadida. Después de la UF, las fracciones menores de 10 kDa presentaron solubilidad completa (pH 4 y 7), buena claridad y regular capacidad espumante. La FIII-E por su calidad nutricia, nulas antigenicidad y actividad antifisiológica, puede utilizarse en fórmulas infantiles hipoalérgicas. La FII-E por su composición de aminoácidos es adecuada para fórmulas fortificadas solubles y como única proteína en nutracéuticos. La FI, semejante al aislado comercial, es utilizable amortizando costos. La FI-E por su contenido de metionina, la estabilidad de su espuma, su actividad emulsificante y buen sabor, puede utilizarse en papillas infantiles.  
**Palabras clave:** Proteína de soya, modificación enzimática.

**SUMMARY.** Enzymatic modification of the functional, nutritional and sensorial properties of soy protein for special nutrition. Production of new protein-based products for special nutrition such as hypoallergenic infant formulas, fortified beverages and nutraceuticals, require ideal ingredients. Protein ingredients were developed by enzymatic hydrolysis and methionine synthesis of soy protein. Hydrolysis was done at 4% (w/v) using porcine pancreatic enzymes (4% w/w), 50 °C, 6 h and pH 8. After drying powder was resuspended (20% w/v) and incubated with 7.6% (w/w) methionine methyl-ester, 1% (w/w) chymotrypsin and 3 M glycerol, 37 °C, 3h and pH 7. Hydrolysates were fractionated by ultrafiltration (UF) before and after enrichment (E): FI>10, 10>FII>3 and 3>FIII>1 kDa. Functional properties, amino acid content, anti-physiological factor activities and antigenicity were assayed for all the UF fractions and the soybean meal. Protein quality bioassay and sensorial test of a non-enriched fraction and an enriched fraction were performed. Functional properties were positively modified by hydrolysis and synthesis by using a minimum time and methionine added for the last reaction. After UF all the fractions under 10 kDa showed 100% solubility (pH 4 and 7), good clarity, acceptable foam capacity and negligible antigenicity and antiphysiological activities. Additionally, methionine enrichment enhanced their nutritional value, upgrading sulfur amino acid requirements for infants and adults. Because functionality and nutritional value FIII-E could be used for hypoallergenic infant formulas, FII-E for fortified soluble formulas and nutraceuticals and FI-E for a semi-solid baby food.  
**Key words:** Soyprotein, enzymatic modification.

### INTRODUCCION

En los últimos años han cambiado las tendencias de producción de alimentos. Estos cambios van desde la sustitución de ingredientes para el mejoramiento y eficiencia de procesos tecnológicos hasta el diseño de productos realmente novedosos. Las características de algunos alimentos nuevos los hacen más accesibles a los consumidores; otros, se han desarrollado para nutrir a personas con necesidades especiales. Son ejemplos de la nueva tecnología de producción de alimentos basada en «ingredientes ideales», las fórmulas infantiles hipoalérgicas, las bebidas fortificadas para adultos y los nutracéuticos.

En esta nueva era, las proteínas siguen siendo primordiales. El desarrollo de nuevos productos proteínicos «ideales» ha motivado al especialista en alimentos a buscar alternativas para obtener proteínas con buenas propiedades. La reacción plasteínica es un ejemplo de esta nueva tendencia, la cual permite el “moldeo” de proteínas de calidad intermedia y bajo costo, hidrolizándolas y uniéndoles aminoácidos covalentemente (1,2). Esta tecnología enzimática, se basa en la capacidad que tienen las proteasas de actuar no sólo como hidrolasas sino también como transferasas (3). Esta modificación proteica ya se había intentado en alimentos en la década de los 70's, en el afán de cubrir la supuesta necesidad de proteína de alta calidad nutritiva (4). Ahora, se ha recuperado

la idea por la accesibilidad de los procesos tecnológicos modernos que la abaratan. De este modo, se está utilizando para la obtención de péptidos terapéuticos y edulcorantes, tales como el Aspartame<sup>®</sup> (3).

Parte de la tecnología de modificación enzimática, se usa ya en las fórmulas infantiles hipoalergénicas que son hidrolizados de proteínas de leche de vaca. Uno de los problemas de este tipo de productos es la falta de control del tamaño de los péptidos (5); lo cual ocasiona respuestas alérgicas en lactantes con hipersensibilidad (6). Además, las fórmulas infantiles hipoalergénicas son demasiado caras.

Por otra parte, las bebidas fortificadas como Ensure<sup>®</sup> o Sustacal<sup>®</sup>, para personas con problemas de mala absorción como los de la tercera edad, aunque contienen proteínas de buena calidad, no tienen nada especial que permita que se digieran o absorban mejor. También este tipo de productos resulta caro, especialmente en los países emergentes en donde no se fabrican.

Así, se están importando a los países de América Latina dos clases de productos: las fórmulas infantiles hipoalergénicas y las bebidas para personas con problemas de malabsorción, a un costo demasiado elevado. Es por ello que los sistemas de seguridad social y los particulares tienen problemas para mantener este tipo de alimentación. El reto para la industria es producir proteínas con las características más adecuadas y a menor costo, para formular estos productos, no sólo para consumo local, sino para sustituir algunos de los existentes en el mercado internacional. Para ello, se propone la modificación enzimática de proteína de soya de bajo costo, enriqueciéndola con metionina y fraccionándola por ultrafiltración. De esta forma, se lograrán péptidos de tamaño definido, con concentraciones adecuadas de aminoácidos y con propiedades fisicoquímicas ideales para la formulación de productos nutritivos y agradables a los sentidos de las personas con necesidades nutricias específicas.

## MATERIALES Y METODOS

### Materiales

Se usó pasta de soya (Gamesa, S.A.) con un tamaño de partícula semejante al de una harina comercial, con una concentración de proteína 46.3% y 9.5% de humedad. Para la hidrólisis se utilizó un concentrado enzimático de páncreas de cerdo obtenido en el laboratorio (7), con actividades de tripsina y quimotripsina de  $12.2 \times 10^{-3}$  y  $6.9 \times 10^{-3}$  µg de p-nitroanilida/min/mg de concentrado, respectivamente. Para la síntesis enzimática se utilizó α-quimotripsina tipo II de páncreas bovino (Sigma Chemical Co. St. Louis, MI.).

### Hidrólisis y síntesis enzimáticas

La hidrólisis y síntesis se realizaron de acuerdo a las condiciones obtenidas en un trabajo previo, utilizando un concentrado enzimático de páncreas porcino para la primera y

quimotripsina comercial para la síntesis (7). Brevemente, la concentración de pasta de soya para la hidrólisis fue de 4% p/v y la relación enzima/sustrato de 4% p/p, a 50 °C durante 6 h, manteniendo el pH a 8 e inactivando al final a 85 °C por 15 min. Finalmente, se deshidrató el producto por aspersión (LAB S1/WO 21086 de APV Anhydro Inc., Attleboro Falls, Mass.), con temperaturas de entrada y salida de 200 y 90 °C, respectivamente.

Para enriquecer el hidrolizado con metionina, se utilizó una concentración de 0.07585 g de metil éster de metionina (ME-Met)/g de hidrolizado (0.05666 g de Met/g), una concentración del hidrolizado de soya de 20% (p/v), una relación de quimotripsina/sustrato de 1/100 p/p y glicerol 3 M. La mezcla se incubó a 37°C a pH 7.0, durante 3 h para posteriormente inactivarse a 85° por 15 min. La remoción total de aminoácidos libres se realizó por ultrafiltración.

### Ultrafiltración (UF) de los hidrolizados antes y después de la síntesis

En un ensayo preliminar, se fraccionó en 3 partes el hidrolizado de soya por UF en una celda (Amicon, mod. 8 200): FI>10 kDa, 10>FII>3 kDa y 3>FIIIa>0.5 kDa. Luego se escaló a un equipo de cartucho (Amicon, mod. CH2) y se obtuvieron las 3 fracciones, excepto que la FIII fue entre 1 y 3 kDa (FIII), así se ultrafiltraron tanto el hidrolizado sin enriquecer, como el enriquecido (síntesis), asegurando por ultrafiltración la remoción total de Met libre.

### Evaluación de las propiedades funcionales

A las fracciones de hidrólisis y síntesis se les evaluaron solubilidad (8), claridad y espumado (9), en muestras acuosas al 1% p/v a pH 4 y 7. También se analizó actividad emulsificante (10) a pH de 7. Los resultados obtenidos se analizaron utilizando un diseño de bloques (2 x 3) completamente al azar, comparando los 2 tipos de hidrolizados (enriquecido y no enriquecido) en 3 niveles (fracciones: FI>10 kDa, 10>FII>3 kDa y 3>FIII>1 kDa).

### Análisis de aminoácidos

La composición de aminoácidos de los productos y la estimación de metionina unida en las fracciones enriquecidas, se determinó por cromatografía líquida de alta resolución después de digerir con HCl 6 N (11).

### Evaluación biológica de calidad de proteína

En dos experimentos secuenciales se evaluaron una fracción peptídica sin enriquecer de bajo peso molecular (FIIIa), una combinación de fracciones enriquecidas de polipéptidos de peso molecular alto (FI-E + FII-E), un producto comercial a base de aislado de soya y caseinato (Ensure<sup>®</sup>), y una proteína de referencia (Caseina ANRC). La evaluación se hizo en ratas Sprague Dawley recién destetadas, de 53.9 g promedio, en jaulas metabólicas (NALGENE), a 25 °C, ciclos luz-oscuri-

dad de 12 h, humedad relativa de 50-65% y libre acceso a dieta y agua. Los bioensayos fueron aprobados por un comité de ética interno. Las dietas formuladas fueron isoenergéticas con un nivel de proteína al 10% (12). Empleando un diseño en bloques completamente al azar, se asignaron 6 ratas a cada dieta y 4 a una dieta libre de nitrógeno. Se llevaron registros diarios de peso, proteína ingerida y excreción de orina y heces. Se determinó el contenido de nitrógeno en heces, orina y dietas y humedad de las dietas (12). La calidad proteica se evaluó como utilización neta de proteína (NPU) y digestibilidad verdadera (13). Dichos estimadores fueron comparados por análisis de varianza (GLM-ANOVA) y por comparación de medias de Tukey-Kramer (14).

### Evaluación de factores antifisiológicos

Se determinó actividad de inhibidor de tripsina (método 71-10) (15), a la pasta de soya, hidrolizado, FIIIa y todas las fracciones enriquecidas de soya. La extracción se hizo por triplicado agitando 1 g de muestra en 50 ml de NaOH 0.01 N, 3 h. Los resultados se reportaron como unidades de inhibidor de tripsina/ g proteína (UIT/g proteína). A estos mismo materiales y las fracciones no enriquecidas se les determinó actividad de lectina por prueba de hemaglutinación con doble dilución seriada, con eritrocitos humanos tripsinizados al 2% en buffer de fosfatos 0.1M. El título de hemaglutinación (TH) se tomó como el inverso de la última dilución que mostró aglutinación (16).

### Antigenicidad

Se produjeron anticuerpos anti-pasta de soya en conejos (17), se purificaron en proteína A (Kem-En-Tec, Dinamarca) y se midió su actividad (18). El potencial antigénico de la pasta de soya y sus hidrolizados se midió con un inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) (19). Se utilizaron buffer de cubierta de carbonatos 100 mM, pH 9.6; buffer de lavado y dilución: Tris 0.1 M/HCl, pH 7.4 + 0.05% Tween-20. Para el lavado final, se utilizó buffer salino de fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$  0.02M + NaCl 0.15 M). Se cargaron 100  $\mu\text{l}$  de las muestras diluidas por duplicado en las placas de ELISA y se incubaron a 4 °C, 12 h. Se bloquearon con leche al 1%; se incubaron con los anticuerpos anti-pasta de soya (1:500) y se detectaron con anticuerpos de puerco anti-inmoglobulinas de conejo, peroxidados y TMB (tetrametilbencidina). Se leyó 450 nm (Bio-Rad, Mod. 450).

### Evaluación sensorial

Se evaluaron dos fracciones enriquecidas con Met: FI-E y FII-E. Para ello, se seleccionó un panel entre 10 individuos con una serie de 25 pruebas triangulares (20). Se determinó su capacidad de discernir entre dos muestras iguales (cafeína al 0.07%) y una desigual de agua destilada (21), misma prueba que se usó para sensibilizarlos al reconocimiento del sabor amargo. De allí se seleccionaron los más sensibles, a los cuales se les explicó y entrenó para discriminar diferencias de intensidad del sabor amargo utilizando cafeína al 0.03% (amargor

ligero), 0.07% (poco amargo), 0.1% (muy amargo) y 1% (extremadamente amargo), de acuerdo a Jellinek (1989). La evaluación se hizo por medio de pruebas de intervalos con una escala continua no estructurada, con extremos "ligeramente amargo" y "extremadamente amargo". El análisis de los resultados se realizó por t de Student (14).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Hidrólisis y síntesis

El grado de hidrólisis de la proteína de soya, a las 6 h fue de 23.5%, de acuerdo a la cantidad de NaOH gastada para mantener el pH en 8 (23). En el proceso de obtención del hidrolizado, hay dos puntos principales de pérdidas de material proteico: en el primero, se perdió un 17.6% con respecto al contenido inicial, al aplicar una centrifugación ligera para remover el material insoluble después de la hidrólisis. Después, en el secado por aspersión se perdió otro 20%, pérdida que aunque onerosa, podría ser conveniente si se considera que el secador de espreas procesa 2 L de hidrolizado en una hora, sin afectar las propiedades funcionales del producto. Esta aseveración se hace en base a la comparación de las propiedades y el rendimiento obtenidos para un hidrolizado secado en liofilizador (7) y los presentados por el hidrolizado secado en este estudio. Desde el punto de vista industrial, es más conveniente el secado por aspersión, ya que muy pocas industrias cuentan con un liofilizador.

Por otra parte, la reacción de plasteína es un proceso enzimático alternativo a la hidrólisis para producir resíntesis. Esta consiste en incubar, a un pH óptimo, una solución muy concentrada (30-50% p/v) de hidrolizado con una proteasa (24). Esta reacción, como la de hidrólisis es controlada por la concentración de proteína, la actividad de agua del medio de reacción y la naturaleza hidrofóbica de las especies involucradas. Aunque esta reacción se conoce desde hace años, hasta hace poco solo era una curiosidad, con poca aplicación en alimentos.

FAO/WHO recomienda 4.2 g de Metionina+Cisteína (Met+Cis)/100 g de proteína para infantes y 2.5 g de estos mismos, para los otros grupos de edad. Considerando 1-2% de Cis en la soya (25,23), se requeriría un 3.2% de Met para una fórmula infantil y 1.5% para otros productos. En este estudio se logró enlazar hasta un 3.5% extra de metionina al 1.45% que contenía el hidrolizado antes de enriquecerlo, obteniéndose con ello un 4.95% de metionina total. La metionina sola sobrepasa el requerimiento de aminoácidos azufrados para cualquier grupo etario. La cantidad de metionina añadida a la mezcla de reacción fue de 3 a 8 veces menor que la utilizada por Hájós et al. y Hussein et al. para enriquecer otras proteínas con el mismo aminoácido para el mismo nivel de enriquecimiento. También el tiempo de reacción disminuyó en 5.3 veces con respecto al utilizado en los dos estudios señalados. La disminución en los dos parámetros, significa

una posibilidad grande de abatir costos y hacer de este proceso una aplicación real.

### Ultrafiltración fraccionada (UF)

En el primer modelo a nivel laboratorio, se ultrafiltró secuencialmente la proteína de soya hidrolizada en una celda de 200 ml, con membranas planas. Se obtuvieron fracciones mayores de 10 kDa (FI), entre 3 y 10 kDa (FII) y entre 0.5 y 3 kDa (FIIIa). En este caso, el objetivo era obtener el máximo de la fracción de menor masa molecular (FIIIa), que sería la más útil en fórmulas infantiles hipoalergénicas, ya que los péptidos menores de 3 kDa no producen respuesta antigénica ni alérgica (27). De acuerdo a los resultados del balance de masa la FIIIa fue aumentando de 5.2% de proteína al inicio de la hidrólisis, a 18.6% a las 6 h, con un máximo de 21.9% a las 12 h y una disminución a 18.5% a las 24 h. Por otro lado, la proporción de proteína en el permeado de la FIIIa, aumentó desde un 2.6% al tiempo 0 hasta un máximo de 14.3% a las 24 h. Esto sugiere que la FIIIa se estaba degradando entre las 12 y las 24 h; por ello, el tiempo de 12 h fue el óptimo de hidrólisis.

Después del primer ensayo en la celda pequeña, se escaló a un equipo de UF de cartucho (como los utilizados a nivel industrial). Los rendimientos variaron para cada una de las fracciones; primero porque la FIII ya no incluyó los péptidos menores de 1 kDa y segundo porque la hidrólisis fue de 6 h. Así se ultrafiltraron secuencialmente tanto el hidrolizado sin enriquecer como el enriquecido, obteniéndose fracciones mayores de 10 kDa, entre 3 y 10 kDa y entre 1 y 3 kDa. Estas se denominaron FI, FII y FIII (las no enriquecidas) y FI-E, FII-E y FIII-E (las enriquecidas con metionina), respectivamente. La medida del corte de las membranas en peso molecular, corresponde casi exactamente a la especificación de cada una de ellas, como pudo comprobarse previamente por filtración en gel (7). En la Tabla 1 se muestran los porcentajes de proteína obtenidos al ultrafiltrar el hidrolizado (obtenido de ambos procesos de UF) antes y después (sólo la UF en cartucho) de la síntesis. Como se observa, la actividad hidrolítica continua durante la segunda fase de la modificación enzimática.

TABLA 1  
Distribución de proteína antes y después de enriquecimiento con metionina de los hidrolizados

Fracción	% Proteína	
	UF celda	UF cartucho
FI +FII	52.3	55.7
FIII	25.1	9.0
FI-E+FII-E		23.6
FIII-E		28.5

En el procedimiento de enfriado y centrifugación inmediato a la hidrólisis, se recuperó sólo el sobrenadante conte-

niendo polipéptidos y otras moléculas solubles. Esto permitió la remoción de moléculas no proteicas ya que en la fracción de hidrólisis la concentración de proteínas aumentó a 59%, mientras la pasta contenía solo un 46%. Durante el proceso de ultrafiltración posterior a la síntesis, se removieron aún más moléculas no proteicas incrementando la concentración de proteínas en las fracciones del sintetizado hasta 82.4%.

Aunque se lograron concentraciones altas de proteína en las fracciones, el rendimiento total después de la síntesis fue bajo (52%), debido a que la quimotripsina induce parcialmente la hidrólisis y los péptidos menores de 1 kDa se pierden. Para fines de producción industrial se debe optimizar el proceso de acuerdo a la fracción proteica que se vaya a utilizar. Así por ejemplo, si se quiere producir una fórmula hipoalérgica, se debe obtener primordialmente la FIII-E, utilizar las otras fracciones para amortizar costos y sacrificar los péptidos menores de 1 kDa. Esto último, se podría mejorar si se desarrollan membranas de 500 Da de punto de corte para nivel industrial, porque la fracción de 500-1000 Da es también útil. Ya que actualmente se utiliza en forma industrial la hidrólisis enzimática, el proceso industrial es rentable. Por ello, también lo sería la síntesis enzimática que no requiere de infraestructura adicional y sólo aumenta ligeramente el tiempo de procesamiento.

### Propiedades funcionales

El comportamiento funcional de los polipéptidos está determinado por una serie de interacciones que relaciona a un conjunto de propiedades (1,28). Todas las fracciones menores de 10 kDa presentaron 100% de solubilidad a los pH ensayados (Figura 1). Es especialmente interesante este dato para el pH 7, que se aproxima al de las fórmulas infantiles (6,8), ya que el aislado de soya comercial -usado en las fórmulas infantiles- presentó sólo un 64.5% de solubilidad a pH 7. La solubilidad de la fracción FI-E>10 kDa fue 10% menor a pH 7 que las demás fracciones y el hidrolizado completo, pero mayor que la del aislado comercial. Las soluciones más turbias (Figura 2) las produjeron las fracciones con menor solubilidad; tal fue el caso de la FI-E>10 kDa con solubilidades bajas y valores de turbidez altos a los dos pH's.

Los polipéptidos deben ser solubles en fase acuosa para tener capacidad de espumado. Así, las moléculas se despliegan en la interfase, para formar capas cohesivas alrededor de las burbujas de aire. Tal fue el caso de la pasta y el aislado, con la solubilidad y espumado más bajas a pH 4 (Figura 3). Una excepción fue la FI>10 kDa con solubilidad 60% menor a pH 4 que a pH 7 y con espumado mayor ( $p < 0.05$ ) a pH 4. Incluso a un mismo pH, el comportamiento de las fracciones no fue homogéneo ya que en las de solubilidad igual a 100%, la capacidad de espumado varió. Por otra parte, los péptidos de mayor tamaño producen espumas más estables (9), una muestra fueron las FI>10 kDa y 10>FII>3 kDa, pero no la FI-E>10 kDa, debido a su baja solubilidad.

FIGURA 1

Solubilidad de la pasta, aislado comercial, hidrolizado y las fracciones de soja a pH 4 y 7

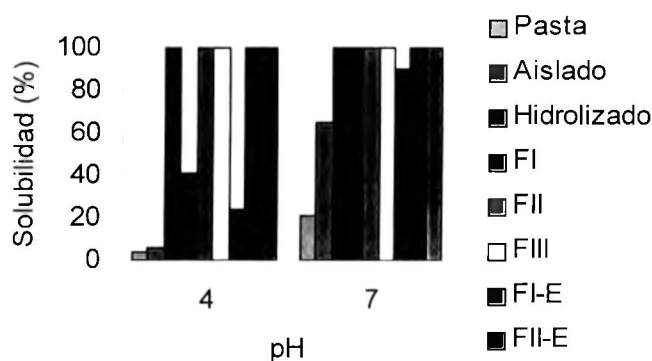


FIGURA 2

Turbidez del aislado, hidrolizado y fracciones de soja después de 30 minutos a pH 4 y 7

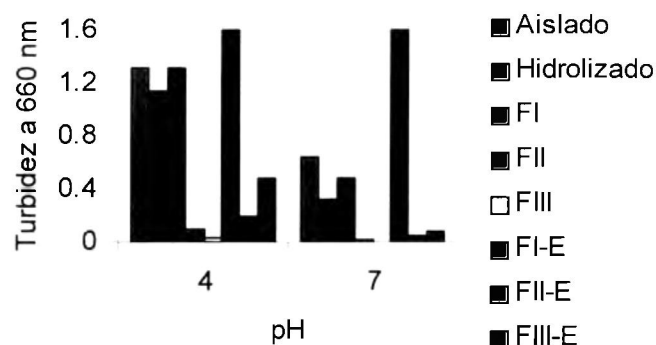
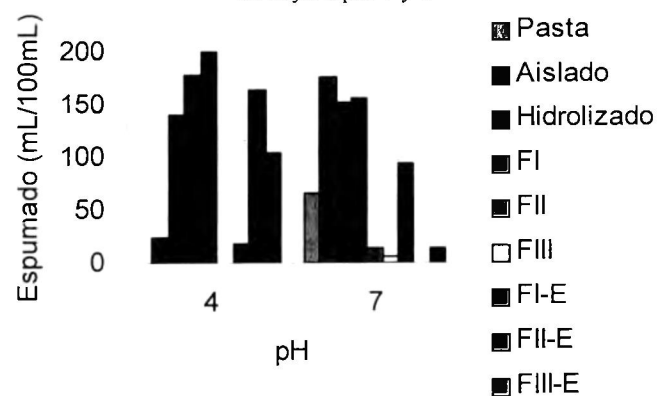


FIGURA 3

Espumado de la pasta, aislado, hidrolizado y fracciones de soja a pH 4 y 7

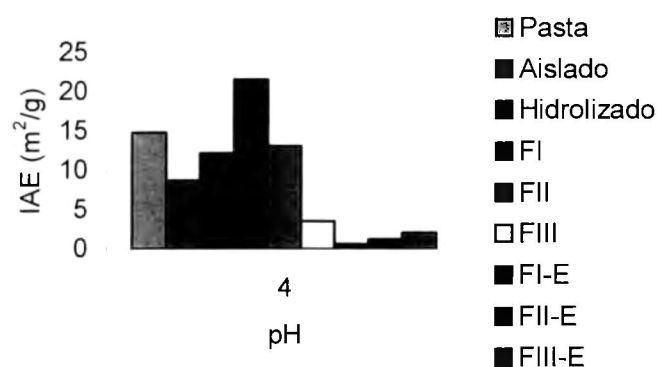


La solubilidad completa a estos pH's y buena claridad en general, hacen a las fracciones obtenidas aptas para bebidas fortificadas, como los suplementos para deportistas o ancianos (29, 1). Si se considera su buena capacidad de espumado, también es posible su uso en bebidas fortificadas para la población en general. Por otro lado, la buena actividad

emulsificante de la FI > 10 kDa (Figura 4), la hace apta para embutidos (29).

FIGURA 4

Índice de actividad emulsificante de la pasta, aislado, hidrolizado y fracciones a pH 7



### Composición de aminoácidos

La determinación del perfil de aminoácidos en una proteína ha sido utilizado como predictor del valor biológico. La Tabla 2 muestra los resultados de los aminogramas del hidrolizado y sus fracciones. El análisis estadístico mostró que el hidrolizado no fue diferente ( $p > 0.05$ ) de la proteína intacta (no mostrado). Las FI-E y FIII-E contenían suficiente metionina como para suplir los requerimientos de aminoácidos azufrados de los lactantes (4.3%), que con base en el patrón de la leche materna recomienda FAO/WHO. Así, la fracción FIII-E sería más adecuada que la leche de vaca en las fórmulas infantiles, ya que esta última contiene sólo 3.3% de aminoácidos azufrados (13). Para los demás grupos de edad la recomendación es de 2.5% y se satisface con el contenido de Met de la FII-E, ya que la Cys es más de 1% (25).

TABLA 2

Contenido de aminoácidos del hidrolizado y de sus fracciones antes y después de la incorporación de metionina (g/100 g proteína)

	Hidrolizado	FI	FII	FIII	FI-E	FII-E	FIII-E
Asp	11.28	11.80	10.96	10.59	8.58	8.95	13.13
Glu	18.78	22.55	19.48	18.45	17.30	21.14	27.36
Ser	3.78	4.27	3.35	3.76	2.78	2.71	3.71
His	2.57	2.04	2.43	2.86	1.54	1.944	2.47
Gli	4.34	5.88	4.54	6.02	5.10	5.52	5.78
Tre	4.71	2.61	3.48	4.78	3.80	2.46	4.85
Arg	6.88	6.80	6.54	4.79	4.23	3.53	4.73
Ala	4.33	4.41	4.74	6.37	4.43	3.44	5.69
Tir	3.25	2.78	2.53	2.23	1.82	1.50	1.80
Met	1.45	1.42	1.53	1.17	4.98	2.24	4.42
Val	5.38	5.32	5.16	4.95	5.95	4.13	6.53
Fen	5.18	5.66	5.85	4.76	4.54	1.95	4.00
Ile	4.84	6.23	4.52	4.42	5.74	4.25	6.13
Leu	7.24	9.45	7.63	6.74	8.42	5.03	7.47
Lis	6.19	7.85	7.36	6.73	4.62	5.34	6.27

### Evaluación de la calidad de proteína

La presencia y actividad de factores intrínsecos y extrínsecos en el tracto gastrointestinal, pueden modificar las expectativas del solo perfil de aminoácidos de una proteína, por ello se ensayaron una fracción de hidrólisis y la combinación de dos fracciones con síntesis, en ratas. Para comparación, se utilizaron caseína y un producto comercial, como fuente única de proteína.

En la Tabla 3 se presentan los indicadores de calidad proteica de las fuentes ensayadas. La FIIIa tiene péptidos de tamaño molecular pequeño (0.5-3 kDa), los cuales se absorben muy bien (32), aunque es deficiente en aminoácidos azufrados por lo que se le adicionó metionina libre. La combinación FI-E+FII-E, presenta péptidos de mayor tamaño (> 3kDa) que FIIIa, pero como están enriquecidos con metionina si cubren el requerimiento de aminoácidos azufrados. Así, se compensa un tratamiento con el otro para obtener indicadores de calidad proteica similares ( $p>0.05$ ).

TABLA 3

Digestibilidad verdadera (DV) y utilización neta de proteína (NPU) obtenido en ratas alimentadas con caseína (dieta control), Ensure<sup>®</sup> y dietas formuladas con las fracciones FIIIa y FI-E + FII-E.

Parámetro	Dieta Caseína	Dieta Ensure <sup>®</sup>	Dieta FI-E+FII-E	Dieta FIIIa
Digestibilidad Verdadera (%)	96.4 <sup>a</sup>	90.1 <sup>b</sup>	91.2 <sup>ab</sup>	93.5 <sup>c</sup>
NPU (%)	68.8 <sup>c</sup>	65.7 <sup>b</sup>	64.4 <sup>b</sup>	64.7 <sup>b</sup>

Diferentes letras por región, denotan diferencias significativas entre dietas ( $p=0.05$ ).

Como se observa en la Tabla 3, la digestibilidad aumenta gradualmente con la disminución del tamaño peptídico de proteínas de la misma fuente (30), aunque el NPU de cada proteína depende también del contenido de metionina enlazada covalentemente. Lo anterior se sustenta en el hecho de que FIIIa (menor tamaño) presentó mejor digestibilidad pero igual NPU que FI-E+FII-E (mayor tamaño). Por otra parte, aunque Ensure<sup>®</sup> mostró menor digestibilidad que las fracciones de soya ensayadas, contiene además del aislado de soya, caseinatos lo que explica su valor de NPU comparable al de las fracciones y ligeramente menor al de caseína ( $p<0.05$ ). Aunque en este estudio, no se compararon las fracciones de soya con su fuente original (pasta), sino con caseína, sus indicadores son mejores que los reportados para diversos productos de soya (31).

Se sabe que los padecimientos crónico-degenerativos que acompañan a las personas de la tercera edad, disminuyen su capacidad de absorción de nutrimentos. Por eso, se han diseñado para ellos formulaciones con proteínas modificadas,

oligopéptidos y aminoácidos libres (32); las fracciones obtenidas en este estudio, podrían ser una alternativa. Aunque ahora sólo se ha demostrado una calidad proteica comparable a la de la proteína del producto comercial de referencia, se sabe que los péptidos tienen mayor posibilidad de absorción que las proteínas integrales (30).

### Factores antifisiológicos

A la pasta de soya, hidrolizado y a las fracciones antes o después de enriquecimiento con metionina se les analizó actividad de lectina e inhibidor de tripsina, que están entre los factores antifisiológicos más comunes en la soya (31). En la Tabla 4 se muestra que la pasta de soya contenía 47 778 UIT (unidades de inhibidor de tripsina) por g de proteína, reduciéndose a un 15.3% de su actividad inicial en el hidrolizado y todavía poco más en las fracciones de síntesis (11.6, 8.4 y 7.5% en FI-E y FII-E y FIII-E, respectivamente). La mayor reducción de este componente antifisiológico fue para la fracción más pequeña sin enriquecer (FIIIa) con un título remanente del 2.5%. Así, en la proteína modificada con metionina existe una reducción de actividad en el orden del 90%, superior al 37% obtenido por Hajós et al. en un proceso similar.

TABLA 4

Factores antifisiológicos y antigenicidad.

Material	Inhibidor de tripsina <sup>a</sup> (UIT/g proteína)	Hemaglutinación <sup>b</sup> (TH)	Antigenicidad <sup>c</sup> (Título)
Pasta de soya	47 778	64	1
Hidrolizado	7 333	32	0.5
FI	ND	32	1
FII	ND	0	$1.9 \times 10^{-5}$
FIII	ND	0	$2.4 \times 10^{-6}$
FIIIa	1 186	0	$6.1 \times 10^{-7}$
FI-E	5 556	32	0.25
FII-E	4 000	0	$9.8 \times 10^{-6}$
FIII-E	3 571	0	$1.2 \times 10^{-6}$

a Unidades inhibitorias de tripsina/g proteína

b Inverso de la máxima dilución que mostró aglutinación

c Dilución de la proteína en la pasta de soya en la cual se obtuvo la misma absorbancia.

ND No determinado

La actividad residual del inhibidor de tripsina se atribuye al inhibidor de Kunitz que no se inactiva por completo durante una proteólisis limitada (33) y a la posible restitución de esta actividad a pH neutro o ligeramente alcalino (34), como el utilizado en el proceso de resíntesis. Es por ello, que en el trabajo de Hajós et al., hubo mucho menor reducción de esta actividad, ya que ellos solo hidrolizaron durante 2 h. Por otra parte, en los productos comerciales de soya que se usan en alimentos, los niveles de inhibidores de tripsina se reducen en un 80% en el extruido y 67 y 74% en concentrados y aislados de soya (35). Así, los hidrolizados (enriquecido o no) obteni-

dos en este estudio, tienen ventaja en este punto sobre los productos comerciales de soya que se utilizan para formular alimentos.

Con respecto a la actividad de lectina, el título de hemaglutinación de la materia prima (pasta) se redujo en un 50% en el hidrolizado y en las fracciones de mayor peso molecular (FI y FI-E). La actividad hemaglutinante se perdió por completo en todas las fracciones restantes (menores de 10 kDa). De acuerdo a Liener et al., el proceso de hidrólisis puede dejar actividad parcial de algunas lectinas, la cual puede reducirse o eliminarse por completo por medio del calor húmedo. Así, por procesos de pasteurización podría eliminarse cualquier actividad remanente de estas fracciones en una formulación industrial.

### Antigenicidad

Los títulos de antigenicidad para todos los materiales ensayados se muestran en la Tabla 4. En ella se observa una reducción de epítopes reconocibles por los anticuerpos-anti pasta de soya, al 50% en FI e hidrolizado y 75% para FI-E, habiendo eliminación casi completa de estos para todas las demás fracciones. La reducción del poder antigénico de todos los materiales fué proporcional a la disminución del tamaño peptídico. Además, todas las fracciones enriquecidas disminuyeron sus títulos en un 50-75% con respecto a sus fracciones homólogas sin enriquecer.

Halken et al., estudiaron un producto (Profylac®) etiquetado como hipoadérgico y basado en proteína del lactosuero, hidrolizada enzimáticamente y ultrafiltrada. Este producto contiene péptidos menores a 8 kDa, y su antigenicidad fue probada contra proteínas nativas del lactosuero, mostrando una reducción de la antigenicidad de 30 000 veces. La estimación teórica para una fracción peptídica similar en nuestro estudio (FII+FIII), es del mismo orden de magnitud. Por otra parte, Hussein et al., reportan una disminución del potencial antigénico de proteínas de leche de búfalo modificadas, dependiente del enriquecimiento con metionina. A un porcentaje similar de enriquecimiento al alcanzado en nuestro estudio (4.37%), ellos encontraron una reducción en el orden del 90% con respecto a la proteína intacta, siendo esta reducción casi total en nuestro caso. Esto demuestra que la modificación enzimática (hidrólisis y síntesis) y la UF son la combinación de métodos más eficiente para reducir el contenido de antígenos.

### Evaluación sensorial

Se seleccionaron 6 panelistas con la mejor capacidad de detección del sabor amargo, de acuerdo a los resultados de las pruebas triangulares. Su evaluación sensorial mostró que las fracciones FI-E y FII-E no son significativamente ( $p > 0.01$ ) diferentes entre sí, aunque la FI-E presentó un amargo menor ( $p < 0.01$ ) a la FII-E con respecto al estándar de cafeína al 0.07%, catalogado como "poco amargo".

De acuerdo a Deeslie y Cheryan, el sabor amargo se desarrolla en los productos de proteólisis limitada y luego

decrece en una etapa más extensiva. En este estudio, el hidrolizado inicial se clasificaría como moderado de acuerdo al grado de hidrólisis. Sin embargo, durante la síntesis, la hidrólisis continuó (aunque en menor grado). Ello porque se observó en el balance de masa (como proteína), que las dos fracciones de mayor masa se redujeron y aumentó la FIII-E a 19% con respecto a la FIII que era 9% del total.

La evaluación sensorial se realizó en el material proteico puro y no en productos formulados. Por ello, los demás componentes de los alimentos que contengan este material, podrían enmascarar totalmente el ligero sabor amargo. Tal es el caso de fórmulas líquidas para personas con problemas de mala absorción, que contienen saborizantes de vainilla, fresa, chocolate y nuez como el Ensure® o el Sustacal®. También las papillas para infantes pueden llevar saborizantes naturales, aunque estas serían formuladas con la FI-E que no presentó sabor amargo.

En conclusión, al realizar la hidrólisis y síntesis enzimáticas en forma secuenciada, se logró una verdadera modificación muy ventajosa en todas las propiedades proteicas. Se obtuvieron fracciones enriquecidas con metionina, en el menor tiempo y a una concentración de aminoácido añadido mínimos. Después de la ultrafiltración, todas las fracciones menores de 10 kDa (FIII, FIII-E, FII y FII-E) presentaron 100% de solubilidad a todos los pH's, más de 90% de claridad y regular capacidad espumante.

La FIII-E debido a la calidad nutricia de su proteína y a que no causa respuesta antigénica y no contiene factores antifisiológicos, puede utilizarse como única fuente de proteína para fórmulas infantiles hipoadérgicas. La FII-E suple los requerimientos de aminoácidos azufrados para niños y adultos y es adecuada para fórmulas fortificadas solubles y como única fuente de proteína en nutraceuticos. La FI se asemeja al aislado de soya comercial en sus propiedades funcionales y por ello, podría ser una alternativa para diversos productos que lo incluyen, a fin de amortizar los costos de producción. Por último, la FI-E debido a su alto contenido de metionina, a la estabilidad de su espuma, a su actividad emulsificante y nulo sabor amargo, puede ser una buena fuente de proteína para papillas infantiles.

Así, por medio de la modificación enzimática, se obtuvieron péptidos de tamaño definido, con concentraciones adecuadas de aminoácidos para los requerimientos del grupo etario al que van dirigidas. Estos presentan propiedades bioquímicas, funcionales, nutrimentales y sensoriales que permiten formulaciones nutritivas y agradables a los sentidos del consumidor. La unión covalente de la metionina evita el sabor desagradable que produce el añadirla en forma libre. También el definir el tamaño de los péptidos, por ultrafiltración fraccionada y no por lo extensivo de la hidrólisis enzimática, ayuda a controlar las propiedades. En esta forma se eliminan péptidos amargos, se mejoran la digestibilidad y absorción a nivel intestinal y se obtienen ventajas en funcionalidad.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la ayuda técnica de Francisco Vázquez en la cuantificación de aminoácidos por HPLC, Verónica Valdez en la extracción de enzimas pancreáticas y de J. René Valenzuela en los ensayos inmunoquímicos. Así mismo, se agradecen los atinados comentarios de los Drs. Mauro Valencia y Francisco Goycoolea durante la realización de los bioensayos y la parte tecnológica, respectivamente.

## REFERENCIAS

- Mahmoud M. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. *Food Technol* 1994;48:49.
- Hajós G, Gelencsér E, Grant G, Bardocz S, Sakhri M, Duguid TJ, et al. Effect of proteolytic modification and methionine enrichment on the nutritional value of soya albumins for rats. *J Nutr Biochem* 1996;7:481.
- Kasche V. Proteases in peptide synthesis. In: Beynon RJ, Bond JS, editors. *Proteolytic enzymes a practical approach*. England: Oxford University - IRL, 1990:125.
- Arai S, Yamashita M, Fujimaki M. Nutritional improvement of food proteins by means of the plastein reaction and its novel modification. In: Friedman M, editor. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. USA:Plenum, 1978:663.
- Halken S, Host A, Hansen L, Osterballe O. Safety of a new, ultrafiltered whey hydrolysate formula in children with cow milk allergy: A clinical investigation. *Pediatr Allergy Immunol* 1993;4:53.
- Rugo E, Wahl R, Whan U. How allergenic are hypoallergenic infant formulae. *Clin Exp Allergy* 1992;22:635.
- Calderón de la Barca AM, Ruiz Salazar RA, Jara MME. Enzymatic hydrolysis and synthesis of soy protein to improve its amino acid composition and functional properties. *J Food Sci*. In press.
- Parrado J, Bautista J, Machado A. Production of soluble enzymatic protein hydrolyzate from industrially deffated unhulled sunflower meal. *J Agric Food Chem* 1991; 39:447.
- Deeslie WD, Cheryan M. Functional properties of soy protein hydrolyzates from continuous ultrafiltration reactor. *J Agric Food Chem* 1988; 36:26.
- Li-Chan E, Nakai S, Wood DF. Hydrophobicity and solubility of meat proteins and their relationship to emulsifying properties. *J Food Sci* 1984; 49:345.
- Vázquez OF, Caire G, Higuera I, Hernández G. High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *J Liquid Chromatogr* 1995; 18:2059.
- Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 15th. Edited by Kenneth Helrich; Virginia 22201. USA, 1990.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations and WHO. World Health Organization. 1991. Protein Quality Evaluation. Report of the joint expert consultation. Rome: 4-8, December 1989. FAO Food and Nutrition Paper 51.
- NCSS. Number Cruncher Statistical Systems (computer program). Statistical System for windows, version 6.0. USA:Hintse JL. 1996.
- AACC. American Association of Cereal Chemists Inc. Approved methods committee. Compilers. *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*. Method 71-10: Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. St. Paul(MI): American Association of Cereal Chemists, 1976.
- Allen AK, Neuberger A, Sharon N. The purification, composition and specificity of wheat germ agglutinin. *Biochem J* 1973; 131:155.
- Jurd RD, Bog-Hansen TC. Production of polyvalent antibodies for immunoelectrophoresis. In: Hames BD, Rickwood D. Eds. *Gel electrophoresis of proteins. A practical approach*. New York: Oxford university-IRL press 1989; 366.
- Chu NM, Janckila AJ, Wallace H, Yam L. Assessment of a method for immunochemical detection of antigen on nitrocellulose membranes. *J Histochem Cytochem* 1989; 37:227.
- González CAF, Calderón de la Barca AM, Cota M, Vallejo CB. Detección inmunoquímica de la adulteración de chorizo de cerdo con proteínas de soja. *Food Sci Technol International* 1998; 4:257-262.
- Pedrero D, Pangborn R. Evaluación sensorial de los alimentos. 1 Ed. México:Alhambra Mexicana, 1989.
- Avena BR, Cano MD. Guía para la selección y entrenamiento de jueces analíticos. *Industria Alimentaria* 1996; 4:20.
- Jellinek G. Sensory evaluation of food. USA: Ellis Horwood, 1989.
- Addler-Nissen. Some fundamental aspects of food protein hydrolysis. A review of food protein hydrolysis. *Methods in Food protein hydrolysis*. In: Addler-Nissen. *Enzymic hydrolysis of food proteins*. London: Elsevier Applied Science Publishers. 1986: 9,57,110.
- Lozano P, Combes D.  $\alpha$ -Chymotrypsin in plastein synthesis. Effect of Hydroxylated additives on enzyme activity. *Appl Biochem Biotechnol* 1992; 33:51.
- Bressani R. The role of soybeans in food systems. *JAOCS* 1981; 58:392.
- Hussein S, Gelencsér E, Hajós G. Y. Reduction of allergenicity and increasing biological value of buffalo's milk proteins by enzymatic modification. *J Food Biochem* 1995; 19:239-252.
- Ena JM, Van BE, Robben A, Schmidt D. Whey protein antigenicity reduction by fungal proteinases and pepsin/pancreatin combination. *J Food Sci* 1995; 48:1315.
- Zhu H, Damodaran S. Heat-induced conformational changes in whey protein isolates and its relation to foaming properties. *J Agric Food Chem* 1994; 42:846.
- Lahl WJ, Braun SD. Enzymatic production of protein hydrolyzates for food use. *Food Technol* 1994; 48:68.
- Boza JJ, Jiménez J, Martínez O, Suárez M, Gil A. Nutritional value and antigenicity of two milk protein hydrolyzates in rats and guinea pigs. *J Nutr* 1994; 124:1978.
- Liener IE. Implication of antinutritional components in soybean food. *Cri Rev Food Sci Nutr*. 1994; 34:31.
- Ziegler F, Ollivier JM, Cynober L, Masini JP, Coudroy-Lucas C, Levy E, et al. Efficiency of enteral nitrogen support in surgical patients: small peptides vs non-degraded proteins. *Gut* 1990; 31:1277.
- Vaintraub IA, Yattara HB. Proteolysis of Kunitz soybean trypsin inhibitor. Influence on its activity. *J Agric Food Chem* 1995; 43:862.

34. Koide T, Ikenaka T, Ikeda K, Hamaguchi K. Studies on soybean trypsin inhibitors. IX. Reconstitution of an active derivative from two inactive fragments and the contribution of tryptophan-93. *J Biochem* 1974; 75:805-823.
35. Rackis JJ. Biological active componentes In: Smith S.C. eds. *Soybean: Chemistry and Technology*. v. 1 Proteins. Connecticut: Westport. Avi Publishing 1980; 158.

Recibido: 29-06-1999

Aceptado: 10-12-1999

## Evaluación de los efectos de un programa de desayunos escolares en atención y memoria

*José Angel Vera Noriega, Sandra Elvia Domínguez Ibáñez, Martha Olivia Peña Ramos, María Martha Montiel Carbajal*

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. , Hermosillo, Sonora, México

**RESUMEN.** Con el objeto de evaluar el impacto de un programa de desayunos escolares en el Estado de Sonora, se llevó a cabo un estudio en 4 municipios en pobreza extrema. Trescientos niños recibieron desayuno en 12 escuelas de 3 municipios y 150 del tercer grado de preescolar de 4 escuelas no recibieron desayuno. Se aplicaron pruebas de atención, memoria y cognición antes de iniciar y al terminar el programa. Los resultados indican que el grupo que recibió desayunos mejoró significativamente sus velocidades de respuesta y ejecuciones correctas en las tareas. El grupo sin programa se mostró al inicio con velocidades y ejecuciones muy por arriba del que recibió desayunos, sin embargo, hacia el final del programa las ejecuciones de los niños con desayunos fueron parecidas a las del grupo sin programa. Al iniciar el ciclo escolar no se encontraron diferencias por municipio, pero los tiempos de elección y las velocidades de carrera al finalizar el programa presentaron diferencias significativas para las escuelas. El programa impacta de la misma forma las velocidades de respuesta independientemente de la condición social, sin embargo, esta variable afecta diferencialmente el número de ejecuciones correctas en reproducción y selección de estímulos. El programa de desayunos beneficia al niño, pero su impacto se distribuye de manera diferencial mejorando los repertorios de conducta dependiendo de la vulnerabilidad del grupo de referencia.

**Palabras clave:** Desayunos escolares, atención-memoria, preescolares rurales.

**SUMMARY.** Evaluating the effects of a school breakfast program on attention and memory. The purpose of the study was to evaluate the impact of a school breakfast program in Sonora, Mexico. The study was conducted in four counties classified as extremely poor. Three hundred children from twelve schools pertaining to three counties under research received a school breakfast; one hundred and fifty children from four schools pertaining to a fourth county did not receive school breakfast. Children were four to six years old. Attention, memory and cognition tests were applied before and after the program.

Results showed an improvement for those groups receiving the breakfast program, specially on response speed and behavior executions. Group without breakfast showed better results on the pre-test, nevertheless, on the post-test, performances in both groups appear the same. At the beginning of school courses any county was different, but speed in selection and running show significant differences for the schools. The program shows similar results on response speed, no matter social condition, nevertheless, program differentially affects the number of correct behavior executions on stimulus selection and reproduction. The breakfast program benefit children, but its effects are differentially distributed improving behavioral, repertories depending of children's group vulnerability.

**Key words:** School breakfast, attention-memory, rural preschoolers.

### INTRODUCCION

De acuerdo a los estimados actuales el 70% de la mortalidad infantil en el mundo en desarrollo es debida a cinco condiciones generales: enfermedades diarreicas, enfermedades respiratorias agudas, malaria, sarampión y desnutrición (1). Existe evidencia de que la desnutrición, aún de manera moderada, puede incrementar la probabilidad de muerte para un buen número de enfermedades y posiblemente esté asociada a la mitad del total de la mortalidad infantil (2). Esto hace de la desnutrición uno de los problemas de primer orden en Atención Primaria en Salud para los países del mundo en desarrollo.

La investigación actual acerca los efectos del desayuno sobre el comportamiento supone dos mecanismos biológicos que operan simultáneamente; uno implica cambios metabólicos y neuro hormonales asociados con la suplementación inme-

diata de energía y nutrientes al cerebro; el otro implica la contribución constante del desayuno para el estado general de salud del niño (3). Este segundo mecanismo es importante para aquellos niños que no cumplen con las recomendaciones en los consumos diarios de su dieta. El incluir una porción adicional de proteína, energía, carbohidratos y micronutrientes puede mantener un buen estado nutricional y prevenir problemas cognoscitivos relacionados con deficiencias de micronutrientes (4). Sin embargo, es necesario subrayar que el estrés asociado con la privación nocturna y matinal de alimentos y su efecto sobre la cognición es diferente si el niño ha presentado desnutrición aguda en el pasado o recientemente (5). De los datos existentes en la actualidad provenientes de estudios acerca de la eficacia de los programas de desayunos escolares sobre el desarrollo cognoscitivo, Pollitt, (3) señala que el consumo de desayunos ha impactado positivamente en la mayoría de los estudios de evaluación, particularmente el

trabajo en pruebas de memoria y la fluidez verbal o vocabulario. En un estudio llevado a cabo en Jamaica (6) y otro en Perú (7) se ha corroborado que el impacto del desayuno sobre escolares de 9 a 11 años mejora la memoria a corto plazo y la conducta verbal.

En 1995 el Gobierno del Estado de Sonora México, implementó un programa de desayunos escolares dirigido a áreas rurales e indígenas en pobreza extrema con la intención de mejorar el estado nutricional de los niños preescolares de 4 a 6 años.

El estudio que se llevó a cabo tuvo como objetivo evaluar el impacto de un programa de desayunos sobre algunas habilidades cognitivas con poblaciones en pobreza extrema sin desnutrición aguda en el pasado remoto y reciente.

## METODO

**Población:** Para evaluar el efecto del desayuno escolar en la zona rural del Estado de Sonora México se consideraron aquellos municipios que han sido identificados por un alto nivel de pobreza (8). De los listados de 16 escuelas preescolares se seleccionaron al azar 300 niños que recibieron el programa de desayunos; y de cuatro escuelas adicionales se eligieron a 150 niños que no se beneficiaron de éstos.

El criterio para la selección de las escuelas fue el siguiente: a) pertenecer a la zona definida en pobreza extrema; b) estar inscrito en el ciclo 1996-1997 de educación preescolar; c) asistir regularmente; d) tener consentimiento de los padres para participar; e) tener una edad de 4 a 6 años; f) no haber tenido desnutrición aguda en el pasado.

Los grupos que recibieron programa corresponden a los municipios de: Tesopaco (escuelas 1 a 4), Quiriego (escuelas 5 a 7), y Alamos (escuelas 8 a 11) y los grupos que no recibieron programa pertenecen al municipio de Etchojoa (escuelas 13 a 16).

**Composición del desayuno:** Los menús quedaron formulados y balanceados de acuerdo a las recomendaciones internacionales para la distribución de la energía proveniente de proteína (10-15%), grasa (<30%) y carbohidratos (55-60%). Con lo anterior se alcanzaba un aporte del 24% de energía de la recomendación (9), equivalente a 4445 kCal. Con respecto al aporte de vitamina A esta cumplió con el 30% de la recomendación para los escolares y 46% para preescolares. En cuanto a hierro se encontró que los menús proporcionaron del 57 al 89% de la recomendación. A los preescolares se les ofreció leche (250 ml.), cereal (30 gr.) y galletas (30 gr) que variaban en su sabor o presentación en el tiempo (9).

## Medidas

### Pruebas de evaluación cognoscitiva

Se utilizó el procedimiento de discriminación condicional (11) para medir cambios en la respuesta de selección por

efecto de demoras interpuestas entre un estímulo selector y nueve de comparación.

Las demoras utilizadas fueron cero segundos en la primera elección, siete segundos en la segunda elección y quince segundos en la tercera elección para seleccionar el estímulo, según las dos dimensiones (figura y color) manejadas en los reactivos. Se tomó en consideración dos aspectos de la respuesta del sujeto: la latencia y la ejecución de la respuesta correcta e incorrecta. La memoria visual fue evaluada de dos formas: a través del tiempo de ejecución de una tarea de imitación de dos figuras trazadas en el aire por el evaluador (caracol y m patona). Se midió el tiempo transcurrido desde que el niño colocaba el lápiz sobre el papel hasta que terminaba el trazo. La adecuación del trazo (correcto e incorrecto) se evaluó según su correspondencia con el estímulo muestra. Para memoria auditiva siete palabras fueron escuchadas por el niño (silla, mesa, piedra, árbol, casa, carretera, flor) midiendo las recordadas y repetidas sin problemas de pronunciación. Para conducta verbal, sólo se atendió a la pronunciación, para lo cual, se utilizaron 10 palabras complejas como: cosmopolitanismo, sardanápalo, ingrediente, etc. Se computó el total de palabras bien pronunciadas. Para evaluar la sincronía de los movimientos motores gruesos se midió el tiempo de ejecución de una carrera partiendo de la posición de pie y una segunda carrera partiendo de la posición supina en una distancia de 15 metros.

### Evaluación antropométrica

La medición de peso y talla se llevó a cabo por dos personas, una que medía y otra que anotaba, quienes se alternaban con sus labores; ambas personas fueron entrenadas y estandarizadas antes del inicio del estudio. Las mediciones se tomaron dentro de las escuelas. Para la medida de peso se utilizó una balanza electrónica digital con capacidad de 0 150 + 0-50 kg. Para la talla se utilizó el estadiómetro Holtain de 2.05 + 5 x 10<sup>4</sup> mts. La talla fue tomada siguiendo la técnica de Jelliffe (12) y Jelliffe (13).

Para la evaluación de peso para la edad (p/e), talla para la edad (t/e) y peso para la talla (p/t) se utilizaron los valores recomendados por la organización mundial de la salud (OMS) que corresponden a los de NCHS de Estados Unidos (14).

Los niños fueron evaluados antes y después del programa con un tiempo entre mediciones de 8 meses. Diez psicólogos capacitados y entrenados obtuvieron las medidas de desarrollo cognitivo, seis nutriólogos adiestrados y estandarizados tomaron las medidas antropométricas.

## RESULTADOS

### Estado nutricional de la población

En el diagnóstico antropométrico (15) se pudo apreciar que hubo diferencias de peso y talla en los niños de las comunidades más pequeñas y más pobres, tomando como base los puntajes z de los indicadores de peso para la edad y

talla para la edad. En este sentido, los municipios con mayores niveles de marginación, mostraron que hacia el interior, existen comunidades diferenciadas y más pobres que otras, lo cual se manifestó en el estado de nutrición de los niños debido a que el puntaje z para talla/edad fue -.52 para las más marginadas y de -.019 para las menos marginadas (Cuadro 1). De igual forma este comportamiento se reflejó en peso/edad que fue de -.12 y +0.19 respectivamente. Por otra parte, en ambos tipos de comunidades al final del programa de desayunos escolares, hubo un desplazamiento de los valores hacia la norma (puntuación z cero o ideal) aunque el caso de las comunidades menos marginadas, ya de inicio estaban en el lado positivo y se desplazaron más arriba (de +0.19 a +0.25). Como se puede observar, según medias de peso y talla para la edad no se encontraron niños con desnutrición moderada o severa, según la clasificación de Waterlow, Buzina, Keller, Lane, Nichamán y Tanner (16).

CUADRO 1  
Estado nutricional en comunidades con diferentes niveles de marginación

Comunidades*	Puntaje Z de indicadores			
	Talla/edad		Peso/edad	
	Inicio	Final	Inicio	Final
Más marginadas (n=90) Nuri, La Estrella, Cedros, Tepahui, Goyjaquía y Cabora	-0.52	-0.39	-0.12	-0.05
Menos marginadas (n=260) Alamos, Mocúzari, Tesopaco, Quiriego, Etchojoa, Bacobampo	-0.19	-0.12	+0.19	+0.25

\*Diferencia por nivel socioeconómico  $p < 0.01$

### Comparación entre el grupo con programa y el grupo sin programa

Como puede observarse en la Tabla 1 se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para todos los reactivos antes y después del programa de desayunos para los indicadores de tiempo, excepto en el número de palabras recordadas y repetidas y el tiempo de la segunda elección.

Para el grupo sin programa o de comparación las velocidades de respuesta mejoraron significativamente en la carrera de pie y supina, tareas de recuerdo y repetición (Tabla 1).

Al comparar los grupos, la ejecución final del grupo que recibió el programa presenta en su post prueba velocidades de respuesta en tareas de cognición que son muy parecidas a la pre prueba del grupo sin programa. Una comparación t de student entre la postprueba del grupo con programa y la pre prueba del grupo sin programa, indica que no existe alguna diferencia estadísticamente significativa entre ambas puntuaciones (Tabla 1).

Por otro lado, la comparación inversa, preevaluación del grupo con programa versus post evaluación del grupo sin programa resulta en diferencias significativas muy importantes en favor de este último grupo (Tabla 1).

Lo anterior indica que en la evaluación inicial el grupo de comparación tenía un mejor nivel de ejecución en las tareas de cognición y lenguaje, no así en los de carrera, por lo cual, el impacto del programa de desayunos tiende a minimizar estas diferencias y ubicar a los niños más desprotegidos al nivel de otros con más fuentes de estimulación.

En las comparaciones para las ejecuciones (Tabla 2) todas indican cambios en la ejecución en forma de abanico: muy abiertas en la pre evaluación del programa para las puntuaciones de los dos grupos y cerrados al terminar el programa, con grandes cambios significativos para el grupo con desayunos en todas las ejecuciones y sólo en algunas ejecuciones para el grupo sin desayunos.

TABLA 1  
Resultados de los contrastes prueba t de student de los indicadores de tiempo para las evaluaciones antes y después en los grupos con (n=284) y sin (N= 152) programa

	Pre con programa post con programa	Pre sin programa post sin programa	Pre con programa post sin programa	Post con programa pre sin programa
Tiempo en segundos	Valor t	Valor t	Valor t	Valor t
Primera elección	1.95*	1.85	2.86**	0.68
Segunda elección	0.16	0.7	0.18	0.57
Tercera elección	4.28**	1.44	2.89**	0.11
Caracol	3.58*	1.27	3.78***	0.71
M patona	4.40**	0.01	3.25**	0.89
Palabras recordadas	0.48	2.91*	2.81**	1.24
Bien repetidas	4.70	3.65**	3.65***	1.92
Carrera de pie	7.84**	1.91*	5.14***	0.93
Carrera supina	5.64**	2.48**	2.96**	0.47

\*p = .05; \*\*p = .01; \*\*\* p = .000

En síntesis y con relación a los efectos globales del programa podemos anotar que los niños que recibieron desayuno mejoraron sus tiempos de reacción y sus ejecuciones en tareas cognoscitivas y verbales de manera estadísticamente significativa, pero estos cambios no les hacen diferentes al final del programa de un grupo de comparación, que desde el inicio muestra ejecuciones significativamente mejores al grupo con programa.

Debe anotarse que el grupo control ilustra el efecto de la variable maduración durante el tiempo del programa, por lo que se podría decir que el impacto fundamental del programa de desayunos fue equilibrar el proceso de desarrollo del niño, dando a los niños desventajados el mismo nivel de posibilidades cognitivas y verbales que a un niño con mejores condiciones de estimulación.

TABLA 2  
Resultados de los contrastes de *Ji* cuadrada de los indicadores de ejecución para las evaluaciones antes y después en los grupos con (n=284) y sin (n=152) programa

	Con programa vs post sin programa	Pre sin programa vs post sin programa	Pre con programa vs post sin programa	Pre sin programa vs post con programa
Tiempo en segundos				
Primera elección	8.53*	1.29	15.46*	0.34
Segunda elección	7.25*	1.80	11.30*	0.59
Tercera elección	2.63*	13.6*	26.61*	0.01
R. área caracol	74.59*	58.35*	52.89*	77.52*
R. textual caracol	76.55*	24.03*	46.93*	39.36*
R. área M patona	18.63*	19.01*	26.52*	11.34*
R. textual M patona	11.60*	3.42	32.86*	0.88

Valores significativos menores al .05

### Comparaciones por escuela edad y sexo

Partiendo de un análisis de los indicadores socioeconómicos de las comunidades en las cuales se encuentran las escuelas se decidieron como las más marginadas aquellas en las cuales las familias subsisten de la caza y la recolección de alimentos, con un ingreso menor o igual a un salario mínimo (menos de 100 dólares al mes). En este rubro ubicamos a las familias de los niños de Cabora, Nuri, Cedros, Goyjoquía, Tepahui y la Estrella. En las menos marginada tenemos al Quiriego, Alamos, Mocuzari, Tesopaco y las Minutas en donde las familias de los niños perciben entre de uno a dos salarios mínimos al mes.

Considerando sólo los datos de post evaluación del grupo con programa se llevó a cabo un análisis de varianza de una sola vía de efectos fijos reactivo por reactivo para los factores edad, (4 años vs 5 y 6 años) escuela y sexo (niños vs niñas). Se utilizó una prueba post - hoc Sheffé para observar a que grupo de comparación se debía la diferencia resultante. En un análisis de varianza múltiple no se observaron efectos interactivos significativos entre los factores, pero si al interior de cada factor.

Como se ilustra en la Tabla 3, la latencia de respuesta en la tarea de discriminación condicional y la velocidad de carrera es significativamente distinto para las escuelas. Las escuelas más marginadas presentan medias significativamente mayores (4.13 seg) a las escuelas menos marginadas 81.30 seg) en la elección con demora 0. Para la demora 7 en las escuelas más marginadas presentaron latencias de respuesta

mayores (5.68 seg) que las escuelas menos marginadas presentaron tiempos más cortos (3.95 seg/15mts), que los de las escuelas más marginadas (5.4 seg/15mts). En la velocidad de carrera partiendo en posición supina las escuelas más marginadas presentaron una media de 7.3 seg/15mts distinto significativamente al 5.69 de las escuelas menos marginadas.

La comparación por edad presenta a los niños de 4 años con una latencia de respuesta de 2.3 segundos en la elección con demora cero, diferente significativamente de los niños de 6 años con una media de 1.35. En el caso de la velocidad de carrera partiendo de pie y en posición supina fue siempre mayor para los niños de 4 años (4.94 y 6.57) que para los de 5 y 6 años (4.51 y 5.98). Los niños de 4 años repitieron menos palabras que los mayores.

Para la comparación por sexo, en la velocidad de carrera, tiempo de reproducción textual del caracol y el número de palabras bien recordadas en todos los casos las niñas fueron más veloces que los niños.

Para comparar el efecto de estos tres factores para las ejecuciones correctas en los reactivos de discriminación y reproducción aérea y textual del caracol y la M mayúscula se llevó a cabo una prueba Kruskal-Wallis que es un análisis de varianza no paramétrico para muestras independientes (17). Se encontró que la reproducción aérea y textual del caracol son diferentes significativamente por escuela. La diferencia se centra en las escuelas "más marginadas que obtienen rangos medios muy por abajo de las escuelas "menos marginadas con una *Ji* cuadrada de 24.49 ( $p = .01$ ) para la reproducción aérea

y de 30.29 ( $p=.001$ ) para reproducción textual. Una diferencia significativa se observa también para la tercera elección demora de 15 segundos, el rango medio fue significativamente distinto de la escuela "más marginadas con una *Ji* cuadrada de 30.5 ( $p=.001$ ).

TABLA 3

Resultados del análisis de varianza para cada uno de los indicadores de tiempo por reactivo del grupo con programa en la evaluación final comparando los factores edad, escuela y sexo

	Escuela Valor F	Edad Valor F	Sexo Valor F
Primera elección	3.45***	4.30**	.23
Segunda elección	3.03***	1.26	.46
Tercera elección	.509	.415	1.09
Caracol	1.25	.300	6.15**
M patona	.726	3.08*	1.33
Palabras recordadas	1.47	2.29	10.95***
Bien repetidas	1.97	4.00**	3.59
Carrera de pie	9.88***	5.68**	15.01***
Carrera supina	4.12***	7.23***	12.52***
gl	11/242	21/209	1/252

$n=253$ ; \* $p=.05$ ; \*\* $p=.01$ ; \*\*\* $p=.000$

Para las comparaciones de los efectos por sexo no hubo ninguna diferencia significativa. Para las comparaciones por edad de los efectos sobre las ejecuciones, el grupo de niños de 4 años resultó con rangos medios significativamente más bajos que los de 5 y 6 años en las elecciones de 0, 7 y 15 segundos de demora con una *Ji* cuadrada de 5.7 ( $p=.05$ ), 6.4 ( $p=.04$ ) y 7.5 ( $p=.02$ ).

En la Tabla 4 se comparan las medias de ejecución de los grupos con mayor y menor marginación, para cada reactivo antes y después del programa. Observando los reactivos que resultan con diferencias significativas en sus medias antes y después del programa podemos afirmar que el efecto es similar en el tipo de reactivo y en la intensidad del efecto independientemente de su nivel de pobreza.

Por otro lado, se puede apreciar en la Tabla 5 que las ejecuciones correctas antes y después del programa de desayunos son impactadas de manera diferencial dependiendo del nivel que ocupe el niño dentro de los límites de la pobreza extrema. Como se observa las ejecuciones en los niños del nivel bajo mejoran sólo memoria visual con el estímulo caracol y la primera elección y además comparado con el grupo de nivel medio este cambio es menor. Se debe apreciar que los niños de nivel medio mejoraron significativamente en ejecuciones en todos los reactivos además de la memoria visual y textual.

TABLA 4

Comparación pre - post evaluación para el grupo con desayunos en los indicadores de tiempo comparando dos niveles de pobreza extrema

Reactivos	Más marginada t	Menos marginada t
Primera elección	.50	1.90
Segunda elección	.85	.54
Tercera elección	.10	.44
Caracol	2.67**	6.53***
M patona	3.00***	3.89***
Palabras recordadas	.31	.56
Bien repetidas	.00	.65
Carrera de pie	5.50***	7.27***
Carrera supina	3.29***	5.24***
Número de niños	72	133

t = Valor t de student  $p=$  probabilidad; \* $p \leq .05$ ; \*\* $p \leq .01$ ; \*\*\* $p \leq .00$

TABLA 5

Valores de *Ji* cuadrada para la pre y post evaluación en el grupo con programa comparando dos niveles de pobreza extrema

Reactivos	Bajo	Medio
Primera elección	4.36*	5.08*
Segunda elección	1.84	5.07*
Tercera elección	.035	1.06
R. aérea caracol	11.10*	44.86*
R. textual caracol	7.92*	43.60*
R. aérea M patona	0.38	13.18*
R. textual M patona	.015	8.06*
Número de niños	74	128

Valores significativos menores al .05

## DISCUSION

Basados en el modelo estructural-conductual de Horowitz (18) se sustenta que las medidas de ejecución cognoscitiva no son sensibles a los efectos de riesgo biológico tales como la malnutrición. Similarmente Connolly y Kvalsvig (19) concluyen que los problemas biológicos afectan de manera fundamental los procesos cognoscitivos elementales al impactar la eficiencia con la cual se llevan a cabo. Dado que no existen teorías en la actualidad que vinculen una deficiencia nutricional particular con un proceso específico cognoscitivo, la selección de los reactivos de la prueba se decidió empíricamente, siguiendo algunos datos de estudios anteriores acerca del impacto sobre la conducta cognoscitiva y motora de los desayunos escolares (7).

Los reactivos además de su pertinencia probada en otros estudios deberían ser fáciles de aplicar, simples de instrumentar,

rápidos para evaluar y con algunas suposiciones sobre su sensibilidad y precisión dentro de la cultura y grupo social, además que se vincularan con las habilidades del preescolar posibles para el momento de desarrollo psicológico.

Uno de los resultados más importantes según datos presentados se refiere al impacto del desayuno en niños de familias en condiciones de mayor marginación. Tal y como se observa, aún cuando no existe un impacto diferencial sobre la velocidad de respuesta, el efecto sobre la ejecución es a simple vista más importante en niños menos marginados.

Las escuelas de Cabora, La Estrella y Cedros, Goyjoquía y Nuri ubicados en la sierra del sur del Estado de Sonora muestra atraso educativo, económico y de servicios. Las inasistencias y la falta de conocimientos de la problemática que enfrentan los niños para asistir y aprender en la escuela se debe a la poca permanencia del maestro en estas comunidades con menor desarrollo social y económico.

Condicionado por el tipo de tareas y su ajuste a la edad, los niños de 4 años resultan evidentemente con tiempos más largos de latencia y duración de respuesta. La diferencia fundamental se encuentra en la reducción significativa que los niños de 4 años tienen en la velocidad de respuesta para reproducir un caracol y una M de forma textual, comparado con los de 5 y 6 años. En ejecución, los niños pequeños tienen menor número de respuestas correctas en la tarea de discriminación condicional con los tres tipos de demora.

Por las comparaciones establecidas el reactivo más sensible al programa de desayunos es el de carrera, porque no es dependiente de atención, memoria, actividad sensorial o algún otro criterio de ejecución que no sea la motricidad gruesa.

Así pues, todo aquel repertorio que requiera un sistema reactivo perceptual, atento o discriminativo dependerá del nivel de complejidad cognoscitiva que requiera su solución, para que sea más o menos sensible al programa, de tal forma, que los repertorios que no requieran de la integración y especialización de los sistemas motores, sensoriales, atentos y discriminativos serán los más afectados.

Como se observa en niños de 4 a 6 años sin desnutrición previa, el desayuno modifica velocidades de carrera y ejecuciones de memoria a corto plazo, sin embargo, las ejecuciones de conducta verbal no presentan mejoras significativas en ninguno de los grupos y comparaciones antes y después del desayuno. Esta diferencia con los estudios anteriores (6,7) se debe posiblemente a que la población que se estudió en Perú y Jamaica eran niños con 3 y 4 años de permanencia en la escuela, mientras nuestra población además de tener la mitad de la edad asistía por primera vez a un centro escolar. Recordar palabras asociadas a un concepto o utilizar palabras para describir un episodio impreso, son ejercicios muy frecuentes en educación básica pero ausentes en el hogar. El vocabulario de un niño de 5 años en tamaño y complejidad es muy reducido comparado con el de un niño de 9 a 11 años. La repetición y recuerdo de palabras es una tarea muy sencilla para un niño de 9 a 11 años pero compleja para los preescolares.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Secretaría de Educación y Cultura (SEC) y al Sistema Nacional de Desarrollo Integral para la Familia (DIF) el apoyo financiero otorgado para la realización de este estudio.

## REFERENCIAS

1. Sanghvi T y Murray J. Improving child health through nutrition: the nutrition minimum package. Arlington, Va.: Basic Support for Institutionalizing Child Survival (BASICS) Project, for the U.S. Agency for International, 1997.
2. Pelletier DL, Frongillo EA, Habitch JP. Epidemiological evidence for a potentiating effect of malnutrition on child mortality. *Am J Public Health*. 1983; 83:1130-1133.
3. Pollitt E. Does breakfast make a difference in school? *J Amer Dietetic Assoc*. 1995;95:10,1134-1139.
4. Pollitt E, Saco-Pollitt R, Leibel F, Viteri E. Iron deficiency and behavioral development in infants and preschool children. *Amer J Clin Nutr*. 1986;43,555-565.
5. López I, De Andraca I, Perales CG, Heresi E, Castillo M, Colombo M. Breakfast omission and cognitive performance of normal, wasted and stunted school children. *Eur J Clin Nutr* 1993;47,533-542.
6. Chandler AM, Walder SP, Connolly K y Grantham-McGregor SM. School breakfast improves verbal fluency in undernourished Jamaican children. *Community and International Nutrition*. American Institute of Nutrition. 1995; 894-899.
7. Pollitt E, Jacoby E y Cueto S. School breakfast and cognition among nutritionally at risk children in the Peruvian Andes. *Nutr Rev*. 1996; Vol. 54:4, S22-S26.
8. Camberos M, Genesta MA y Huesca L. La pobreza en Sonora: los límites a la modernización. *Revista de Estudios Sociales*. 1994;15: 9, 167-197.
9. *Recommended Dietary Allowances*. 10th. edition. Washington D.C. National Academy Press. 1989.
10. Grijalva-Haro, M I. Evaluación del impacto del programa de desayunos escolares. Proyecto de Investigación. Secretaría de Educación y Cultura. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., 1996.
11. Cumming W y Berryman R. Algunos datos sobre la conducta de igualación del pichón. En Catania, Ch. (Ed.) *Investigación Contemporánea en Conducta Operante*. Segunda Reimpresión. México, Ed. Trillas, 1976;218-221.
12. Jelliffe DB. The assessment of the nutritional status of the community. Monograph Series N° 53. Geneva; World Health Organization, 1966.
13. Jelliffe DB. Child nutrition in developing countries. A handbook of field workers (revised edition). Washington D.C. US Government Printing Office 1969.
14. NCHS-ANTHRO. Versión 1.01. Anthropometry Software Nutrition. CDC & WHO. Dec. 1990.
15. Valencia M y Grijalva I. Proyecto Evaluación de un Programa de Desayunos Escolares en Zonas Rurales del Estado de Sonora. Reporte Técnico DN-DNH-002/97. Centro de Inves-

- tigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Gobierno del Estado de Sonora, Secretaría de Educación y Cultura, Sistema para el Desarrollo Integral de la Familia. Septiembre, 1997.
16. Waterlow JC, Buzina K, Keller W, Lane JM, Nichaman MZ, y Tanner JM. The presentation and use of height and weight data for comparing the nutritional status of groups of children under the age of 10 years. *Bull. World Health Organ.* 1977; 55, 489-498.
  17. Silva A. *Métodos Cuantitativos en Psicología*. México. Ed. Trillas, 1992. México.
  18. Horowitz FD. Using developmental theory to guide the search for the effect of biological risk factors on the development of children. *Am J Clin Nutr* 1989;50: 589-597.
  19. Connolly KJ y Kvalsvig JD. Infection, nutrition and cognitive performance in children. *Parasitology*. 1993;107:S187-S200.

Recibido: 07-09-1998

Aceptado: 20-01-2000

## Uso de la altura de rodilla para corregir la talla de ancianos de origen hispano

*Odilia I. Bermúdez y Katherine L. Tucker*

Centro Jean Mayer de Investigación en Nutrición Humana de Ancianos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, afiliado a la Universidad de Tufts.

**RESUMEN.** La estatura de ancianos puede verse afectada por procesos mórbidos como osteoporosis, debido a la edad ó a efectos generacionales. Además, algunos ancianos no pueden mantenerse erguidos para la medición de la talla. En estos casos, es necesario estimar la talla a partir de ecuaciones como las basadas en la altura de la rodilla. Los objetivos de este trabajo fueron, en primer lugar, el evaluar la aplicabilidad de ecuaciones de regresión basadas en la altura de rodilla para estimar la talla, y en segundo lugar, el documentar las diferencias entre talla medida y estimada en un grupo con problemas de postura (n=166), comparándolo con otro grupo libre de problemas posturales (n=270). Además, se determinaron índices de masa corporal (IMC) usando la talla medida y la talla estimada, para ilustrar las diferencias obtenidas. Para comparar los resultados, se aplicaron pruebas de t pareado agrupando a los ancianos de acuerdo a su sexo y grupo de estudio. Aplicando las ecuaciones de regresión, se observaron valores mas altos con la estimación que los obtenidos con la medición de la talla, con diferencias significativas tanto para hombres ( $p \leq 0.001$ ) como para mujeres ( $p \leq 0.001$ ) en el grupo con problemas posturales. No se detectaron diferencias significativas entre la talla estimada y la medida en el grupo libre de problemas de postura. Asimismo, en el grupo con problemas de postura, se obtuvieron valores menores de IMC al calcularlo con la talla estimada, en hombres ( $p \leq 0.001$ ) y mujeres ( $p \leq 0.001$ ), señalándose el peligro de sobrestimar niveles de sobrepeso o de subestimar los de bajo peso al utilizar la medición de la talla en ancianos que presenten dificultades para la medición de la talla. Dado el elevado numero de personas en proceso de envejecimiento en la población Latinoamericana, es necesario realizar mas estudios sobre salud y nutrición de ancianos. Para ello, se requiere del desarrollo y aplicación de métodos y criterios apropiados para estos grupos específicos de población.

**Palabras clave:** Ancianos, antropometría, estatura, altura de la rodilla, índice de masa corporal, problemas de postura.

**SUMMARY.** Using knee height to correct stature of elderly Hispanics. Loss of stature in certain elderly subjects can be attributed to diseases such as osteoporosis, as well as to age and generational effects. In addition, many elders cannot stand straight for accurate measurement. For these cases, total height can be estimated with regression equations based on knee height. The aims of this study were, firstly, to evaluate the applicability of regression equations based on knee height for estimation of stature and, secondly, to document the differences between measured and estimated height in a group of elderly Hispanics with postural problems (n=166) in comparison with a group of elderly Hispanic without postural problems (n=270). Using both, estimated and measured height, we also calculated the body mass index (BMI) of both groups of elders. Statistical analyses were done with paired t-tests, within sex and study group. Within the group with postural problems, estimated height was higher than the measured height for both men ( $p \leq 0.001$ ) and women ( $p \leq 0.001$ ). There were no significant differences between measured and estimated height in the group without postural problems. Furthermore, in the group with postural problems, BMI values calculated with estimated height were lower than those estimated with the measured height, and these differences were also significant for both men ( $p \leq 0.001$ ) and women ( $p \leq 0.001$ ). With the aging of the Latin American population, there is a need for more nutrition and health research among elders. In order to do this we need to develop and use methods and criteria appropriate for each population.

**Key words:** Elderly, anthropometry, stature, knee height, body mass index, postural problems.

### INTRODUCCION

La población anciana (65 años y más) de los Estados Unidos está creciendo rápidamente, registrándose un incremento en crecimiento del 4.1% en 1900 al 12.8% en 1995 (1,2). De igual manera, la proporción de ancianos de origen Hispano también esta aumentando dramáticamente. Las proyecciones sobre el crecimiento de la población de origen

Hispano predicen un aumento en la proporción de ancianos Hispanos del 4% en 1994 al 16% en el año 2050 (2), convirtiéndoles en uno de los grupos de más acelerado crecimiento. Desafortunadamente, este rápido crecimiento en el número de ancianos Hispanos en los Estados Unidos no está acompañado de avances en el conocimiento sobre los problemas de salud, nutrición y alimentación que podrían estar afectándoles. Una de las áreas donde existe escasez de información es la concer-

niente a la evaluación del estado nutricional de ancianos de origen Hispano.

La talla, junto con otras mediciones como el peso corporal, se usan frecuentemente en la construcción de índices antropométricos. Sin embargo, la talla de ancianos puede verse afectada por procesos mórbidos como osteoporosis (3), debido a la edad o a los efectos generacionales (4-7). Algunos autores han demostrado que la talla se reduce con la edad (4,8), separando este proceso de los efectos generacionales que se han podido demostrar en estudios transversales como los provenientes de las Encuestas Nacionales de Salud y Nutrición (conocidas como NHANES, por sus siglas en inglés) (6).

La reducción de la estatura de ancianos se debe principalmente a la compresión de las vértebras. Los huesos largos como los de los brazos y las piernas no son afectados significativamente con el proceso de envejecimiento (9-11). Basándose en este concepto de la estabilidad en dimensiones de huesos largos, diversas ecuaciones se han derivado para estimar la talla de ancianos basadas en el largo del brazo (12) o en la altura de la rodilla (12-17). La altura de la rodilla, en particular, es relativamente sencilla de medir, ya sea en posición supina o con el sujeto sentado (13,15).

Inicialmente, las ecuaciones de regresión para estimar estatura de ancianos se desarrollaron para grupos de blancos no Hispanos (13-15), pero diversos investigadores han demostrado que estas ecuaciones no son válidas para otros grupos étnicos (16-18). En Latino América se ha realizado muy poco trabajo para determinar ecuaciones aplicables a grupos de ancianos. En Colombia se efectuó un trabajo pionero con sujetos mayores de 18 años, con los cuales se desarrollaron ecuaciones para predecir la talla utilizando la distancia entre la rodilla y el maleolo en lugar de la altura de la rodilla (19). Aquí en los Estados Unidos, recientemente se publicaron nuevas ecuaciones de regresión para estimar la estatura de ancianos. Para desarrollar dichas ecuaciones se utilizó la población de ancianos del NHANES III, la cual incluye a ancianos blancos no Hispanos, negros no Hispanos y Mejico-Americanos (15).

Para estimar la estatura de ancianos de origen Hispano incluidos en el Estudio sobre Salud, Nutrición e Incapacidades de Ancianos Hispanos del Estado de Massachusetts (MAHES, según sus siglas en inglés), se evaluó la posibilidad de aplicar las ecuaciones recomendadas para ancianos blancos no Hispanos y Mejico-Americanos (15). Las estimaciones de estatura resultaron inapropiadas (20), probablemente debido a las diferencias étnicas y socio económicas entre los otros grupos étnicos y los Hispanos estudiados en MAHES (los que en su mayoría son de origen caribeño). Por lo tanto, hubo la necesidad de estimar ecuaciones de regresión específicas para estos ancianos Hispanos de Massachusetts (20).

Los objetivos del presente estudio fueron el evaluar la aplicabilidad de las ecuaciones de regresión generadas para la predicción de la estatura de subgrupos étnicos de ancianos

Hispanos con o sin problemas de postura y evaluar las diferencias en la estimación del índice de masa corporal (IMC) determinado con o sin corrección de la estatura.

## MÉTODOS

### Muestra

La muestra estudiada se obtuvo del estudio MAHES y estuvo compuesta por 436 ancianos Hispanos clasificados en dos grupos: un grupo de 166 sujetos con problemas posturales (118 Puertorriqueños, 24 Dominicanos y 24 de otros grupos Hispanos). El otro grupo (n=270) fue la muestra aleatoria utilizada para validar las ecuaciones formuladas para estimar talla en un estudio previo (20) e incluyó a 160 Puertorriqueños, 54 Dominicanos y 56 de otros grupos Hispanos. Esta investigación, realizada durante 1992-1997, fue aprobada por el Comité Revisor de Investigaciones con Sujetos Humanos de la Universidad de Tufts/Centro Médico de Nueva Inglaterra de Boston, Massachusetts.

### Métodos

La toma de medidas antropométricas de peso, talla y altura de la rodilla se realizó, en duplicado, en el hogar de los sujetos de estudio, utilizando métodos estandarizados. La talla y la altura de rodilla ( $\text{cm} \pm 0.1 \text{ cm}$ ) se midieron utilizando un tallímetro de metal portátil (marca Harpenden de Holtain Ltd; Crosswell, Crymych, UK). Para la medición de peso corporal se utilizó una balanza con capacidad de 320 libras (Seca Corporation, Columbia, Maryland), la cual permitía registrar el peso en incrementos de una libra. El peso en libras se convirtió a kilogramos.

### Análisis estadísticos

El Programa Estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS), versión 8.0 (SPSS -Windows, SPSS Inc., Chicago, Illinois) se utilizó en los análisis. Para describir las características demográficas y antropométricas del grupo estudiado, de acuerdo al sexo y grupo étnico (Puertorriqueños vs. Otros Hispanos), se evaluaron modelos lineales generales (GLMs según sus siglas en inglés), incluyendo la prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples (21).

La aplicabilidad de las ecuaciones de regresión basadas en la altura de rodilla se evaluó para cada uno de los grupos de estudio por separado, de acuerdo al sexo, sin dividirlos en grupos étnicos debido a que previamente se ha demostrado que dichas ecuaciones son válidas para estos ancianos Hispanos de origen caribeño mayoritariamente (20). Diferencias entre la medición y la estimación de la talla se evaluaron utilizando los valores obtenidos directamente al medir a los sujetos (talla medida) y aquellos estimados (talla estimada) con las siguientes ecuaciones de regresión recomendadas para estos grupos (20).

Hombres:  $talla(cm) = 69.11 + (1.86 \times \text{altura de rodilla}) - (0.03 \times \text{edad})$   
 Mujeres:  $talla(cm) = 72.08 + (1.84 \times \text{altura de rodilla}) - (0.131 \times \text{edad})$

Los dos valores de talla (medida y estimada) se compararon entre sí, aplicando pruebas de *t* pareado con el fin evaluar la magnitud de las diferencias entre ambos valores. Adicionalmente, dichos valores de talla, junto con la medida de peso, se emplearon para calcular el índice de masa corporal (kg/mt<sup>2</sup>). Utilizando nuevamente pruebas de *t* pareado, se compararon los datos de IMC calculados con talla medida o con talla estimada.

## RESULTADOS

### Características antropométricas

La muestra estudiada, obtenida durante la investigación sobre estado de salud, nutrición e incapacidades físicas de *ancianos Hispánicos viviendo en el Estado de Massachusetts*, Estados Unidos, estuvo compuesta por 436 ancianos Hispánicos, de 60 y más años de edad, divididos en dos grupos de estudio. Un grupo lo integraron 166 Hispánicos (26% hombres, 74% mujeres) a quienes, como parte de la encuesta antropométrica realizada, se les logró medir la talla, el peso y la altura de rodilla, pero cuya medición de talla se consideró sesgada debido a la presencia de escoliosis o a problemas de postura o de otra naturaleza, los que impedían a estos sujetos el posicionarse correctamente (firmes y erguidos). El segundo grupo, formado por un total de 270 ancianos (40% hombres,

60% mujeres), estuvo constituido por la muestra al azar usada para validar las ecuaciones de regresión formuladas para estimar la talla de ancianos Hispánicos (20).

Los grupos de estudio estuvieron representados por ancianos Hispánicos provenientes de diferentes países del Caribe y de Latino América. En la Tabla 1 se presenta detalles de las características antropométricas de la muestra estudiada. La mayoría era de origen Puertorriqueño (71%). Los ancianos de origen Dominicanos alcanzaron el 15%. El resto de los ancianos estuvo compuesto por sujetos del resto de Latinoamérica: Cuba, Centro y Sur América, los cuales, con los Dominicanos, fueron agrupados juntos y denominados Otros Hispánicos. Dentro del grupo con valores sesgados de talla (grupo de talla sesgada), al comparar los dos grupos étnicos, hombres y mujeres por separado, se observó que no había diferencias significativas en la edad y valores antropométricos entre los grupos étnicos, de acuerdo a los resultados obtenidos con pruebas GLM. Si se observaron diferencias significativas entre hombres y mujeres, para cada grupo étnico, en términos de talla y altura de rodilla. Con el grupo libre de problemas posturales (grupo de talla válida) tampoco se observaron diferencias significativas en edad debidas a sexo o a grupo étnico, pero si se notó que los hombres de ambos grupos étnicos eran de mayor peso, más altos y con mayor altura de rodilla que las mujeres. Se observó además que los Otros Hispánicos del grupo de talla válida, tanto hombres como mujeres, eran de mayor altura total que sus contrapartes de origen puertorriqueño.

TABLA 1  
 Características de peso, talla, altura de rodilla, de acuerdo al sexo, grupo étnico y grupo de estudio

Sexo y grupo étnico	N	Edad (años) X±DE	Peso (kg) X±DE	Talla (cm) X±DE	Altura de rodilla (cm) X±DE
<b>Grupo de talla sesgada</b>					
Hombres	43	74.0 ± 9.2	70.4 ± 13.0	162.5 ± 6.5	52.6 ± 3.1
- Puertorriqueños	31	74.8 ± 8.8	68.8 ± 12.9	161.5 ± 6.7 <sup>a</sup>	52.2 ± 2.9 <sup>a</sup>
- Otros Hispánicos	12	71.7 ± 10.2	74.6 ± 12.6	165.2 ± 5.6 <sup>a</sup>	53.6 ± 3.4 <sup>a</sup>
Mujeres	123	72.3 ± 7.7	70.0 ± 17.6	150.6 ± 5.8	48.7 ± 2.4
- Puertorriqueñas	87	72.5 ± 7.8	68.9 ± 16.8	150.2 ± 5.7	48.6 ± 2.4
- Otras Hispánicas	36	71.9 ± 7.7	72.8 ± 19.5	151.8 ± 5.8	48.8 ± 2.6
<b>Grupo de talla válida</b>					
Hombres	108	67.7 ± 6.6	72.9 ± 12.9	164.5 ± 5.8	52.0 ± 2.3
- Puertorriqueños	73	67.0 ± 6.3	72.5 ± 13.6 <sup>a</sup>	163.6 ± 5.6 <sup>a,d</sup>	51.8 ± 2.3 <sup>a</sup>
- Otros Hispánicos	35	69.2 ± 7.1	73.6 ± 11.4 <sup>b</sup>	166.2 ± 5.9 <sup>a</sup>	52.5 ± 2.3 <sup>a</sup>
Mujeres	162	67.7 ± 6.2	67.1 ± 14.0	152.6 ± 5.5	48.4 ± 2.3
- Puertorriqueñas	87	66.8 ± 6.0	66.8 ± 13.7	151.6 ± 5.4 <sup>c</sup>	48.2 ± 2.4
- Otras Hispánicas	75	68.7 ± 6.2	67.5 ± 14.4	153.7 ± 5.3 <sup>c</sup>	48.7 ± 2.3

a : Diferencias entre sexos, con ajustes por edad, dentro de cada grupo de estudio, según grupo étnico:  $P \leq 0.01$

b : Diferencias entre sexos, con ajustes por edad, dentro de cada grupo de estudio, según grupo étnico:  $P \leq 0.05$

c : Diferencias entre grupo étnico, con ajustes por edad, dentro de cada grupo de estudio, según sexo:  $P \leq 0.01$

d : Diferencias entre grupo étnico, con ajustes por edad, dentro de cada grupo de estudio, según sexo:  $P \leq 0.01$

### Comparación entre talla medida y talla estimada

Estimaciones de estatura basadas en la altura de la rodilla se hicieron aplicando las ecuaciones de regresión descritas anteriormente. Los resultados obtenidos con estas ecuaciones se compararon con las mediciones de talla (Tabla 2). Tal como se esperaba debido a la medición sesgada de la talla en los sujetos con problemas de postura, se encontró que, al estimar la talla con estas ecuaciones, se obtuvieron valores más altos que los repor-

tados al medir dicha talla, resultando estas diferencias entre mediciones y estimaciones de talla altamente significativas para ambos sexos. Al corregir la estatura de los hombres ancianos con talla sesgada se observaron incrementos de 2.4 cms. en el caso de los hombres y de 1.6 cms. en el de las mujeres. Por otro lado, las diferencias entre la talla medida y la estimada de los sujetos pertenecientes al grupo de talla válida resultaron mínimas, sin significancia estadística (Tabla 2).

TABLA 2  
Comparación talla medida y talla estimada con ecuación basada en altura de rodilla de ancianos con y sin problemas posturales

	Hombres		Mujeres	
	Talla (cm) (X ± SD)	Diferencias* (X ± SD)	Talla (cm) (X ± SD)	Diferencias* (X ± SD)
Grupo de talla sesgada				
Talla medida	162.5 ± 6.5	-	150.6 ± 5.8	-
Talla estimada <sup>1</sup>	165.0 ± 5.6	-2.4 ± 4.0*	152.3 ± 4.8	-1.6 ± 3.9*
Grupo de talla válida				
Talla medida	164.5 ± 5.8	-	152.6 ± 5.5	-
Talla estimada <sup>1</sup>	164.4 ± 4.1	0.1 ± 3.3	152.4 ± 4.6	0.2 ± 3.1

1 Talla estimada con ecuación de regresión para ancianos Hispánicos

Prueba de *t* pareado: Ho: talla medida = talla estimada. \* P ≤ 0.001

### Comparación entre el IMC calculado con talla medida y con talla estimada

Tanto la talla medida como la estimada se utilizaron en la construcción de índices de masa corporal (IMC) para cada sexo y grupo de estudio. Nuevamente se hicieron comparaciones entre los valores de IMC obtenidos con ambas tallas, medida y estimada, utilizando pruebas de *t* pareado. En la Tabla 3 pueden apreciarse las diferencias obtenidas. En el grupo de ancianos con talla sesgada, al calcular el IMC con la talla estimada con la altura de la rodilla, se obtuvieron índices significativamente menores (25.9 y 30.0 kg/m<sup>2</sup> para hombres y mujeres, respectivamente) que los obtenidos al utilizar la talla medida (26.6 y 30.7 kg/m<sup>2</sup> para hombres y mujeres).

TABLA 3  
Comparación entre Índices de Masa Corporal calculados con la talla medida o con la estimada para ancianos hispanos con o sin problemas posturales

	Hombres		Mujeres	
	IMC (X ± SD)	Diferencias* (X ± SD)	IMC (X ± SD)	Diferencias* (X ± SD)
Grupo de talla sesgada				
IMC con talla medida	26.6 ± 4.4	-	30.7 ± 6.9	-
IMC con talla estimada	25.9 ± 4.6	0.8 ± 1.2*	30.0 ± 6.6	0.7 ± 1.7*
Grupo de talla válida				
IMC con talla medida	26.9 ± 4.4	-	28.8 ± 5.8	-
IMC con talla estimada	26.9 ± 4.4	0.05 ± 1.1	28.9 ± 5.7	0.1 ± 1.2

Prueba de *t* pareado: Ho: IMC con talla medida = IMC con talla estimada.

\* P ≤ 0.001

En el caso de los sujetos sin problemas de postura, se observó que los valores de IMC calculados con la talla estimada fueron similares a los obtenidos al calcularlos con la talla medida, tanto en hombres como en mujeres.

### DISCUSION

La medición de la talla en individuos de todas las edades es una práctica común en el ámbito clínico y de investigación. Esta medición de la talla se utiliza ampliamente, junto con otras mediciones antropométricas, en la construcción de indicadores de estado nutricional. Sin embargo, las mediciones de ciertos grupos de ancianos y de incapacitados físicamente, los que presentan problemas en erguirse y mantenerse firmes, resultan difíciles de tomar y no pueden ser consideradas válidas. Con estos grupos de personas es necesario corregir o estimar la estatura a partir de mediciones que puedan predecir la talla. Una de las metodologías más sencillas y prácticas para estimar la talla de ancianos con problemas de postura es utilizando el largo de la rodilla (13,22,23). Se ha mencionado que la altura de rodilla es válida para estimar la talla de ancianos con problemas de postura debido a que esta no se modifica con la edad (10,11). Además, en procesos mórbidos como la osteoporosis, los cambios y la remodelación ósea ocurren principalmente al nivel de vértebras (3) lo que da como resultado este fenómeno de decrecimiento en talla observado en algunos ancianos. Existen en la actualidad diversas ecuaciones de regresión basadas en la altura de la

rodilla para estimar la talla. las que producen estimaciones válidas aunque parecen ser específicas para los grupos étnicos con los cuales se han desarrollado (13,15-18).

Para el presente trabajo, se estudiaron ancianos Hispanos, clasificados en dos grupos de acuerdo a si tuvieron o no problemas de diversa índole que afectaron la correcta medición de su talla. Estos grupos formaban parte de la muestra representativa de ancianos Hispanos del Estudio de Salud, Nutrición e Incapacidades físicas de la Universidad de Tufts, en el Estado de Massachusetts, Estados Unidos. El propósito de presentar este trabajo fue, en primer lugar, para evaluar la aplicabilidad de ecuaciones de regresión basadas en la altura de rodilla con las cuales se puede estimar la talla, y en segundo lugar, para documentar las diferencias en un grupo con problemas de postura, comparándolo con otro grupo libre de problemas posturales que sesguen las mediciones de talla. Las ecuaciones utilizadas aquí han sido especialmente formuladas para estos ancianos Hispanos que residen en la región nordeste de Estados Unidos, donde predominan los Hispanos Caribeños (Puertorriqueños, Dominicanos, Cubanos) (20). Las otras ecuaciones de regresión que se han documentado aquí en los Estados Unidos, para Hispanos, han sido formuladas con  $\bar{y}$  para grupos de ancianos de origen mejicano (15). Estas ecuaciones basadas en ancianos mejicanos no han resultado apropiadas para los otros grupos de ancianos de Hispanos que residen en el noreste del país (20), debido posiblemente a diferencias étnicas y socioeconómicas. Existen evidencias de que los factores socioeconómicos podrían afectar las tasas de decrecimiento de la talla (24).

Tal como se esperaba al comparar los sexos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la talla y la altura de la rodilla entre hombres y mujeres en los dos grupos de estudio, donde los hombres presentaron mayores valores de estatura total y de altura de la rodilla. No hubo diferencias significativas en relación con la edad entre los sexos ni entre grupos étnicos, dentro de cada grupo de estudio. Las diferencias en estatura entre los sexos han sido ampliamente documentadas en la literatura y como ejemplo, pueden observarse los valores obtenidos de las encuestas nacionales que han incluido grupos de Hispanos, como el NHANES Hispano (25) y el NHANES III (15).

Los problemas de postura de los ancianos se deben mayormente a compresión de la talla debida a escoliosis o curvatura de la espalda. Por ello, con el grupo de talla sesgada pero no en el de talla válida, se esperaba notar un aumento en la talla al corregirla con las ecuaciones de regresión basadas en la altura de la rodilla. Efectivamente, se observó que, para el grupo de talla sesgada y dentro de cada sexo, la talla estimada fue mayor que la medida. Al comparar estos dos valores de talla (medida y estimada) se encontró que las diferencias fueron estadísticamente significativas para ambos sexos. Contrariamente, en el caso de los ancianos del grupo de talla válida, se observó que las diferencias entre talla medida y estimada no fueron estadísticamente significativas, tal como

se espera en sujetos a los que se les puede medir correctamente la talla. Esto es especialmente válido para este grupo en particular, el cual fue utilizado en la validación de las ecuaciones presentadas aquí, el cual se ha incorporado a este trabajo con fines de contrastarlo con el grupo identificado inicialmente en el estudio MAHES con problemas posturales. Es para sujetos como estos últimos y para aquellos a quienes no se les puede medir la talla, por ejemplo, ancianos con piernas amputadas o en situaciones de salud o incapacidades que les mantengan en sillas de ruedas o en cama, para quienes se deben aplicar ecuaciones como las presentadas aquí. Es importante resaltar que, como ya se ha mencionado anteriormente, la validación de dichas ecuaciones se realizó con grupos de Hispanos de mayoría Puertorriqueña y existen evidencias de la especificidad étnica de las ecuaciones basadas en la altura de la rodilla para estimar la talla (13,15-18).

Con el cálculo del índice de masa corporal de los ancianos de este estudio, se pudo observar que el IMC de aquellos individuos con problemas de postura estaba sobrestimado al utilizar una medición de talla inválida por los problemas posturales ya descritos. Esto podría conducir a una sobrestimación de los niveles de sobrepeso o a una sub-estimación del bajo peso en aquellos grupos de población donde el problema de cambios en estatura este presente. Previamente se ha comentado sobre la posibilidad de estar utilizando valores de IMC errados cuando se calculan con la talla medida, sin correcciones por problemas de postura (26). En lugar de usar la medición de la talla en ancianos, algunos autores (12,27,28) han utilizado la altura de la rodilla o la altura de la pierna en la construcción de índices para evaluar estado nutricional o para detectar cambios en masa corporal magra. Al presente, no tenemos mucha información disponible sobre la utilidad de estos índices en grupos de ancianos de origen hispano.

## CONCLUSIONES

La aplicación de las ecuaciones de regresión basada en la altura de rodilla resulta aun más útil con aquellos ancianos que por condiciones más específicas, como amputaciones, confinamiento a sillas de ruedas, encamamiento u otros, no se les puede medir la talla, pero si se puede medir la altura de la rodilla en posición supina o sentada (22,29,30), a partir de la cual se puede estimar la altura total. Aunque estos casos no se incluyeron en el presente estudio debido a nuestro interés por comparar valores de talla medida y estimada, si representan un grupo de ancianos muy importantes, especialmente desde el punto de vista clínico, ya que la talla, junto con otras mediciones antropométricas, son útiles para la estimación de requerimientos de energía y nutrientes, así como para la evaluación del estado nutricional y para la evaluación de ingesta dietética. Con el envejecimiento progresivo de la población latinoamericana, la necesidad de contar con ecuaciones de regresión específicas para los distintos grupos regionales se hace necesaria, por lo que se necesitan más

investigaciones relacionadas con el establecimiento de criterios y métodos válidos para corregir la estatura de aquellos individuos que así lo requieran.

### REFERENCIAS

1. American Association of Retired Persons. A Profile of Older Americans. Washington, D.C.: Program Resource Department, AARP; 1996. Report No.: PF3049 (1296) . D996.
2. U.S. Census Bureau. Sixty-Plus in the United States. In: <http://www.census.gov/socdemo/www/agebrief.html>. Washington, D.C.: U.S. Census Bureau; 1995.
3. Ensrud KE, Black DM, Harris F, Ettinger B, Cummings S. Correlates of kyphosis in older women. *J Am Geriatr Soc* 1997;45:682-687.
4. Friedlaender JS, Jr. PTC, Bosse R, Ellis E, Rhoads JG, Stoud HW. Longitudinal physique changes among healthy white veterans at Boston. *Human Biology* 1977;49(4):541-558.
5. Chumlea WC, Garry PJ, Hunt WC, Rhyne RL. Distributions of Serial Changes in Stature and Weight in a Healthy Elderly Population. *Human Biology* 1988;60(6):917-925.
6. Kuczmarski RJ. Need for body composition information in elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 1989;50:1150-1157.
7. Launer LJ, Harris T. Weight, Height and Body Mass Index Distributions in Geographically and Ethnically Diverse Samples of Older Persons. *Age and Ageing* 1996;25:300-306.
8. Borkan GA, Hulth DE, Glynn RJ. Role of Longitudinal Change and Secular Trend in Age Differences in Male Body Dimensions. *Human Biology* 1983;55(3):629-641.
9. Parker JM, Dillard TA, Phillips YY. Arm Span-Height Relationships in Patients Referred for Spirometry. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:533-536.
10. Hurley RS, Bartlett BJ, Witt DD, Thomas A, Taylor EZ. Comparative evaluation of body composition in medically stable elderly. *J Am Diet Assoc* 1997;97:1105-1109.
11. Mitchell CO, Lipschitz DA. The effect of age and sex on the routinely used measurements to assess the nutritional status of hospitalized patients. *Am J Clin Nutr* 1982;36:340-349.
12. Han T, Lean M. Lower leg length as an index of stature in adults. *Int J Obes* 1996;20:21-27.
13. Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatr Soc* 1985;33:116-119.
14. Chumlea WC. Methods of nutritional anthropometric assessment for special groups. In: Timothy G. Lohman AFRaRM, editor. *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign, Illinois: Human Kinetics Books; 1988. p. 93-95.
15. Chumlea WMC, Guo SS, Wholihan K, Cockram D, Kuczmarski RJ, Johnson CL. Stature prediction equations for elderly non-Hispanic white, non-Hispanic black, and Mexican -American persons developed from NHANES III data. *J Am Diet Assoc* 1998;98:137-142.
16. Guo S, Wu X, Vellas B, Guigoz Y, Chumlea WC. Prediction of stature in the French elderly. *Age & Nutrition* 1994;5(3):169-173.
17. Myers SA, Takiguchi S, Yu M. Stature estimated from knee height in elderly Japanese Americans. *J Am Geriatr Soc* 1994;42:157-160.
18. Prothro J, Rosenbloom CA. Physical measurements in an elderly Black population: Knee height as the dominant indicator of stature. *J Gerontol Med Sci* 1993;48(1):M15-M18.
19. Arango-Angel LA, Zamora JJE. Predicción de la talla a partir de la distancia rodilla-maléolo externo. *Nutricion Hospitalaria* 1995;10(4):200-205.
20. Bermudez OI, Becker EK, Tucker KL. Development of gender-specific equations for correction of stature of frail elderly Hispanics living in the Northeastern United States. *Am J Clin Nutr* 1999;69:992-998.
21. SPSS. SPSS Base 7.5 for Windows User's Guide. Chicago, IL; 1997.
22. Chumlea WC. Anthropometric Standardization Reference Manual. In: Lohman TG, Roche AF, Martorell R, editors. Champaign, Illinois: Human Kinetics Books; 1988. p. 177.
23. Chumlea WC, Guo SS, Steinbaugh ML. Prediction of stature from knee height for black and white adults and children with application to mobility-impaired or handicapped persons. *J Am Diet Assoc* 1994;94:1385-1388.
24. Himes JH, Mueller WH. Age-associated statural loss and socioeconomic status. *J Am Geriatr Soc* 1977;25(4):171-174.
25. Najjar MF, Kuczmarski RJ. Anthropometric data and prevalence of overweight for Hispanics: 1982-1984. Hyattsville, Maryland: National Center for Health Statistics; 1989.
26. SENECA Investigators. Longitudinal changes in anthropometric characteristics of elderly Europeans. *European Journal of Clinical Nutrition* 1996;50(Suppl 2):S9-15.
27. Roubenoff R, Wilson PWF. Advantage of knee height over height as an index of stature in expression of body composition in adults. *Am J Clin Nutr* 1993;57:609-13.
28. Baumgartner RN, Stauber PM, McHugh D, Koehler KM, Garry PJ. Cross-sectional age differences in body composition in persons 60+ years of age. *J Gerontol Med Sci* 1995;50A(6):M307-M316.
29. Cockram DB, Baumgartner RN. Evaluation of accuracy and reliability of calipers for measuring recumbent knee height in elderly people. *Am J Clin Nutr* 1990;52:397-400.
30. Chumlea WC. Anthropometric assessment of nutritional status in the elderly. In: Himes JH, editor. *Anthropometric assessment of nutritional status*. New York: Wiley-Liss; 1991. p. 399-418.

Recibido: 18-02-1999

Aceptado: 13-10-1999

## Effecto de la diarrea inducida con lactosa sobre la disponibilidad de los macronutrientes y la función inmune en ratas nutridas y desnutridas

*Esther Linda Arciniegas, Anna María Cioccia y Patricio Hevia*

Universidad Simón Bolívar. Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Laboratorio de Nutrición.  
Caracas-Venezuela

**RESUMEN.** El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del estado nutricional sobre la disponibilidad de los nutrientes dietarios y algunos aspectos del sistema inmunológico durante la diarrea. Para ello se utilizaron ratas a las que se les indujo una diarrea osmótica usando lactosa y desnutrición reduciendo la oferta de dieta a la mitad del consumo registrado en ratas que recibieron alimentación *ad libitum*. El estudio incluyó cuatro grupos de ratas con siete ratas en cada grupo. Los dos primeros grupos incluyeron ratas nutridas, a uno de ellos se les indujo diarrea y al otro no; el tercer y cuarto grupo incluyeron ratas desnutridas con y sin diarrea, respectivamente. Los resultados mostraron que la lactosa produjo diarrea tanto en las ratas nutridas como en las desnutridas; sin embargo, en las nutridas la diarrea produjo una reducción importante en el consumo de alimento y en el crecimiento, mientras que en las desnutridas no. Así mismo, en las ratas nutridas la diarrea produjo una reducción en la digestibilidad y retención de todos los macronutrientes estudiados, mientras que esta reducción fue menos aparente o no se observó en las ratas desnutridas. Una situación similar se presentó en relación con el peso del timo y la concentración de inmunoglobulina G sérica. En ambos casos la diarrea tuvo un efecto negativo en las ratas nutridas, mientras que en las desnutridas no produjo un deterioro adicional al producido por la desnutrición. En general estos resultados muestran que en las ratas desnutridas no se presentan o se presentan con mucho menos intensidad los efectos negativos de la diarrea. Esta adaptación evita que la diarrea provoque un deterioro adicional en su estado nutricional. (CONICIT, S1-2265).

**Palabras clave:** Diarrea, desnutrición, digestibilidad, energía, inmunidad, inmunoglobulina G, lactosa, leucocitos, macronutrientes, timo.

**SUMMARY.** *Effect of lactose induced diarrhea on macronutrients digestibility and immune function in well-nourished and undernourished rats.* In this study we compared the availability of nutrients in a balanced diet offered to young well-nourished and undernourished Sprague Dawley rats, with and without diarrhea. Malnutrition was induced by restricting food intake (50%) in one half of the rats for 2 weeks and diarrhea was induced by including 45% lactose in the diet after malnutrition had been established. During the experiment which lasted 8 d the animals were kept on the same feeding protocol but one half of the nourished and one half of the undernourished received lactose to induce diarrhea. The results showed that the inclusion of lactose at 45% in the diet caused a severe diarrhea both in the nourished and undernourished rats. This diarrhea however, resulted in a reduction in food intake and growth only in the well-nourished rats. In the rats with diarrhea the apparent digestibility of the diet and of its macronutrients decreased compared with the animals without diarrhea but this reduction was less apparent in the undernourished rats. Similar results were obtained in relation to the retention of nitrogen and energy. In this case, diarrhea was associated with retentions which were lower than those seen in the rats without diarrhea but the undernourished rats with diarrhea retained more energy than the well-nourished rats with diarrhea. Malnutrition resulted in lower packed cell volume, leukocyte count and thymus weight but diarrhea in the malnourished rats did not cause a further reduction in these variables as it did in the well-nourished animals. In general, these results indicate that in well-nourished rats, diarrhea had a negative effect whereas in the undernourished group it did not. It appears that the undernourished rats compensated their nutrient utilization so that diarrhea did not worsen their undernourished condition.

**Key words:** Diarrhea, immune response, lactose, macronutrient absorption, nutritional status.

### INTRODUCCION

La diarrea es frecuente en una serie de desórdenes gastrointestinales, aparece ocasionalmente asociada con la alimentación enteral, muestra una elevada incidencia en pacientes con SIDA y aqueja con frecuencia a los viajeros (1-4). En el mundo, las enfermedades diarreicas son responsables de

la muerte de tres millones de niños al año, ocupan el cuarto lugar entre las principales causas de muerte y su incidencia es más alta que ninguna otra enfermedad (5).

La diarrea infantil es particularmente frecuente en los países en desarrollo y en estos países se estima que alrededor de la mitad de los casos están asociados a la desnutrición (5). La relación entre la nutrición y la diarrea se ha descrito como

un círculo vicioso por el cual, la diarrea causa desnutrición y ésta a su vez reduce la capacidad inmunitaria lo que hace al paciente más susceptible a nuevos y/o episodios diarreicos más prolongados (6). La relación entre diarrea y desnutrición probablemente se complicará aun más en el futuro debido a observaciones recientes que sugieren que la desnutrición no sólo deprime al sistema inmunológico del paciente sino que podría también aumentar la virulencia del agente patógeno que la produce (7).

En Venezuela, la mortalidad por enfermedades diarreicas es alta y ha aumentado en años recientes. Así para 1993 se registraron 2006 casos de muerte por diarrea en menores de 5 años y esta cifra aumentó a 2930 en 1994. Para los mismos años la morbilidad asociada a la diarrea aumentó en aproximadamente 100.000 casos (8).

Las razones más importantes que relacionan la diarrea con la desnutrición es una reducción en la ingesta de alimento la cual responde en gran parte al malestar ocasionado por la diarrea, a una disminución en la capacidad absorbente de los nutrientes dietarios que resulta del aumento en la velocidad de tránsito intestinal, así como a daños en la integridad de la mucosa intestinal y a un aumento en los requerimientos nutricionales que responde a la infección y fiebre que acompañan generalmente al cuadro diarreico (9). Los efectos en la capacidad absorbente son especialmente severos en los pacientes desnutridos debido a daños más notables en la estructura de la mucosa intestinal. Esto se considera como parte de la etiología de la diarrea persistente que es particularmente frecuente en desnutridos (10-15).

La relación entre inmunidad y nutrición ha sido ampliamente documentada (16-19) y en el caso específico de la desnutrición proteico-calórica, se ha reportado que afecta tanto la inmunidad humoral como celular (18) y que esto justifica la mayor incidencia de infecciones incluyendo las diarreicas entre los niños desnutridos.

Un modelo no infeccioso de diarrea ha sido utilizado por Bueno y colaboradores (20) para producir diarrea en ratas. Estos investigadores (20) demostraron que la diarrea inducida con lactosa produce desnutrición y han sugerido que esta está asociada con una disminución en la capacidad absorbente, secundaria a cambios importantes en la integridad de la mucosa intestinal. Estos cambios morfológicos se asemejan a los observados en niños con diarrea persistente. Estas semejanzas en conjunto con las dificultades económicas y éticas de realizar estudios de esta naturaleza con niños, nos motivó a utilizar un modelo con animales experimentales utilizando un exceso de lactosa en la dieta para producir diarrea. Este modelo fue usado recientemente para demostrar que la diarrea afecta el estado nutricional de la vitamina E (21).

Debido a la estrecha relación entre nutrición, capacidad inmunitaria y diarrea, en este estudio se pretendió establecer el efecto de la diarrea sobre la absorción y retenciones aparentes de los macronutrientes dietarios, así como sobre algunos aspectos muy generales de la capacidad inmunitaria en ratas nutridas y desnutridas.

## MATERIALES Y METODOS

### Diseño experimental

En el estudio se utilizaron 32 ratas machos de la cepa Sprague-Dawley con un peso promedio de 75 a 85 g, las cuales se sometieron a un período de adaptación de tres días con una dieta control (Tabla 1). Al finalizar este período las ratas se dividieron al azar en dos grupos de 16 ratas cada uno. A uno de estos grupos se les ofreció la dieta control ad libitum (grupo nutrido) mientras que al otro grupo se le restringió la ingesta de la misma dieta en un 50% (grupo desnutrido), con el fin de inducirles una desnutrición. Este período del experimento duró dos semanas. Una vez transcurrido este lapso de tiempo tanto el grupo nutrido como desnutrido se dividieron al azar en dos subgrupos de 8 ratas cada uno. Uno de estos subgrupos recibió la dieta control, mientras que el otro recibió una dieta que contenía 45% de lactosa (Tabla 1) con el fin de inducirles diarrea. Así en esta etapa del experimento que duró 8 días había dos grupos nutridos (alimentación *ad libitum*) de los cuales uno recibió la dieta control (nutrido sin diarrea) y el otro que recibió la dieta con lactosa (nutrido con diarrea) y dos grupos desnutridos (alimentación restringida al 50%) de los cuales uno recibió la dieta control (desnutrido sin diarrea) y el otro recibió la dieta con lactosa (desnutrido con diarrea).

TABLA 1  
Formulación de las dietas suministradas a los animales durante los períodos de experimentación (etapas de desnutrición y diarrea)

Ingredientes	Dieta Control	Dieta con lactosa %
Proteína (Soya)	16,67	16,67
Aceite de Maíz	5,00	5,00
Mezcla de minerales (AIN 76)	3,50	
Mezcla de vitaminas (AIN 76)	1,00	
Bitartrato de colina	0,20	0,20
L- Metionina	0,30	0,30
Almidón de maíz	73,33	28,33
Lactosa	0,00	45,00

Nota: Dietas diseñadas para cubrir los requerimientos de las ratas en crecimiento (American Institute of Nutrition) (35).

Durante el período de inducción de diarrea se realizaron recolecciones de orina y heces en los días 3, 4 y 5 con el fin de establecer las absorciones y retenciones aparentes de nitrógeno, grasa, carbohidratos y energía. Para ello el nitrógeno se determinó en dietas, orina y heces aplicando un método colorimétrico (22). La grasa total se determinó en dietas y heces por el método de Blight y Dyer modificado (23). La energía bruta en dieta, orina y heces se determinó utilizando un calorímetro adiabático Parr-1241. Los carbohidratos en dietas y heces se estimaron como la diferencia entre la energía bruta

medida en la dieta y las heces y la energía estimada de las proteínas (5,56 Cal/g) y las grasas (9,34 Cal/g) determinadas en dietas y heces. Esta diferencia se dividió por el contenido calórico de los carbohidratos (4,15 Cal/g) con el fin de obtener el contenido de carbohidratos en las dietas y las heces (24).

**Digestibilidad y retención aparentes:** La digestibilidad y retención aparentes (%) de los macronutrientes y la energía se calcularon aplicando las siguientes fórmulas:

$$\text{Digestibilidad aparente(\%)} = \frac{\text{Consumo} - \text{Pérdida en las heces}}{\text{Consumo}} \times 100$$

$$\text{Retención aparente(\%)} = \frac{\text{Consumo} - \text{Pérdidas (heces + orina)}}{\text{Consumo}} \times 100$$

**Parámetros inmunológicos:** El timo fue disectado y pesado en una balanza analítica. La cuenta de leucocitos totales se determinaron como indican Hyun et al. (25) y la Inmunoglobulina G sérica se determinó por Inmunodifusión radial simple en gel (26) (ICN Farmaceúticos Cod No. 64-620-1).

**Análisis estadístico:** Se aplicó para cada variable, la prueba de análisis de variancia de dos vías utilizando un nivel de significancia de 0,05 (27). Como prueba a posteriori se aplicó la prueba de los rangos múltiples de Duncan con el mismo nivel de significancia (28). También se calcularon correlaciones entre las variables independientes determinadas experimentalmente expresándose el coeficiente de correlación entre variables y la probabilidad asociada a este estadístico (27). Para todos los cálculos se utilizaron los programas Statgrafics 6.0 y Excel 5.0.

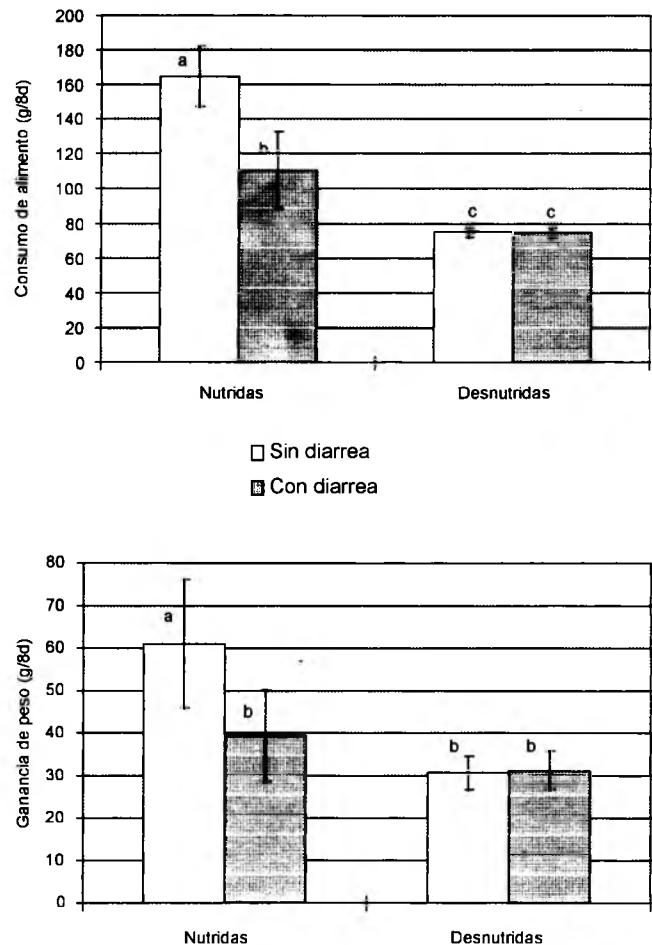
## RESULTADOS

La Figura 1 muestra que, de acuerdo con el protocolo experimental, las ratas desnutridas consumieron la mitad de lo que consumieron las nutridas. Así mismo, la Figura muestra que las ratas nutridas con diarrea redujeron voluntariamente su consumo, mientras que las ratas desnutridas con diarrea consumieron lo mismo que las desnutridas sin diarrea. En cuanto a la ganancia de peso (Figura 1) se observó que la diarrea afectó exclusivamente a las ratas nutridas.

En la Figura 2 se observa que la inclusión de lactosa en un 45% en la dieta causó un aumento notable en la masa fecal y el volumen urinario tanto en las ratas nutridas como en las desnutridas. Sin embargo este aumento fue menos notable en las ratas desnutridas.

La Tabla 2 muestra que en las ratas nutridas la diarrea causó una disminución importante en la digestibilidad aparente de la dieta, del nitrógeno, de la grasa, de los carbohidratos y la energía y en la retención aparente del nitrógeno y la energía dietarias.

FIGURA 1  
Consumo de alimento y ganancia de peso de las ratas nutridas y desnutridas, con y sin diarrea

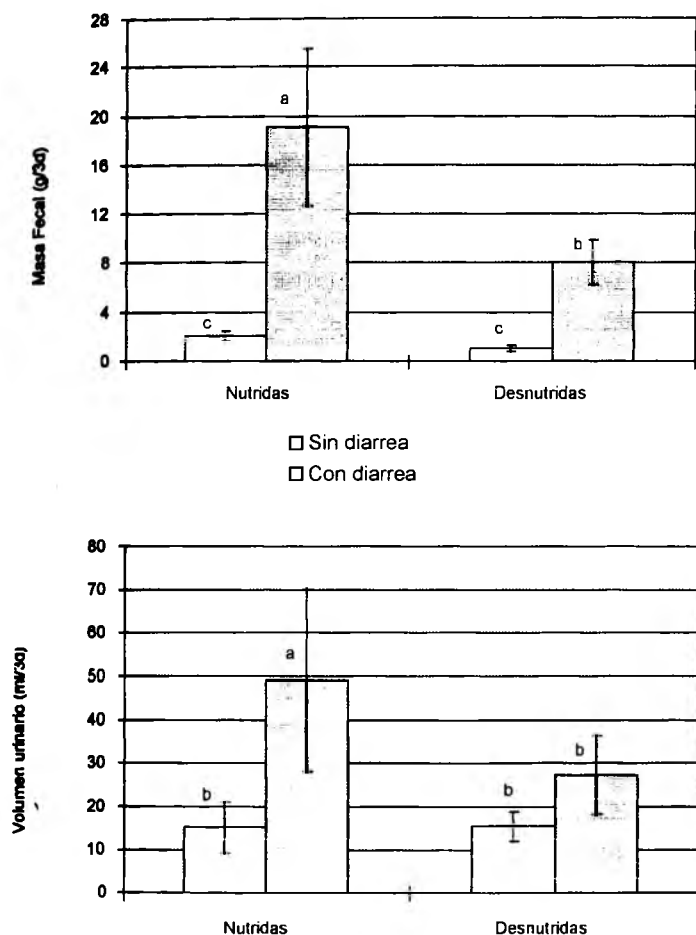


En contraste, en las ratas desnutridas el efecto de la diarrea sobre la digestibilidad aparente fue menos notable y se concentró exclusivamente en la dieta, el nitrógeno y la energía. En este grupo la diarrea no afectó la digestibilidad aparente de la grasa ni de los carbohidratos. En relación con el efecto de la diarrea sobre la retención aparente, en la Tabla 2 se observa que la diarrea causó una disminución similar en la retención aparente del nitrógeno tanto en las ratas nutridas como en las desnutridas. Sin embargo, el efecto negativo de la diarrea sobre la retención aparente de la energía fue más notable en las ratas nutridas que en las desnutridas.

El efecto de la severidad de la diarrea (masa fecal) sobre la digestibilidad aparente de la dieta total, el nitrógeno, la grasa y la energía dietarias se muestra en la Figura 3. Los resultados, revelaron que en general, la digestibilidad aparente disminuyó a medida que la severidad de la diarrea aumentó tanto en las ratas nutridas como en las desnutridas. Sin embargo, con excepción de la digestibilidad aparente del nitrógeno, que disminuyó en la misma proporción en las ratas nutridas y en las desnutridas, la digestibilidad de la dieta total así como de la grasa y la energía dietaria, disminuyeron más en las ratas nutridas que en las desnutridas.

FIGURA 2

Masa fecal y volumen urinario de las ratas nutridas y desnutridas con y sin diarrea



La Figura 4 muestra el efecto de la severidad de la diarrea sobre la retención del nitrógeno y la energía dietarias. En este caso, de acuerdo con los resultados de digestibilidad aparente, tanto la retención del nitrógeno como la de la energía, disminuyeron a medida que aumentaba la severidad de la diarrea en las ratas nutridas y en las desnutridas. Sin embargo la severidad de la diarrea afectó más la retención aparente de la energía en las ratas nutridas que en las desnutridas.

La Tabla 3 muestra que el hematocrito y los leucocitos séricos totales disminuyeron exclusivamente en respuesta a la desnutrición pero no a la diarrea. El peso del timo también disminuyó en respuesta a la desnutrición; sin embargo, la diarrea tuvo un efecto negativo sobre el peso de este órgano exclusivamente en las ratas nutridas. La Tabla 3 indica además, que la desnutrición no causó una reducción en la inmunoglobulina G sérica y que la diarrea estuvo asociada con una baja en esta inmunoglobulina exclusivamente en las ratas nutridas.

TABLA 2

Digestibilidad y retención aparentes de alimento, macronutrientes y energía de las ratas nutridas y desnutridas, con y sin diarrea, durante los días 3, 4 y 5 del período en el que se les indujo la diarrea con lactosa

	Nutridas	Nutridas con diarrea	Desnutridas	Desnutridas con diarrea
Digestibilidad aparente (%)				
Dieta	97.3 <sup>a</sup>	87.1 <sup>b</sup>	97.5 <sup>a</sup>	92.1 <sup>c</sup>
Nitrógeno	±0.39	±6.15	±0.35	±1.25
Grasa	94.9 <sup>a</sup>	83.9 <sup>b</sup>	94.4 <sup>a</sup>	80.2 <sup>b</sup>
	±0.83	±3.07	±1.29	±5.41
Grasa	89.5 <sup>a</sup>	74.3 <sup>b</sup>	92.2 <sup>a</sup>	87.6 <sup>a</sup>
	±2.26	±11.93	±1.33	±1.58
Carbohidratos	98.9 <sup>a</sup>	90.6 <sup>b</sup>	99.3 <sup>a</sup>	97.3 <sup>a</sup>
	±0.71	±4.60	±0.31	±0.47
Energía	96.9 <sup>a</sup>	86.5 <sup>b</sup>	97.4 <sup>a</sup>	92.8 <sup>c</sup>
	±0.49	±6.08	±0.37	±1.18
Retención aparente (%)				
Nitrógeno	79.3 <sup>a</sup>	54.9 <sup>b</sup>	76.3 <sup>a</sup>	53.9 <sup>b</sup>
	±5.05	±19.44	±1.68	7.50
Energía	96.1 <sup>a</sup>	75.3 <sup>b</sup>	96.5 <sup>a</sup>	86.1 <sup>c</sup>
	±0.52	±13.37	±0.52	±3.14

Los valores corresponden al promedio y la desviación estándar de ocho ratas por grupo. Las medias con letras distintas son diferentes estadísticamente según la prueba de los rangos múltiples de Duncan después de un ANOVA de dos vías (p<0.05).

FIGURA 3

Correlación entre la masa fecal y la digestibilidad de alimento, nitrógeno, grasa y energía de las ratas nutridas y desnutridas, con y sin diarrea

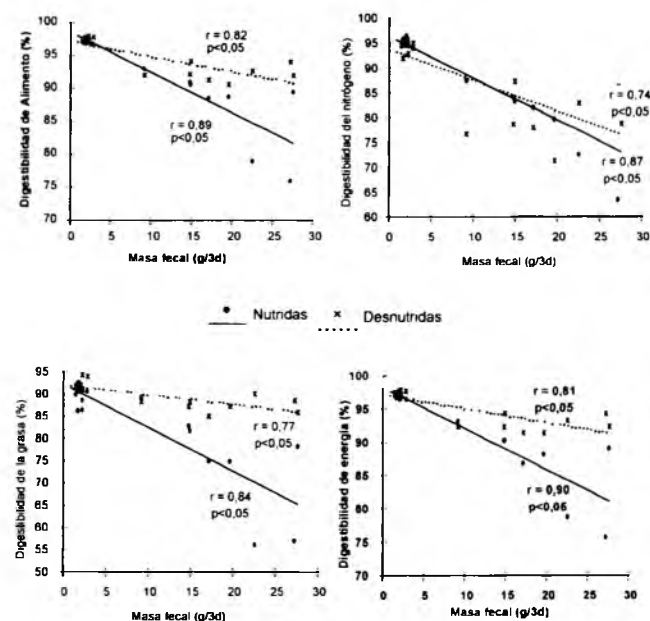


FIGURA 4

Correlación entre la masa fecal y la retención de nitrógeno y energía de las ratas nutridas y desnutridas, con y sin diarrea

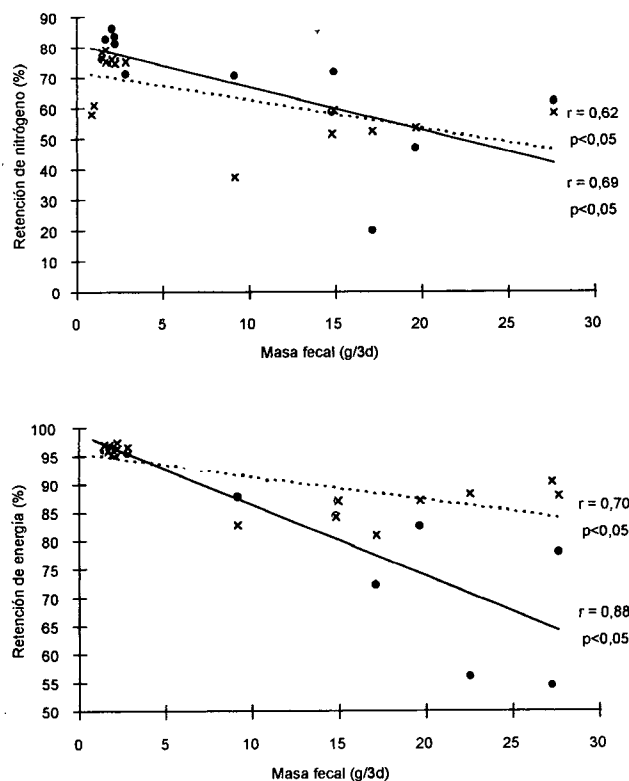


TABLA 3

Hematocrito, leucocitos totales, peso del timo y niveles de Inmunoglobulina G sérica en ratas nutridas y desnutridas, con y sin diarrea

	Nutridas	Nutridas con diarrea	Desnutridas	Desnutridas con diarrea
Hematocrito (%)	49.8 <sup>a</sup> ±4.34	47.4 <sup>ab</sup> ±4.48	43.0 <sup>b</sup> ±4.50	45.4 <sup>ab</sup> ±8.09
Leucocitos totales (cél x 10 <sup>4</sup> / ml)	471.9 <sup>a</sup> ±97.7	443.6 <sup>a</sup> ±66.8	285.8 <sup>b</sup> ±23.4	278.6 <sup>b</sup> ±42.1
Peso del Timo (g)	0.74 <sup>a</sup> ±0.16	0.54 <sup>b</sup> ±0.12	0.32 <sup>c</sup> ±0.07	0.25 <sup>c</sup> ±0.05
IgG sérica (mg/100 mL)	536.9 <sup>a</sup> ±129.5	387.5 <sup>b</sup> ±134.9	420.6 <sup>ab</sup> ±107.5	421.9 <sup>b</sup> ±132.9

Los valores corresponden al promedio y la desviación estándar de ocho ratas por grupo. Las medias con letras distintas son diferentes estadísticamente según la prueba de los rangos múltiples de Duncan después de un ANOVA de dos vías ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSION

El objetivo de este estudio fue establecer si la desnutrición en combinación con una diarrea no infecciosa causada por la inclusión de un exceso de lactosa en la dieta alteraba la capacidad absorbente de los macronutrientes dietarios, así como algunos aspectos del sistema inmunológico de la rata. La expectativa, de acuerdo con la literatura revisada, era que las ratas desnutridas con diarrea resultaran más afectadas que las bien nutridas en ambos aspectos, ya que la desnutrición se ha asociado con alteraciones morfológicas de la mucosa intestinal que reducen la capacidad absorbente (10-15), así como con una inhibición del sistema inmune (16-19). Ambas condiciones se han propuesto como posibles determinantes de la diarrea persistente.

Los resultados obtenidos sin embargo, indican que en contraste a lo esperado, en líneas generales, las ratas desnutridas, absorbieron y retuvieron más eficientemente los macronutrientes dietarios que las ratas bien nutridas.

En relación con lo anterior, resultan interesantes los hallazgos de Bueno y colaboradores (20), quienes encontraron que en ratas, la diarrea inducida por lactosa produce cambios importantes en la estructura intestinal, caracterizados por pérdidas de las microvellosidades, infiltración por leucocitos, vesiculación del citoplasma agrandamiento de las mitocondrias, así como una reducción en el número de células calciformes y que se parecen a los encontrados en niños con diarreas persistentes. Estos autores indican que estos cambios podrían resultar de una malabsorción de nutrientes y que ésta además contribuiría a producir la desnutrición detectada en las ratas con diarrea inducida por lactosa.

Aun cuando, Bueno y colaboradores (20), no midieron la absorción de nutrientes en sus estudios, el experimento descrito aquí, confirma sus expectativas ya que los resultados obtenidos revelaron que la diarrea inducida por lactosa, tal como ocurre en diarreas agudas de diferentes etimologías (29), disminuyó la absorción de todos los ingredientes dietarios estudiados y que esta disminución fue inversamente proporcional a la severidad de la diarrea. Sin embargo, en el presente estudio, el efecto de la diarrea sobre la utilización de los nutrientes fue más notoria en los animales nutridos que en los desnutridos. Esto sorprende ya que la desnutrición, que es una de las consecuencias más graves de la diarrea infantil (30), tiene efectos negativos sobre la mucosa intestinal y estos deberían interferir con la utilización de los nutrientes dietarios a nivel intestinal (15,20,31).

Como en el presente estudio no se hizo un examen histológico que pudiera haber demostrado diferencias estructurales en el aparato gastrointestinal de las ratas nutridas y desnutridas afectadas por la diarrea inducida por lactosa, resulta difícil explicar esta aparente contradicción. Una explicación posible podría ser que las ratas desnutridas estaban consumiendo menos lactosa que las ratas nutridas, ya que a las

primeras se les restringió el consumo de alimento y la concentración de lactosa fue la misma en la dieta de las ratas nutridas que en la de las desnutridas. Sin embargo, este argumento pierde fuerza cuando el consumo de lactosa se corrige por el peso corporal ya que expresado en esta forma, las ratas desnutridas por ser más pequeñas consumieron aproximadamente la misma cantidad de lactosa (0.26 g/g peso) que las nutridas (0.23 g/g peso) y por lo tanto, el intestino de estos dos tipos de ratas tuvo que estar expuesto a la misma cantidad de lactosa. Así, resulta difícil suponer que el daño producido en la mucosa intestinal por la lactosa pudiera haber sido más severo en las ratas nutridas.

Una alternativa que pudiera explicar esta discrepancia podría ser que los cambios histológicos detectados tanto en la desnutrición como en la diarrea no resulten en un daño proporcional en la funcionalidad del intestino, por lo menos en lo que se refiere a la absorción de la grasa, los carbohidratos y en general la energía presente en la dieta. Aquí se excluye el nitrógeno dietario ya que en este estudio, la diarrea afectó la absorción aparente del nitrógeno en igual proporción tanto a las ratas nutridas como a las desnutridas. Esta posible explicación, encuentra apoyo en las observaciones de Nuñez y colaboradores (31) que encontraron que a pesar que los cambios morfológicos producidos por la desnutrición en cerdos jóvenes desnutridos eran más severos que en los bien nutridos, los desnutridos tenían una mayor actividad específica de varias hidrolasas en la mucosa intestinal. Es posible que esta adaptación enzimática, sea en parte responsable del crecimiento violento que se observa en organismos desnutridos a los que se les ofrece una nutrición adecuada (32). Esta posible desigualdad entre morfología y función también la apoya la observación que la absorción aparente de los macronutrientes dietarios, medida en niños con diarrea aguda producida tanto por rotavirus, como por una variedad de otros agentes etiológicos fue similar en magnitud (29).

Todos estos elementos, estimulan la idea que durante la diarrea aguda, como la que se produjo en este estudio o la que se observa en la infancia, un factor determinante en la capacidad absorptiva es el tiempo de tránsito intestinal. Por esta razón en este estudio así como en estudios de balance en niños con diarrea aguda, la absorción de los macronutrientes fue inversamente proporcional a la severidad de la diarrea (33,34). Los cambios morfológicos que ocurren en respuesta al agente etiológico que causa la diarrea, aunque sin duda importantes, podrían tener un menor efecto sobre la disponibilidad de los macronutrientes dietarios. Es importante indicar que el experimento, realizado aquí, muestra además, que la desnutrición es un factor que altera la magnitud del efecto de la severidad de la diarrea sobre la absorción aparente de algunos macronutrientes. Así, como se aprecia en la Figura 3, a una misma severidad de diarrea, las ratas desnutridas absorbieron mejor la dieta, la grasa dietaria y la energía que las ratas nutridas.

Algo que resulta difícil de analizar, cuando se comparan los efectos de la desnutrición en este estudio con los de otros estudios y en particular con los de tipo clínico, es la severidad y tipo de desnutrición. Así, en este estudio la desnutrición se produjo reduciendo la ingesta de una dieta completa a la mitad durante dos semanas al inicio y luego durante aproximadamente una semana más durante el periodo de diarrea. Sin embargo, es posible que si la magnitud de la desnutrición hubiera sido mayor como probablemente ocurre en casos de desnutrición infantil en países en desarrollo, la respuesta a la diarrea observada aquí en las ratas desnutridas no se hubiera detectado. Esto pone de relieve la importancia de mantener un apoyo nutricional energético durante la diarrea.

Adicionalmente al efecto que tuvo la desnutrición sobre la absorción aparente de la dieta así como de algunos de sus ingredientes durante la diarrea, aquí se vio que de acuerdo con la literatura, la desnutrición causó una reducción en la cuenta de leucocitos y en el peso del timo, sin embargo en las ratas desnutridas estos indicadores de la función inmunológica no sufrieron un deterioro adicional en respuesta a la diarrea, como ocurrió en las ratas nutridas. En el caso de la Inmunoglobulina G sérica, ésta no fue afectada por la desnutrición pero disminuyó en respuesta a la diarrea exclusivamente en las ratas nutridas.

Así, los resultados de este estudio muestran que en general, en las ratas nutridas la diarrea produjo efectos negativos en relación con la disponibilidad de los macronutrientes dietarios, así como en la función del sistema inmune que no se vieron en las ratas desnutridas. Da la impresión, que las ratas desnutridas hubieran experimentado adaptaciones que hicieron que la diarrea no deteriorara aun más su condición de desnutrición. La demostración más evidente de esto fue que la diarrea en las ratas desnutridas no estuvo asociada ni con una disminución en el consumo de alimento ni en el peso corporal como ocurrió en las ratas nutridas. Es posible que en las ratas desnutridas, la necesidad de mantener una ingesta dietaria lo más alta posible fue más importante que el malestar causado por la diarrea. Así, en estas ratas, la combinación de mantener inalterada la ingesta y aumentar la eficiencia en la utilización de los macronutrientes que aportaba, aunque no les permitió una ganancia de peso adicional, les evitaron la pérdida de peso que se vio en las ratas nutridas con diarrea.

## REFERENCIAS

1. Gorbach. Sh. Efficacy of Lactobacillus in treatment of acute diarrhea. *Nutr. Today* 1996;31:19S-23S.
2. Merlín M, Gándara S, Lannicillo H, Dutack A, Raffo L, Di Bartolomeo S, Di Bella A, Pelluso G & Varsky C. Acute and chronic diarrhea in AIDS: Study of 435 (HIV+) patients. in Buenos Aires. *Acta Gastroenterol. Latinoam.* 1996;26:15-22.
3. Morbarhan S & DeMeo M. Diarrhea induced by enteral feeding. *Nutr Rev* 1995;53:67 - 70.
4. Rosenberg IH & Mason JB. Inflammatory bowel disease. En : Shils ME, Olson JA & Shike M, editors. *Modern Nutrition in*

- Health and Disease. Filadelfia: Lea & Febiger, 1.994;1043-1049.
5. WHO The World Health Report. Bridging the Gaps. Report of the Director General. Geneva. 1995;1-11.
  6. Guerrant RL, Schorling JB, McAuliffe F, De Souza MA. Diarrhea as a cause and effect of malnutrition.: Diarrhea prevents catch - up growth and malnutrition increases frequency and duration. *Am J Trop Med Hyg.* 47 (1) Suppl. 1992;28-35.
  7. Beck M. Increased virulence of coxsackievirus B3 in mice due to vitamin E or selenium deficiency. *J Nutr.* 1.997;127: 966S-970S.
  8. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Datos obtenidos de la Dirección de Epidemiología y Programas de Salud. Dpto. de Vigilancia Epidemiológica, 1996.
  9. Vega - Franco L. Diarrea y desnutrición. En: Enfermedades diarreicas en el niño. 8a. Edición. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México, 1983;347-356.
  10. Greene HL, McCabe DR & Merenstein GB. Protracted diarrhea and malnutrition in infancy: changes in intestinal morphology and disaccharidases: activities during treatment with intravenous nutrition or oral elemental diets. *J Pediatr.* 1975;87: 695 - 704.
  11. Brunser O, Castillo C & Araya M. Fine structure of the small intestinal mucosa in infantile marasmic malnutrition. *Gastroenterology* 1976;70:495-707.
  12. Fagundes - Neto U, Wehba J, Viaro T, Machado NL & Patricio FRS. Protracted diarrhea in infancy: clinical aspects and ultrastructural analysis of the small intestine. *J Pediatr Gastroenterology Nutr.* 1985;4:714-722.
  13. Shiner M, Putman M, Nichols, VN, & Nichols, BL. Pathogenesis of small - intestinal mucosal lesions in chronic diarrhea of infancy: I A light microscopic study. *J. Pediatr. Gastroenterology. Nutr.* 1990;11:464 - 480.
  14. Brunser O & Araya M. Damage and repair of small intestinal mucosa in acute and chronic diarrhea. En: Lebenthal E. editor. *Chronic Diarrhea in Children.* New York: Raven Press, 1984;31-55.
  15. Zijlstra RT, Donovan SM, Odle J, Gelberg HB, Petschow BW and Gaskins, HR. Protein-Energy malnutrition delays small-Intestine recovery in neonatal pigs infected with rotavirus. *J Nutr.* 1997;127:1118-1127.
  16. Keush G. Nutrition and infection. In: Shils ME, Olson J and Shike M. *Modern Nutrition in Health and Disease.* 8th edition. Vol. 2. Chapter 1994;69:1241-1258.
  17. Chandra RK. 1.990 McCollum Award Lecture. Nutrition and Immunity: lessons from the past and new insights into the future. *Am J Clin Nutr.* 1991;53: 1087-1101.
  18. Munson D, Franco D, Arberter A, Velez H, Vitale J. Serum levels of immunoglobulins; cell-mediated immunity and phagocytosis in protein-calorie malnutrition. *Am J Clin Nutr.* 1974;27: 625-628.
  19. Neumann Ch, Lawlor G, Stiehm ER, Swendseid M, Newton C, Herbert J, et al. Immunologic responses in malnourished children. *Am J Clin Nutr.* 1975;28:89-104.
  20. Bueno J, Torres M, Almendros A, Carmona R, Nuñez MC, Rios A and Gil A. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhoea. Histological and ultrastructural changes. *Gut* 1994;33: 926-933.
  21. Liuzzi JP, Cioccia AM and Hevia P. In well-fed young rats, lactose-induced chronic diarrhea reduces the apparent absorption of vitamins A and E and affects preferentially vitamin E status. *J Nutr.* 1998;128:2467-2472.
  22. Hevia P, Cioccia A. Application of a colorimetric method to the determination of the nitrogen in nutritional studies with rats and humans. *Nutr Rep Int.* 1988;38(6):1129-1136.
  23. Blight E, Dyer W. A rapid method of total lipids extractions and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959;37:911.
  24. Kien CL, Summers JE, Stetina JS, Heimler R, Grausz JP. A method for assessing carbohydrate energy absorption and its application to premature infants. *Am J Cline Nut* 1982;36:910-916.
  25. Hun BH, Asthenia J, Dolman K. *Practical Hematology.* W.B. Sanders Co. Eds. USA 1975; Cap. 17 y 18.
  26. Mancini G, Carbonara A, Heremans J. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry.* 1965;2:235.
  27. Steel RG y Torrie JH. *Bioestadística: principios y procedimientos.* 2da edición. Mc Graw Hill. México. 1988;Pp 263-273.
  28. Duncan DB. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 1955;11:1-6.
  29. Romer H, Páez M, Hevia P, Piña JM, Urrestaza I and Perez-Shaell. Estudio comparativo de las pérdidas de nitrógeno, lípidos y energía en niños deshidratados por diarrea aguda debida a rotavirus y otros agentes. *GEN* 1989;43:23 - 27.
  30. Mata LJ, Kromad RA, Urrutia JJ, García B. Effect of infection on food intake and its nutritional state: perspectives as viewed from the village. *Am J Clin Nutr.* 1977;30, 1215 - 1227.
  31. Nuñez MC, Bueno JD, Ayudarte MV, Almendros A, Rios A, Suarez MD & Gil A. Dietary restriction induces biochemical and morphometric changes in the small intestine of nursing piglets. *J Nutr.* 1996;126:933 - 944.
  32. Fomon SJ. Normal growth, failure to thrive and obesity. En: *Infant Nutrition: 2a Edición.* Filadelfia. Saunders WB Co. 1974;59-63.
  33. González E, Piñero D, Romer H, Guerra M and Hevia P. Alternativas para la alimentación durante la diarrea aguda. *Arch. Venezolanas de Puericultura y Pediatría* 1992;55: 16 -19.
  34. Cioccia AM, González E, Pérez M, Mora J, Romer H, Molina M and Hevia P. Application of a colorimetric method to the determination of the protein content of commercial foods, mixed human diets and nitrogen losses in infantile diarrhea. *Int. J. Food Science and Nutrition* 1995;46:21-29.
  35. American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr.* 1977;107: 1340-1348.

Recibido: 31-03-1998

Aceptado: 25-10-1999

## Dietary proteins on reproductive performance in three consecutive generations of rats

*Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa, Eunice Salzano Lago, Naíde Regueira Teodósio and Francisca Martins Bion*

Department of Nutrition, Center of Health Sciences, Federal University of Pernambuco, Brazil

**SUMMARY.** The cumulative effects of the long-term consumption of the Regional Basic Diet (RBD) of Northeast Brazil on gestational and lactational performances were assessed in three consecutive generations of *Sprague Dawley* rats (n=1,334). The animals were distributed into three groups: RBD (8% predominantly vegetable-based proteins), Control (8% casein) and Standard (22% casein). Primiparous fertilized rats aged 120 days old and their offsprings made up generation 1. Consecutive generations were obtained by mating products from previous generations. Statistical differences between groups and generations were analysed by the method of Kruskal-Wallis. In comparison with their respective controls, data for RBD-fed groups were as follows: decreased conception rates, gradual declines in gestational body weight gains and reduction in the mean number of youngs per litter; the weight loss of lactating rats aggravated in consecutive generations; suckling rats had lower values for birthweight and weight gain, higher values for death rates (including soon after weaning) and severe immaturity at weaning (21 days). This dietary experimental model proved to be valid in terms of providing information for further studies about the relationship between quality and quantity of dietary proteins in order to allow decisions on supplementary feeding programmes for people now most in need.

**Key words:** Quantity and quality of dietary proteins, reproductive performance, generations.

### INTRODUCTION

An adequate nutritional condition is known to be directly dependent upon the consumption of diets containing all the nutrition factors in proper amounts to meet specific requirements of the individual in all stages of life (1).

In Brazil, large population groups are suffering from some degree of malnutrition. The main reason for this is the low purchasing power of families (2). A condition of poverty seems to perpetuate and nutritional disorders pass from one generation to the next.

Experiments using only one generation of subjects showed that the host may be affected in a more detrimental manner as a consequence of malnutrition being imposed upon the organism during pregnancy, lactation, adolescence and

**RESUMO.** Efeitos cumulativos de proteínas dietéticas sobre a reprodução em três gerações de ratos. Foram avaliados, em três gerações sucessivas de ratos *Sprague-Dawley* (n=1.334), os efeitos cumulativos do consumo prolongado da Dieta Básica Regional (DBR) do Nordeste brasileiro sobre a gestação e a lactação. Os animais foram distribuídos em três grupos dietéticos: Grupo DBR (8% de proteínas predominantemente vegetais), Grupo Controle (8% de caseína) e Grupo Padrão (22% de caseína). Ratas primíparas, fertilizadas, de 120 dias de idade e suas proles constituíram a geração 1. As gerações seguintes foram obtidas mediante o acasalamento das gerações anteriores. As diferenças estatísticas entre grupos e gerações foram analisadas através do método de Kruskal-Wallis. Quando comparadas a seus respectivos controles, as ratas DBR apresentavam baixa fertilidade, declínio gradual do ganho em peso corporal durante a gestação e menor número médio de filhotes por ninhada; entre as lactantes, a perda de peso corporal se acentuava de uma geração para outra; os lactentes tinham valores mais baixos de peso ao nascer e de ganho em peso, mortalidade mais elevada (inclusive logo após o desmame) e imaturidade acentuada ao desmame (aos 21 dias de vida). Através deste modelo experimental ratificou-se a importante relação entre quantidade e qualidade das proteínas dietéticas, obtendo-se informações que poderão ser utilizadas pelos planejadores e implementadores de programa de suplementação alimentar destinados às comunidades carentes.

**Palavras-chaves:** Quantidade e qualidade das proteínas dietéticas, reprodução, gerações.

senescence (3-9)

In spite of controversial opinions, the foetus has been considered as a perfect parasite during some stages of the intrauterine life (10). To maintain desirable lactational performance protein-depleted rats mobilize their tissue reserves (11). A decreased milk production reflects a reduced protein metabolism in the mammary gland (12). Severe dietary restrictions during lactation account for significant alterations in milk composition (13).

In 1973, Stewart, Preece and Sheppard (14) showed the detrimental effects of a deficient diet on the behavior, nervous system and other body systems in 10 generations of growing rats, pregnant and lactating females.

Sriwastava et al (15), using different dietary models of malnutrition, demonstrated that food restriction imposed to

one generation affected negatively the development of the next progenies.

Brain deficits were found to be present in ten generations of animals from mothers to which malnutrition had been imposed *in utero*. F3 generation had learning deficits (16). Similar data were obtained by Cowley and Griesel (17) demonstrating that alterations aggravated in consecutive generations.

The body weight loss between conception and the first weighing after parturition was lower in protein-deficient females than in energy-depleted ones. In protein-restricted rats, however, foetal absorption occurred and all pups of the second generation died during the first five days after birth (18).

Similar data were obtained by McLeod, Goldrick and White (19) who used different experimental models.

Resnick and Morgane (20) found lower values for the weight in the first generation of pregnant rats fed the 8% casein diet; in consecutive generations weights for the body and brain of their progenies were lower than in the F1. In the postweaning period, excessive leanness was still present in such a manner that animals aged 30 days old had the same body weight of 11 day old-animals.

Zamenhof and van Marthens (21), in six generations of rats to which malnutrition had been imposed during pregnancy and after weaning, showed that body and brain weights of neonates were low and that the number of non-fertilized females decreased in consecutive generations.

Malnutrition imposed to three generations of rats during foetal and lactation periods affected subsequent food intake, sexual receptivity, the number of youngs per litter and milk production. The free access to diets after weaning did not appear to reverse the effects of food restriction before weaning (22).

In four generations of rats, Pires Leal (23) demonstrated that dietary protein restrictions, in terms of quantity and quality, affected birth and death rates, as well as the weight curve, until adult life; these effects passed from one generation to the next.

The deficiency of other dietary macronutrients (the alpha-linolenic acid, for example) decreased fertility rates and postnatal development and increased perinatal mortality in three consecutive generations of rats (24).

Most of the studies have used semisynthetic diets for laboratory animals to reproduce clinical, biochemical and pathological features seen in malnourished human subjects (14,20,22,25).

To investigate the effects of dietary restrictions on reproduction in three consecutive generations of rats, however, the dietary model of choice needs to be representative of diets as similar as possible to meals of human populations from economically deprived environments in their cultural and social context. Then, based on data from food consumption surveys (3,4) performed by the Section of Nutrition and Public Health, Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, a dietary model was formulated to contain, in the same proportions as actually eaten, the four major staples

ingested usually by low-income groups in Northeast Brazil. This diet, referred as Regional Basic Diet (RBD), when given to growing animals, induces alterations resembling a protein-energy malnutrition syndrome which is highly prevalent in the region (3,4).

This study was designed to assess the effects of the long-term consumption of RBD on reproduction in three consecutive generations of rats.

## MATERIAL AND METHODS

A total of 1,334 male and female *Sprague Dawley* rats from the Colony of the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco (Recife, Brazil), was used.

Rats were maintained at 21°-23°C and with 14-h light/10-h dark cycles. Humidity was 65%.

The experimental diet, the Regional Basic Diet (RBD), was prepared with the four foods most frequently consumed by the low-income populations from the Mata area of the State of Pernambuco, Northeast Brazil: beans (*Phaseolus vulgaris*), sweet potatoes (*Ipomea batatas*), cassava flour (*Manihot esculenta*), dried and salted meat (Table 1).

Beans and meat were cooked in boiled water for 2 hours; sweet potatoes were cooked in boiled water for 30 minutes.

Foods were dried in a forced air oven (FANEM model) at 60-70°C, for 48-60h, ground (Flour Grind Mill-type D) and sieved (a 60 wire-mesh sieve).

Cassava flour was added to the mixture and the proportions of all ingredients used in the preparation of RBD were the same of the meals consumed by the population.

The contents of mineral salts and vitamins of RBD were estimated using previously described procedures (3,4).

The standard diet (S) contained 22% casein and was balanced to meet the nutritional requirements of the rat (Table 1).

The control diet (C) was formulated to contain 8% casein at expenses of carbohydrate increases (Table 1).

The animals had free access to diets and water.

The chemical composition of diets is described in Table 1.

Initially, 65 primiparous rats aged 120 days old and fed Labina (Ralston Purina do Brasil, Ltda.), from the Colony of the Department of Nutrition, were mated. After fertilization, which was detected by the presence of sperm in vaginal smears, the rats were individually housed in plastic cages and received their respective diets in accordance with the following feeding schedule: 25 were fed RBD, 13 were fed the control diet and 20 were fed the standard diet. Then, pregnant females and their litters formed generation I (F1). Generations 2 (F2) and 3 (F3) were obtained from progenies produced by mating animals of the first and second filial generations, respectively.

\* Gestational body weights were measured weekly. The evolution and time of pregnancy were examined every day. At parturition, the number of newborns and stillborns, birthweight and general health conditions of progenies were recorded.

During lactation, body weights of mothers and pups were

TABLE 1  
Chemical composition of diets

	g/100g	Proteins	Carbohydrates	Fats	Vitamins		Mineral salts	Fibers	kcal	NDpCal %
					Water soluble	Fat soluble				
<b>Standard diet ( 22% casein)*</b>										
Commercial casein	27.08	22.00	-	-				-	88.00	
Corn starch	57.12	0.58	50.44	0.12			0.09		205.16	
Vegetable oil	7.50			7.50					67.50	
Water soluble vitamins	1.00	-	-	-	1.00		-		-	
Fat soluble vitamins	1.00	-	-	1.00		1.00			9.00	
Mineral salts	4.00						4.00			
Methionine	0.30									
Filter paper	2.00							2.00	-	
Total	100.00	22.58	50.44	8.62	1.00	1.00	4.09	2.00	369.66	16.8
<b>Control diet (8% casein)</b>										
Commercial casein	9.85	8.00	-	-				-	32.00	
Corn starch	74.50	0.76	65.49	0.15			0.12		266.35	
Vegetable oil	7.50			7.50					67.50	
Water soluble vitamins	1.00	-	-	-	1.00		-		-	
Fat soluble vitamins	1.00	-	-	1.00		1.00			9.00	
Mineral salts	4.00						4.00			
Methionine	0.15									
Filter paper	2.00							2.00		
Total	100.00	8.76	65.49	8.65	1.00	1.00	4.12	2.00	374.85	7.5
<b>Experimental Diet (Regional Basic Diet - RBD)*</b>										
Beans	18.34	3.99	10.66	0.24			0.57	1.09	60.76	
Cassava flour	64.81	0.84	48.59	0.12			0.43	5.64	198.80	
Deffated salted dried meat	3.74	2.74	-	0.06			0.06	-	11.50	
Salted dried meat fat	0.35			0.35					3.15	
Sweet potatoes	12.76	0.30	9.99	0.03			0.20	0.48	41.43	
Total	100.00	7.87	69.24	0.80			1.26	7.21	315.64	5.98

\* Source of data: reference (3)

measured. Offsprings were uniformly distributed (6-8 young per litter). Lactational performance, mortality rates and the time for the eyes opening were recorded.

The non-parametric test of Kruskal-Wallis was used for statistical comparisons between groups in terms of body weight (pregnant, lactating and suckling rats), weight gain (pregnants) and weight losses (lactating rats) (26). Differences among groups were statistically significant when  $p < 0.05$ .

## RESULTS

Gestational and lactational performances of RBD-fed rats are shown in Table 2.

In generations F1, F2 and F3, 89% 100% and 82% of RBD rats and 76%, 89% and 100% of control dams were fertilized. All rats had a full-term pregnancy and gestation length was about 21 days.

In F1-RBD and F3-RBD, as well as in F2-C and F3-C, pregnants the weight gain was lower than in the standard group. When RBD generations were compared to each other,

the weight gain was lower in F1-RBD. Among control generations values were lower in F3-C pregnants. In F3-RBD pregnants the weight gain was higher than in the respective control generation (F3-C).

The number of newborns in the three generations on the three diets was as follows: 176, 193 and 134 (F1, F2 and F3-RBD, respectively), 128, 184 and 173 (F1, F2 and F3 controls, respectively) and 183 in the reference standard. The mean number of pups per litter, except in F1-RBD, varied (range, 9.1 to 10.8). Stillborns totalized 30%, 32% and 34% (F1, F2 and F3-RBD, respectively), 34%, 46% and 43% (F1, F2 and F3-C, respectively) and 10% (standard group). The number of devoured pups was higher in F2-RBD and F1-C: 11% and 12%, respectively).

Birthweight was significantly lower in all RBD and control generations than in the reference standard.

The opening for the eyes in all RBD pups was remarkably delayed (when the animal was 18 days old).

In terms of lactational performance, only 76%, 85% and 93% of RBD females (generations F1, F2 and F3, respectively)

TABLE 2  
Gestational and lactational performances in rats fed the Regional Basic Diet (RBD) over three consecutive generations compared with control (8% casein) generations and the reference standard (22% casein)

	RBD generations			CONTROL generations			STANDARD
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	S
<b>PREGNANCY</b>							
Number of matings	28	27	17	17	19	19	20
Pregnant rats (%)	89	100	82	76	89	100	100
Weight gain, (g) $\bar{x} \pm se$	52,5±4,74a (25)	94,8±4,55b (20)	79,0±6,44ab (14)	89,7±6,01b (13)	80,9±7,0a (17)	62,4±5,06ade (19)	102,5±6,05 (20)
Number of births	176	193	134	128	184	173	183
Mean of pups per litter	7,0	9,6	9,5	9,8	10,8	9,1	9,2
Stillborn (%)	30	32	34	34	46	43	10
Devoured (%)	6	11	-	12	6	6	3
Birth weight $\bar{x} \pm se$	5,2±0,09a (25)	4,9±0,11a (20)	5,3±0,17a (13)	5,3±0,22a (13)	5,6±0,14ac (17)	5,3±0,09a (19)	6,0±0,10 (20)
<b>LACTATION</b>							
Lactating rats %	76	85	93	77	53	84	100
Weight loss (g) $\bar{x} \pm se$	35,5±5,78a (19)	40,1±7,04a (17)	48,1±3,93a (13)	44,4±12,70a (10)	48,9±8,40a (9)	35,3±6,22ad (17)	19,7±2,5 (20)
Weaning pups (%)	58	49	66	48	34	44	75
Body weight at weaning (g) $\bar{x} \pm se$	24,7±1,44a (19)	16,8±0,70ab (17)	18,3±0,87ab (13)	26,2±1,16a (10)	28,5±1,15ac (9)	23,1±1,70adef (13)	45,0±0,91 (20)
<b>Mortality rates</b> (two days after weaning)							
(%)	36	69	45	-	-	-	-

a significantly different from the standard

b significantly different from F1 - RBD e significantly different from F1 - C

c significantly different from F2 - RBD f significantly different from F2 - C

d significantly different from F3 - RBD

$\bar{x} \pm se$  = standard error of the mean

( ) = sample size

and 77%, 53% and 84% of control rats (F1, F2 and F3-C, respectively) were able to suckle from parturition to weaning (on day 21). All mothers of the standard group suckled their young until weaning.

Weight losses in RBD and control lactating females were higher than in the standard group. In F3-RBD losses were significantly higher than in the respective control generation.

The number of weaning rats was as follows: 58%, 49% and 66% in RBD generations (F1, F2 and F3, respectively), 48%, 34% and 44% in control generations (F1, F2 and F3, respectively) and 75% in the standard group.

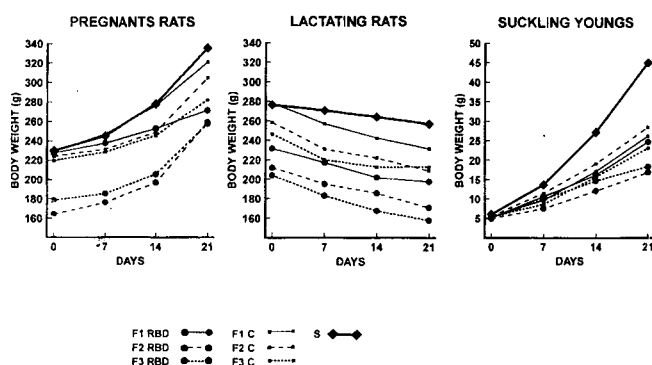
At weaning, body weights of all RBD and control generations were significantly lower than in the standard group. In F2 and F3-RBD generations values were significantly lower than in their respective controls. When control generations were compared to each other, body weights were lower in F3-C progenies.

Mortality rates were high in all RBD progenies in the first two days after weaning: 36%, 69% and 45% (F1, F2 and F3 generations, respectively).

Body weights and the weight curve profile of experimental, control and standard groups are shown in Tables 3, 4 and 5, and in Figure 1.

FIGURE 1

Body weight of three consecutive generations of Sprague Dawley rats



The weight curve in F1-RBD pregnant was significantly lower than in their control and standard from the 14th day of pregnancy, remaining reduced until delivery in generations 2 and 3, to which malnutrition had been imposed since fertilization of generation 1.

Curves showing the weight of control pregnant, which superposed upon the curve of the reference standard in generation 1, deviated significantly from the standard in generation 2 from the 14th day and in F3 generation since the beginning of pregnancy (Table 3, Figure 1).

The weight curve profile and body weights of RBD lactating rats differed from their respective control generations and the reference standard. In generation 1, the curve distribution of control lactating dams was similar to that of the standard, but

in generations 2 and 3 a significant decline was detected (Table 4, Figure 1).

Curves showing the weight of the body in the three generations of RBD and control suckling rats deviated significantly from the standard reference. In generation F1, the weight curve of RBD group superposed upon that of the respective control, but it declined in F2-RBD generation. At the end of the lactational period (21 days), however, in F3-RBD generations curves differed from those of controls. When RBD generations were compared to each other the weight curve of suckling youngs was higher in generation 1 than in generation 2. Among controls, curves were significantly smaller in generation 3 from the 7th day of lactation (Table 5, Figure 1).

TABLE 3

Body weight in pregnant rats fed the Regional Basic Diet (RBD) over three consecutive generations compared with control (8% casein) generations and the reference standard (22% casein)

Gestation (days)	RBD generations						CONTROL generations						STANDARD	
	F1		F2		F3		F1		F2		F3		mean	se
	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se
0	227,41 (25)	2,72	164,29ab (20)	2,26	178,46abc (14)	2,14	229,13 (13)	2,74	224,06c (17)	3,22	219,54ad (19)	3,26	229,64 (20)	3,39
7	237,52 (25)	2,88	176,35ab (20)	2,71	185,58abc (14)	3,53	247,12 (13)	3,24	231,35ce (17)	3,34	228,23ade (19)	3,32	244,98 (20)	5,03
14	252,57a (25)	4,02	196,91ab (20)	3,45	205,45ab (14)	3,11	276,28b (13)	5,56	248,83ace (17)	5,03	245,40ade (19)	5,02	278,14 (20)	5,42
21	271,42a (25)	5,58	259,05a (20)	5,06	257,50a (14)	6,82	320,95b (13)	6,50	304,95ace (17)	8,39	281,98ade (19)	4,98	335,62 (20)	6,87

a significantly different from the standard  
 b significantly different from F1 - RBD e significantly different from F1 - C  
 c significantly different from F2 - RBD  
 d significantly different from F3 - RBD  
 se = standard error of the mean ( ) = sample size

TABLE 4

Body weight in lactating rats fed the Regional Basic Diet (RBD) over three consecutive generations compared with control (8% casein) generations and the reference standard (22% casein)

Lactation (days)	RBD generations						CONTROL generations						STANDARD	
	F1		F2		F3		F1		F2		F3		mean	se
	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se
0	231,55a (25)	5,07	211,90ab (21)	6,82	203,91ab (14)	5,24	278,04b (13)	7,02	258,29c (17)	6,94	246,37ade (19)	0,51	276,23 (20)	8,62
7	217,09a (19)	5,86	195,21ab (19)	6,57	183,00ab (13)	4,03	257,00b (10)	6,32	230,92ae (13)	6,40	219,97ade (18)	6,75	270,67 (20)	8,65
14	201,59a (19)	5,69	185,56ab (18)	6,47	167,32abc (13)	2,99	242,39b (10)	7,86	222,05ac (12)	6,54	212,46ade (17)	6,99	263,95 (20)	7,68
21	197,54a (19)	5,68	170,84ab (17)	6,15	157,66ab (13)	3,42	231,29b (10)	5,56	208,87ac (9)	9,23	212,64ad (17)	6,46	256,57 (20)	7,98

a significantly different from the standard  
 b significantly different from F1 - RBD e significantly different from F1 - C  
 c significantly different from F2 - RBD  
 d significantly different from F3 - RBD  
 se = standard error of the mean ( ) = sample size

TABLE 5  
Body weight in suckling rats from mothers fed the Regional Basic Diet (RBD) over three consecutive generations compared with control (8% casein) generations and the reference standard (22% casein)

Lactation (days)	RBD generations						CONTROL generations						STANDARD	
	F1		F2		F3		F1		F2		F3		mean	se
	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se	mean	se		
0	5,17a (25)	0,09	4,94a (20)	0,11	5,32a (13)	0,17	5,28a (13)	0,22	5,56ac (17)	0,14	5,34a (19)	0,09	5,99 (20)	0,10
7	10,58a (19)	0,52	7,53ab (19)	0,24	9,87ac (13)	0,59	9,64a (10)	0,63	11,48ace (12)	0,48	8,60af (19)	0,53	13,66 (20)	0,51
14	16,13a (19)	0,72	12,08ab (18)	0,41	14,68ac (13)	0,94	17,15a (10)	0,87	19,13a (12)	0,96	15,64acf (17)	0,94	27,16 (20)	0,65
21	24,68a (19)	1,44	16,81ab (17)	0,70	18,34ab (13)	0,87	26,16a (10)	1,16	28,47ac (9)	1,15	23,13adef (13)	1,70	44,98 (20)	0,91

a significantly different from the standard

b significantly different from F1 - RBD e significantly different from F1 - C

c significantly different from F2 - RBD

d significantly different from F3 - RBD

se = standard error of the mean

( ) = sample size

## DISCUSSION

Early malnutrition has been shown to affect subsequent gestational and lactational performances, as well as the development of the litter (3,4,6,8,19,20,27,30).

Some effects can not be reversed and seem to aggravate from one generation to the next.

Dietary protein composition and level have been correlated with conception rates (21,22). This was found to be evident in chronically malnourished female rats (F3-RBD) exposed to protein restriction since fertilization of generation 1.

The curve profile showing the weight of the body in F1-RBD pregnant is indicative that low-protein diets containing poor quality proteins, as RBD, given to dams from fertilization appear to induce earlier reductions in body weight than low-protein diets with good quality proteins. In F1-RBD rats the weight loss was seen from the 14th day of pregnancy, but losses only became detectable in the second generation of controls (F2-C) from the 14th day of pregnancy.

It is noteworthy that weight deficits seemed to aggravate over consecutive generations (F2-RBD and F3-RBD) to which malnutrition had been imposed since fertilization of generation 1 (F1-RBD). Curves showing the weight of the body deviated from their respective control generations notably from the standard group (22% protein-fed pregnant). At lactation, growth deceleration, which was negligible in the reference standard, aggravated in consecutive generations of control dams and particularly of RBD mothers which presented an already noticeable decrease in body weight at the beginning of lactation. Results were similar to those reported by others (20,27,28).

Kanarek et al. (6), however, on studying diets containing varying protein contents, showed that after the first week of lactation mothers fed 25% casein increased in weight, whereas

in the 6% and 8% casein-fed mothers growth deceleration persisted.

Irrespective of the nutrition values of dietary proteins, lactating dams fed successively on a low-protein diet not able to suckle their progenies from parturition to weaning (21 days). In the present paper the weight distribution curves in the three generations of suckling youngs from RBD and control mothers deviated significantly from the reference standards.

The number of newborns per litter seemed unaffected by the low content of a high quality protein, which does not agree with findings from Stewart and Sheppard (29) and Turner (30) who detected smaller litters from mothers given the 8% casein diet.

The smaller litter sizes in the F1-RBD mothers suggest possible implications for reproduction due to abrupt changes in dietary protein composition.

Values for birthweight in youngs from RBD and 8% casein fed mothers were significantly lower when compared to the reference standard. Results were similar to those described previously (3). However, Resnik and Morgane (8) and Turner (30) failed to show differences between animals on 8% and 25% casein diets. On the other hand, Kanarek et al. (5) demonstrated that dietary influences (6%, 8% and 25% casein) only become detectable from the 6th day after birth.

Another point of interest was the evident immaturity of pups from RBD dams, characterized by disparity between the large head and the average size body, reeling unsteady gait and body weight deficits (only half of the weight in the 22% casein fed rats). In addition, rats fed the 8% casein diet had more fully developed locomotive apparatus than their pairs in the three generations, but bearing no comparison with the reference standards.

The results suggest that dietary protein composition and level affect the reproductive performance of rats.

It follows that when diets are poor in protein quality and content fertilization and gestational body weight gains are lowered, body weight losses aggravate during lactation, mortality rates are significantly high among suckling and weaning rats, physical immaturity is evident at weaning and body weight deficits aggravate over consecutive generations.

When diets provide low contents of a high quality protein the weight distribution curves of pregnant and lactating subjects deviate significantly from of the reference standard over generations, the weight distribution curves of suckling rats differ from the standards, immaturity is less evident at weaning.

On the other hand, a well-balanced diet, containing proper amounts (22%) of a high quality protein and planned to meet specific requirements of the individual, enables an animal to grow, mature and reproduce in a normal manner.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to the Brazilian Council for Scientific and Technical Development (CNPq) and the Foundation for the Support of Science and Technology of the State of Pernambuco (FACEPE) for financial support.

#### REFERENCES

- Osion RE. Evolución de la investigación en nutrición. In: OPS. Conocimientos actuales sobre nutrición. 6. ed. Washington, 1991;582-586.
- Dieese. Bol Escrit Reg Pernambuco, 1987; 1 (3).
- Teodósio NR, Lago ES, Romani SAM, Guedes RCA. A Regional Basic Diet (RDB) from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. Arch Latinoamer Nutr 1990; 40: 533-47.
- Lago ES, Teodósio NR, Pessoa DCNP, Cabral Filho JE. Duración de la vida en ratas desnutridas, utilizando dieta básica del Nordeste brasileño. Arch Latinoamer Nutr 1997; 47: 338-342.
- Fernandez SF, Menendez NF, Marin B, Patterson AM. Malnutrition in utero and during lactation in the rat: relationship of dams weight gain on development of suckling. Nutr Res 1985; 5:413.
- Kanarek RB, Schoenfeld PM, Morgane PJ. Maternal malnutrition in the rat: effects on food intake and body weight. Phys & Beh 1986; 38: 509-515.
- Mello MAR de, Cury L. Influence of protein-calorie malnutrition on reproductive performance of young and mature rats. Growth, Develop & Ag. 1989; 53: 141-4.
- Resnick O, Morgane PJ. Animal models for small-for-gestational-age (SGA) neonates and infants-at-risk (IAR). Develop Brain Res 1983; 10: 221-5.
- Marcos A, Varela P, Unzaga MT, Martinez EM, Gancedo BJ, Varela G. Nivel proteinico dietario durante la gestacion. Su influencia sobre el reparto materno-fetal de substratos. Arch Latinoamer Nutr 1986; 36: 443-55.
- Naismith DJ The requirement for protein, and the utilization of protein and calcium during pregnancy. Metabolism 1966; 15: 582-95.
- Friggens NC. The effects of feed composition and level on lactational performance in rats and dairy cows: a basic approach to feed description (thesis). Edinburgh: Univ of Edinburgh, 1990.
- Pine AP, Jessop NS, Allan GF, Oldham JD. Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. 4. Tissue protein synthesis and turnover associated with mobilization of maternal protein. Brit J Nutr 1994;72: 831-44.
- Pine AP, Jessop NS, Oldham JD. Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. 3. The effects of dietary protein restriction and stage of lactation on milk composition. Brit J Nutr. 1994; 72: 815-30.
- Stewart RJC, Precce RF, Sheppard HG. The long-term effects of marginal protein energy deficiency. Proc Nutr Soc 1973; 32: 102 A.
- Srivastava U, Yu M, Goswant T. Maternal dietary deficiency and cellular development of progeny in the rat. J Nutr 1974; 104: 512-20.
- Zamenhof S, Van Marthens E. Chronic undernutrition for 10 generations: differential effects on brain and body development among neonatal rats. Nutr Rep Intern 1982; 28: 703-9.
- Cowley JJ, Griesel RD. The effect of growth and behavior of rehabilitating first and second generation low protein rats. An Beh 1966; 14: 506-17.
- Kenney MA, Barton EB. Malnutrition and fetal development in two generations of rats. Nutr Rep Intern 1975; 11: 243-9.
- McLeod KI, Goldrick RB, Whyte HM. The effect of maternal malnutrition on the progeny in the rat: studies on growth, body composition and organ cellularity in first and second generation progeny. Austr J Exper Biol Med Sci 1972; 50: 435-46.
- Resnick O, Morgane PJ. Generational effects of protein malnutrition in the rats. Develop Br Res 1984; 15: 219-27.
- Zamenhof S, Van Marthens E. The effects of chronic undernutrition over generations on rat development. J Nutr 1978; 108: 1719-23.
- McGuire MK, Littleton AW, Schulze KJ, Rasmussen KM. Pre- and postweaning food restrictions interact to determine reproductive success and milk volume in rats. J Nutr 1995; 125: 2400-6.
- Leal, MMRBP. Efeito do teor e qualidade da proteína alimentar sobre alguns parâmetros do desenvolvimento e manutenção da espécie - Estudo através de quatro gerações de ratos albinos. (tese). São Luís (MA): Univ S. do Maranhão, 1976.
- Araya AJ, Cagalj KA. Exclusión del ácido alfa-linolénico de la dieta de la rata durante varias generaciones. I. Efecto en la reproducción y crecimiento postnatal. Arch Latinoamer Nutr 1993; 43: 123-31.
- Birt DF, Baker P, Hruza DS. Nutritional evaluations of three dietary levels of lactalbumin through the lifespan of two generations of Syrian hamsters. J Nutr 1982; 112: 2657-60.
- Conover WJ. Practical nonparametric statistic. 2nd ed. New York: John Wiley, 1980.
- Barbosa L, Santiago S. de. Efecto de la restricción en el consumo de alimento de la rata adulta sobre el crecimiento y la composición tisular de la cría lactante. Arch Latinoamer Nutr 1994; 44: 98-104.
- Grigor MR, Allan JE, Carrington JM, Carne A, Gcursen A, Young D, Thompson MP, Haynes EB, Coleman RA. Effect of dietary protein and food restriction on milk production and composition, maternal tissues and enzymes in lactating rats. Growth, development and Aging. J Nutr 1987; 117: 1247-58.
- Stewart RJC, Sheppard HG. Protein-caloric deficiency in rats. Growth and reproduction. Brit J Nutr 1971; 25: 175-80.
- Turner MR. Perinatal mortality, growth, and survival to weaning in offspring of rats reared on diets moderately deficient in protein. Brit J Nutr 1973;29:139-47.

Recibido: 04-03-1998

Aceptado: 02-07-1999

## Optimización de formulaciones para productos dietéticos de pastelería

Mario Villarroel T., Edgar Uquiche C., Gladys Brito C., Marcela Cancino R.

Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.

**RESUMEN.** Se optimizó la formulación de premezclas en polvo de queque y bizcocho dietéticos, aplicando la metodología superficie de respuesta (MSR). La calidad sensorial fue determinada para ambas formulaciones utilizando el método de puntaje compuesto con un panel entrenado de 18 jueces. Las variables seleccionadas para queque fueron: % agente emulsionante y tiempo de horneado; y para bizcocho % agente emulsionante y % harina clorada. Analizando el mapa de contorno y teniendo en cuenta aspectos económicos se determinó que la mejor respuesta para la formulación de queque dietético, estuvo dada por la combinación de variables: agente emulsionante 2% y 48 minutos de tiempo de horneado. Para el caso del bizcocho dietético, los niveles óptimos fueron agente emulsionante 6.2% y harina clorada 48.2%. Ambos productos demostraron ser estables bajo condiciones aceleradas de almacenamiento de 30°C durante 75 días, no encontrándose diferencias sensoriales significativas ( $p < 0,05$ ) en los productos horneados con relación a formulaciones recién preparadas. El índice de peróxido se mantuvo por debajo de los valores señalados por la bibliografía para detectar rancidez organoléptica. Datos obtenidos por la prueba hedónica muestran que estos productos dietéticos tienen una buena aceptabilidad, ampliando por consiguiente el rango de oferta de productos dietéticos de pastelería para satisfacer demandas del mercado actual

**Palabras claves:** Formulaciones dietéticas, desarrollo de productos, evaluación sensorial, metodología superficie de respuesta, calidad sensorial, prueba hedónica, índice peróxido.

**SUMMARY. Optimization of dietetic formulations for pastry products.** Optimized formulations of dietetic pastry products such as cake and sponge cake premixes were formulated using the surface response methodology. % Emulsifier agent and baking time were the selected independent variables for cake, as well as % emulsifier agent % chlorinated flour the variables selected for sponge cake. Three different level of each variable summing up thirteen experimental formulae of each product were assessed to optimize the variables that could have some influence in the sensory characteristics of these dietetic products. The total sensory quality was determined for both dietetic products using the composite scoring test and a panel of 18 trained judges. Looking at the contour graphic and considering economic aspects the best combination of variables for cake formulation was 2% emulsifier agent and 48 minutes for baking time. With respect to sponge cake, the best combination was 6% emulsifier agent and 48% chlorinated flour. Shelf life studies showed that both dietetic formulations remained stable during storage conditions of 75 days at 30°C. During this period, significant differences in sensory characteristics were not found ( $p < 0.05$ ). Data of peroxide values were kept under the critical value reported for detection of organoleptic rancidity. Reported values of hedonic test showed that these dietetic products had good acceptability, and open up marketing opportunities for new products with potential health benefits to consumers.

**Key words:** Dietetic formulations, food development, sensory evaluation, surface response methodology, sensory quality, hedonic test, peroxide value.

### INTRODUCCION

Las enfermedades cardiovasculares, son una de las principales causas de riesgo que afectan a la población actual. Factores como consumo de tabaco, obesidad, hipertensión, inactividad y elevado consumo de grasas saturadas, por su relación directa con incremento de los niveles de colesterol en la sangre que desencadenan problemas de aterosclerosis, pueden incrementar los riesgos de contraer enfermedades coronarias (1-7).

El conocimiento del consumidor sobre estos factores de riesgo, así como la forma de controlarlos se ha traducido en cambios o modificaciones importantes de los hábitos dietarios de la población (8) debido principalmente a la disponibilidad

de mayor información nutricional sobre las características y composición de la dieta tradicional. Estos antecedentes explican el incremento de la oferta de productos alimenticios para regímenes especiales, cuyo objetivo final es precisamente satisfacer la creciente preocupación de los consumidores por aspectos relacionados con dieta y sus efectos sobre la salud (9,10). Dentro de este contexto, la población está consciente que es aconsejable preferir alimentos con bajo contenido de materia grasa (seleccionando además para su ingesta fuentes de lípidos de origen vegetal y marino por sobre las de origen animal), mayor consumo de fibra dietaria (11,12) y menor contenido de azúcares solubles.

Uno de los problemas dietarios que afecta a extensos segmentos de la población, es el consumo de productos

hipercalóricos, dentro de los cuales figuran de manera destacada los snacks y productos de pastelería, que conducen inevitablemente a la obesidad, afectando de manera importante las expectativas de vida de la población.

El desarrollo de productos hipocalóricos responde justamente a estas inquietudes. En algunos casos, se puede sustituir la sacarosa por edulcorantes naturales y artificiales. En el primer caso se reemplaza la sacarosa por fructosa aprovechando su mayor poder edulcorante lo que permite disminuir la concentración de azúcar en la formulación. Más común es el uso de los edulcorantes sintéticos que pueden reducir de manera significativa la concentración de sacarosa (13-16) como ocurre en la actualidad con el uso de aspartame (NutraSweet), que posee un poder edulcorante 180-200 veces superior a la sacarosa (12).

En otros casos se reducen las calorías, formulando productos con bajo contenido de materia grasa, ya sea reemplazándola parcial o totalmente con sustitutos grasos y emulsificantes; pero cuidando de mantener las características físicas y sensoriales del producto original (17-21).

En base a estos antecedentes, se llevó a cabo el presente estudio cuyo objetivo fue desarrollar productos dietéticos de pastelería en polvo empleando la metodología superficie de respuesta (22,23) para obtener un producto tipo premezcla de buena calidad y aceptabilidad sensorial, muy conveniente y adaptable a la demanda actual, dada las características de la vida moderna, que exigen ocupar menos tiempo en la preparación de los alimentos.

## MATERIALES Y METODOS

Las materias primas empleadas para la elaboración de queque y bizcocho dietéticos fueron: harina clorada; premezcla de azúcares compuesto de sacarosa, fructosa y aspartame en las siguientes proporciones: 63:36:1 para la formulación de queque; y 66:33:1 para la formulación de bizcocho. El resto de los ingredientes fueron: agente liudante, leche en polvo descremada, Spongolit 542 (agente surfactante que refuerza la retención de aire e incrementa el volumen de los productos horneados), lecitina líquida de soya y colorantes (Tartrazina C.I. 19.140 y Sunset Yellow C.I. 15.958).

### Preparación del queque y bizcocho

Las formulaciones de queque y bizcocho dietéticos se presentan en la Tabla 1. Para su elaboración, se pesaron previamente los ingredientes en una balanza digital (sensibilidad 0,01 g) y luego se mezclaron en una batidora (Somela T-138) a 1000 rpm por 2 minutos para el caso del queque, y 3 minutos para el bizcocho. La lecitina de soya se calentó en baño maría (Memmert) hasta 30°C para reducir su viscosidad y facilitar su incorporación a la mezcla homogeneizando durante 2 minutos para el caso del queque, y 4 minutos para el bizcocho. La mezcla en polvo se pasó por un tamiz (apertura de malla 1 mm) para favorecer la distribución de todos los

ingredientes secos. Para la elaboración de los productos horneados, las mezclas en polvo de queque y bizcocho se homogeneizaron con agua (39% y 32%), respectivamente, añadiendo albúmina de huevo (14,63% y 5,86% para cada formulación) en la batidora por 5 minutos a 1000 rpm. Ambos productos se hornearon a 180°C por 60 minutos y luego dejados a enfriar durante 60 minutos.

TABLA 1  
Formulaciones experimentales de queques y bizcocho dietético

Ingredientes	Concentración (%)	
	Queque	Bizcocho
Harina	59.64	43.86
Premezcla edulcorante	19.00	19.95
Leche en polvo*	3.77	—
Spongolit 542	3.58	8.54
Polvo horneo	3.58	5.93
Lecitina soya	0.89	0.66
Colorante	0.01	0.01
Albúmina huevo	9.53	21.05

\* 0% materia grasa

### Diseño experimental superficie de respuesta

Las variables seleccionadas para el queque dietético fueron spongolit 542 (2%, 4% y 6%) y tiempo de horneo (40, 60 y 80 min.). Para el bizcocho dietético fueron harina (30%, 56% y 82%) y spongolit (6%, 11% y 16%). Mediante un diseño central compuesto rotatorio 2<sup>n</sup>, y considerando los puntos axiales +alfa y- alfa, se prepararon 13 formulaciones experimentales (Tabla 2). Los resultados se llevaron a una matriz de diseño que contenía todos los parámetros de un modelo de segundo orden:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2$$

donde:

Queque: X<sub>1</sub> = % spongolit 542; X<sub>2</sub> = tiempo de horneo

Bizcocho: X<sub>1</sub> = % spongolit 542, X<sub>2</sub> = % harina clorada

Y: valores de calidad sensorial

b<sub>0</sub>, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>11</sub>, b<sub>22</sub>, b<sub>12</sub>: coeficientes de regresión

Usando el programa computacional Statgraphics 7.0 se determinaron los coeficientes de regresión del modelo de segundo orden, y el gráfico de contorno. La significancia y ajuste del modelo se realizó mediante análisis de varianza.

### Evaluación sensorial

Un panel de 18 jueces entrenados (p<0.05) determinó la calidad sensorial de las formulaciones experimentales, evaluando en forma integrada los atributos textura, sabor, apariencia, aroma y color. Se empleó una escala no estructurada

(24) de 80 mm con valores extremos «Muy mala» y «Muy buena» respectivamente. Para medir la aceptación de los productos a nivel de consumidor, se realizó una prueba hedónica (24) con 80 evaluadores no entrenados, utilizando una escala de 9 puntos, donde 1 = Me desagrada extremadamente y 9 = Me gusta extremadamente.

TABLA 2  
Diseño factorial 2n central compuesto rotatorio

Experimento	X1*	X2**
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	- alfa	0
6	+ alfa	0
7	0	- alfa
8	0	+ alfa
9***	0	0

Formulación queque dietético

\*X1 Spongolit 542 (%): - alfa = 1.2: -1-2.0: 0-4.0: +1 = 6.0: +alfa - 6.8

\*\*X2 Tiempo (min): - alfa = 31.7: -1-40.0: 0=60.0: +1 = 80.0: +alfa -88.3

Formulación bizcocho dietético

\*X1 Spongolit 542 (%): - alfa = 3.9: -1-6.0: 0=11.0: +1 = 6.0: +alfa - 18.1

\*\*X2 Harina clorada (%): - alfa = 19.2: -1-30.0: 0=56.0: +1 = 82.0: +alfa -92.7

\*\*\*Punto central repetido cinco veces

### Análisis proximal

Las formulaciones optimizadas de los productos horneados de queque y biscocho dietéticos, se caracterizaron en forma proximal y fueron comparados con productos comerciales. Proteína, extracto etéreo, cenizas, humedad, fibra cruda y carbohidratos fueron analizados (25). En la determinación de proteínas se usó el factor de conversión 6,25. Calorías fueron calculadas aplicando los coeficientes de Atwater: 4,0 para proteínas y carbohidratos, y 9,0 para lípidos.

### Estudio de almacenamiento

Muestras de 100 g de los productos optimizados de queque y biscocho dietéticos en polvo fueron colocadas en bolsas de polietileno de 0.30 mm de espesor y almacenadas a 30°C durante 75 días para evaluar su comportamiento. Cada 15 días, se extrajeron muestras de ambos productos determinando, para las premezclas en polvo la evolución del índice de peróxido (26); y en el caso de los productos horneados, se analizaron las características sabor y textura aplicando el ensayo discriminador triangular (24), y un panel entrenado de 12 personas. Los resultados se analizaron estadísticamente, con el objeto de establecer diferencias sensoriales significati-

vas entre las muestras para un mínimo de juicios correctos igual a 8 aciertos ( $p < 0.05$ ) y 9 ( $p < 0.01$ ), empleando las tablas de Roessler (24).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Superficie de respuesta

Finalizada la evaluación sensorial, los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de regresión múltiple (Statgraphics 7.0), determinándose los coeficientes de regresión lineal de primer y segundo orden de las ecuaciones características de ambos productos dietéticos. Para la formulación de queque la ecuación resultante fue:

$$Y = 6,54 - 0,25 X_1 + 0,53 X_2 - 0,40 X_1^2 - 2,12 X_2^2 + 0,93 X_1 X_2$$

La significancia estadística de los coeficientes de regresión se presentan en la Tabla 3. Se puede observar que el término cuadrático de la variable tiempo de horneo ( $b_{22}$ ) es significativo ( $p < 0,01$ ) en el modelo, no así los otros efectos y variables. En términos de la elaboración de esta formulación, si se modifica el tiempo de horneo entre los límites postulados en el diseño se obtendrán variaciones significativas en la calidad sensorial de la muestra. Como información adicional, se puede inferir que la calidad sensorial es explicada a través del coeficiente de determinación múltiple en un 80,1% ( $p < 0,05$ ).

TABLA 3  
Análisis de regresión de la calidad sensorial de formulaciones de queque dietético

Variable independiente	Coeficientes de regresión		Valor t
Constante	b0	6.54	17.39
X1	b1	-0.25	-0.85
X2	b2	0.53	1.78
X1 <sup>2</sup>	b11	-0.41	-1.27
X2 <sup>2</sup>	b22	-2.12	-6.65*
X1X2	b1,2	0.93	2.20

X1= Spongolit 542: X2- tiempo cocción

\* Significativo al  $p < 0.01$

Coefficiente de determinación ajustado  $R^2 = 0.80$  (significativo al  $p < 0.01$ )

Para determinar la validez del modelo matemático en la predicción del comportamiento de las variables, se realizó el análisis de varianza a los coeficientes de regresión (Tabla 4). Este resultado muestra que el modelo postulado para explicar la variación de la calidad sensorial a medida que se modifican los valores de las variables independientes es confiable ( $p < 0,05$ ) y concuerda con el valor encontrado para el coeficiente de determinación.

TABLA 4  
Ajuste del modelo matemático formulación de queque dietético

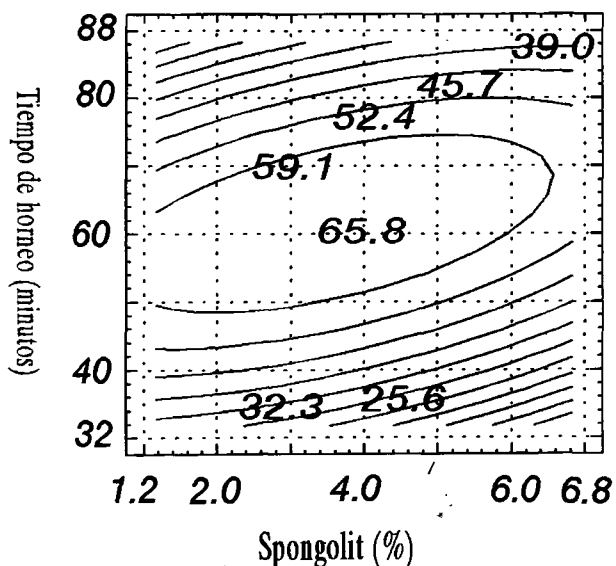
Efecto	Sum. Cuadrado	G. de libertad	Valor F.	Probab.
Modelo	38.59	5		
Error falta ajuste	3.67	3	3.85*	0.11
Error puro	1.27	4		

\*No significativo al  $p < 0.05$

En el mapa de contorno (Figura 1) se observa un punto óptimo para la calidad sensorial (65.8), equivalente a la combinación óptima de 3.7% de spongolit 542 y 62 minutos de tiempo de horneo. La metodología superficie respuesta permite también seleccionar áreas cercanas al valor máximo donde la respuesta aún es aceptable para los fines que se persiguen. En este caso observando el mapa de contorno, el área comprendida por la solución matemática del modelo correspondiente al valor 59.1 también puede ser útil para el queque dietético. Esta área queda definida por los siguientes límites de trabajo: 1.2% y 6% para el agente emulsionante, y entre 48 a 76 min. para el tiempo de horneo. Debido a que el uso de aditivos esta sujeto a normas regulatorias y con el fin de minimizar los costos, para este producto se eligió la formulación optimizada con 2% de spongolit 542 y 48 minutos de tiempo de horneo.

FIGURA 1

Influencia de las variables agente de batido y tiempo de horneo en la formulación de queque dietético



En cuanto a la formulación de bizcocho, el análisis de regresión múltiple permitió determinar los coeficientes de regresión lineal y cuadráticos de la ecuación polinómica:

$$Y = 6.95 + 0,05 X_1 + 0,06 X_2 - 0,81 X_1^2 - 2,29 X_1^2 + 0,41 X_1 X_2$$

La significancia estadística de los coeficientes de regresión para el bizcocho dietético se presenta en la Tabla 5 donde se aprecia que los términos cuadráticos de las variables independientes spongolit 542  $b_{11}$  y harina clorada ( $b_{22}$ ) son significativos ( $p < 0,05$ ). La calidad sensorial del bizcocho dietético es explicada a través del coeficiente de determinación múltiple en un 83.7% ( $p < 0,05$ ). Finalmente se determinó el ajuste del modelo matemático con el objeto de demostrar la validez en la predicción del comportamiento de la variable dependiente (Tabla 6). El resultado de este análisis muestra que el modelo postulado para la calidad sensorial del bizcocho dietético es adecuado ( $p < 0,05$ ).

TABLA 5  
Análisis de regresión de la calidad sensorial de formulaciones de bizcocho dietético

Variable Independiente	Coefficientes de regresión	Valor t
Constante	$b_0$	6.95
X1	$b_1$	0.052
X2	$b_2$	0.06
$X_1^2$	$b_{11}$	-0.81
$X_2^2$	$b_{22}$	-2.29
$X_1 X_2$	$b_{1,2}$	0.41

X1- spongolit 542; X2- harina clorada

\* Significativo al  $p < 0.01$

Coefficiente de determinación ajustado  $R^2 = 0.83$  (significativo al  $p < 0.01$ )

TABLA 6  
Determinación del ajuste del modelo de regresión de la formulación de bizcocho dietético

Efecto	S. Cuadrados	G. Libertad	Valor F.	Probabilidad
Modelo	41.84	5		
E. falta ajuste	2.82	3	2.99*	0.16
E. Puro	1.26	4		

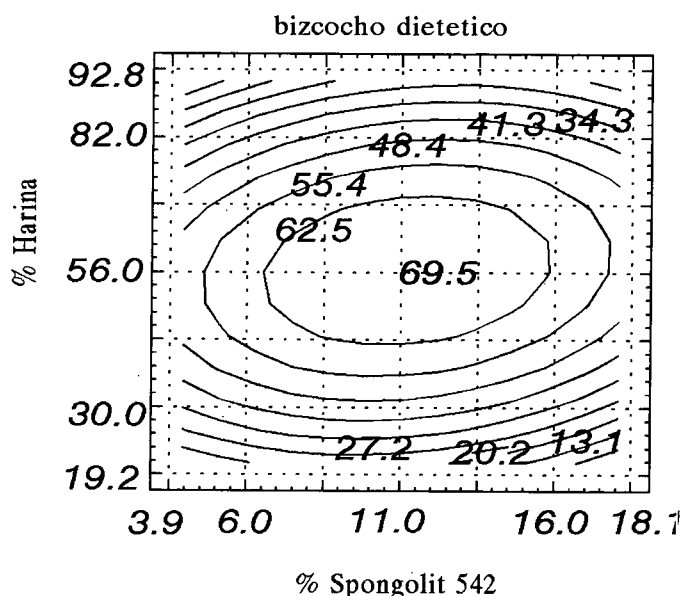
\* No significativo  $p < 0.05$

Analizando el gráfico de contorno (Figura 2) es posible observar un punto óptimo (69.5) que nos entrega la solución del modelo para la formulación de bizcocho de mejor calidad sensorial. La combinación adecuada de las variables estudiadas resultó ser 58% de harina clorada y 11.5% de Spongolit 542. Igualmente, por razones de restricción del uso del aditivo y tomando en cuenta criterios económicos, para el bizcocho dietético se seleccionó el área circunscrita por la solución de la ecuación correspondiente a 62.5 y que comprende los límites 6,2% y 15% para spongolit, y 40,4% y 71,6% para

harina clorada. En esta área se optó por la formulación con menor incorporación de spongolit 542 (6,2%) y harina clorada (48,2%).

FIGURA 2

Influencia de las variables harina y Spongolit 542 sobre la calidad sensorial de bizcocho dietético



### Análisis proximal

Los resultados del análisis proximal realizados a las formulaciones horneadas de queque y bizcocho dietéticos así como de los productos comerciales equivalentes se indican en la Tabla 7. Los productos optimizados presentan un contenido de humedad cercano al 40% con relación a los comerciales, en los cuales fluctúa aproximadamente en torno al 30%, lo que incide a su vez en la reducción del aporte calórico. Esto puede explicarse por el uso del Spongolit 542, el cual siendo una mezcla de monoglicéridos esterificados, proteínas lácteas y carbohidratos, presenta una tendencia a absorber mayor cantidad de agua en comparación con moléculas grasas más complejas como los triglicéridos. Los mono y diglicéridos en general son los emulsificantes más ampliamente utilizados, estimándose que son usados en un 75% de los alimentos más ampliamente conocidos como lácteos, margarinas, chocolates, helados, etc (27,28). Datos publicados recientemente respecto solamente a la demanda europea señalan que el mercado de emulsionantes y derivados se ha incrementado un 65% en el período 1980-1997 (28). Respecto al porcentaje de proteínas, no hay una marcada diferencia entre las distintas muestras. Cabe destacar la importante disminución en el contenido de materia grasa en los productos dietéticos, debido más que nada a la incorporación de lecitina, mientras que en los productos comerciales se incorporan huevo entero y mar-

garina. Esto determina diferencias importantes en el menor aporte calórico de los productos desarrollados en comparación a los productos comerciales. En este estudio la reducción del contenido graso fue de un 82% para la formulación de queque y un 72% para el bizcocho. Conviene destacar también la ausencia de yema de huevo en las formulaciones experimentales. Aunque este componente es usado tradicionalmente en productos de pastelería, su incorporación presenta ventajas y desventajas. Entre las primeras, actúa como un emulsificante y además imparte sabor, textura suave y color deseables a los productos terminados. Dentro de las limitaciones de su empleo figura su contenido en colesterol y la formación de productos indeseables de la oxidación de colesterol durante el procesamiento de alimentos y posterior almacenamiento (29-32).

TABLA 7

Análisis proximal de formulaciones optimizadas de queque y bizcocho dietético y productos comerciales equivalentes (%)

Componentes	Formulaciones de queque		Formulaciones de bizcocho		
	Dietético	Comercial	Dietético	Comercial A	Comercial B
Humedad	41.42	30.05	43.03	30.7	29.72
Proteínas*	6.58	7.02	6.6	8.02	7.09
E. etéreo	2.07	11.23	3.17	4.35	11.28
Cenizas	1.33	1.77	2.03	1.48	1.85
Fibra	0.16	0.2	0.16	0.16	0.19
Azúcares**	48.44	49.73	45.1	55.29	49.87
Calorías***	238.71	328.07	234.97	292.39	329.36

\* N x 6,25

\*\*Por diferencia

\*\*\*Cal/100g

### Ensayos de vida útil

Es sabido que durante el tiempo de almacenamiento algunos productos alimenticios ven favorecidos o desmejorados sus atributos sensoriales. En el caso de los productos de pastelería, los problemas más comunes que afectan la estabilidad tienen relación con aspectos organolépticos tales como aroma, sabor, textura y color. Bajo las condiciones de almacenamiento señaladas previamente, la modificación de las características sabor y textura se muestran en la Tabla 8. Es posible concluir de los datos obtenidos al aplicar la prueba triangular (Tabla 8), que finalizado el período de almacenamiento, en ningún caso se sobrepasó el número mínimo de juicios correctos, por lo que no es posible determinar diferencias significativas entre las muestras analizadas ( $p < 0.01$ ). En cuanto al deterioro debido al fenómeno de enranciamiento, finalizado el período de ensayo se encontraron valores de índice peróxido de 2.57 y 2.78 meq/kg grasa para ambos productos respectivamente (Tabla 8). Estas cifras son inferiores a las señaladas para detectar organolépticamente la presencia de peróxidos en un alimento, que equivalen a un rango entre 10 a 20 meq/kg de grasa (23).

TABLA 8

Resultados del test triangular para muestras de queque y bizcocho durante 75 días de almacenamiento a 30°C

Días Almacenamiento	Sumatoria puntajes correctos*	
	Queque	Bizcocho
15	2	2
30	3	4
45	4	4
60	4	6
75	5	6

\*Número mínimo juicios correctos=9 para diferencias significativas ( $p < 0.01$ )

Los resultados de las pruebas de aceptabilidad de las formulaciones de queque y bizcocho efectuado a 80 personas mostraron valores promedios de 6.7 y 7.7, respectivamente, correspondiente según la escala de calificación hedónica a «me gusta moderadamente» y «me gusta mucho» respectivamente. Estos resultados concuerdan con los ensayos de calidad sensorial anteriormente informados.

### CONCLUSIONES

Utilizar la metodología de superficie de respuesta para formular y desarrollar productos con características especiales ha demostrado ser una excelente herramienta para simplificar diseños experimentales que permitan trabajar simultáneamente con varias variables.

En este trabajo se demostró la factibilidad de desarrollar premezclas de productos de pastelería como queque y bizcocho dietéticos listos para preparar y consumir, con bajo contenido en grasas (rango entre 70% a 80% inferiores a productos comerciales tradicionales) y calorías (valores inferiores entre 20% a 27%). Se optimizaron las variables seleccionadas para cada producto, Para el queque estas variables fueron «Spongolit 2%» y tiempo de horneado 48 minutos», y para bizcocho fueron «Spongolit 542, 6.2% y harina clorada 48.2%».

Ambos productos dietéticos presentaron buenas características sensoriales y de aceptabilidad, así como buena estabilidad al almacenamiento, demostrando que es posible ofrecer al mercado consumidor productos con ventajas comparativas mejores que los productos convencionales similares, al reemplazar sus principales fuentes calóricas.

### REFERENCIAS

- Kinsella JE. Food lipids and fatty acids: importance in food quality, nutrition, and health. *Food Technol*, 1988;42: 124-140.
- Varela L. Enfermedades nutricionales. Edit Talleres Gráficos. Universidad de Santiago de Chile. Santiago de Chile; 1985.
- Valiente S. Enseñanza de la nutrición en Agricultura. 2da edición. Editorial ONU.FAO-INTA, Universidad de Chile. Santiago de Chile; 1988
- Contreras P. Guía para controlar el colesterol. Alimentación Salud. Edit. Manquehue. Santiago de Chile; 1989.
- Smith T. Enciclopedia de la salud familiar. Editorial Interamericana McGraw-Hill. Zaragoza; 1990.
- Barker P and Stanley C. Fat and Calorie - Modified bakery products. *International Food Ingredients* 1994;1/2:19-24.
- Araya J. La dieta, primera línea de defensa para reducir el colesterol. *Rev Chil Nutr*. 1995;23(1): 7-15.
- Hoogenkamp H. Lifestyle and food. *International Food Ingredients*. 1994;3: 27-29.
- Chase P. Diabetes and Diet. *Food Technol*. 1979;33:60-64.
- Claire R. Functional phenomenum. *International Food Ingredients* 1999;1: 27-28.
- Singhavanich C. Patanawong S, Glucomannan. Production and application in health food. *International Food Ingredients*. 1992;6:27-29.
- Ibieta A. Desarrollo de productos horneados con fibra dietaria para el adulto mayor. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile, 1995.
- Wittig E y Weinacker B. Aspectos Tecnológicos de los edulcorantes. *Rev Alimentos* 1990;15:49-58.
- Chuaqui P. Efecto de la adición de cuatro edulcorantes sintéticos y dos mezclas de ellos sobre características físico-químicas y organolépticas de conservas de pera y mermeladas de naranja dietética. Trabajo de titulación. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago de Chile 1997.
- Linley M. Non nutritive sweeteners. *International Food Ingredients* 1993;6: 11-14.
- González J. Alimentos dietéticos. Tesis de titulación. Universidad de Santiago de Chile, Santiago de Chile 1990.
- Leutzing R, Baldwin R, Cotterill J. Sensory attributes of commercial egg substitute mixtures. *J Food Sci*. 1997;42:1124-1125.
- Gardner FA, Beck ML and Denton JH. Functional quality comparison of whole egg and selected egg substitute products. *Poultry Sci*. 1982;61:75-78.
- Warren MW and Davis DR. Processing and sensory evaluation of scrambled eggs containing defatted yolk solids. *J Food Sci*. 1990;55:583-584.
- Tuley L. Golden spread. Formulating low-fat spread. *International Food Ingredients*. 1997;2: 10-12.
- Wijnans GW, Baal H. Sucrose esters of fatty acids. *International Food Ingredients*. 1993;6: 27-30.
- Gacula M and Singh J. Statistical methods in food and consumer research. Academic Press, Inc. Orlando, Florida., 1984.
- Giovanni M. «Response surface methodology and product optimization». *Food Technol*. 1983;37:41-45.
- Wittig E. Evaluación sensorial, una metodología actual para tecnología de los alimentos. Talleres Gráficos de la Universidad de Santiago de Chile. Santiago de Chile, 1982.
- Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 15° edición. Arlington, Virginia. The Association, 1990.
- Schmidt-Hebbel, H. Ciencia y Tecnología de los Alimentos Talleres Alfabeta Impresores. Santiago de Chile; 1981.
- Du. tary D. «Emulsifiers alter fat functionalities». *Food Process* 1992;53:86-98.

28. Goldon I, Krishnacumar V. «Emulsifiers. European demand». *International Food Ingredients*. 1999; Vol 1: 14-16.
29. Addis PB and Warner GJ. «The potential health aspects of lipid oxidations products in food. Ch. 5 in *Free Radicals and Food Additives*», O.I. Aruoma and Halliwell (De.), p. 77-119. Taylor and Francis, London. 1991.
30. Fontana A, Antoniazzi F, Ciavatta ML, Tivellone E and Cimino G. NMR study of cholesterol auto-oxidation in egg powder and cookies exposed to adverse storage. *J Food Sci*. 1993;58:1286-1290.
31. Connor SL and Connor WE. The importance of dietary cholesterol in coronary heart disease. *Prev Med*. 1983;12:115-123.
32. Warren MW, Larick DK and Ball HR. Volatiles and sensory characteristics of cooked egg yolk, white and their combinations. *J Food Sci*. 1995;60:79-84.

Recibido: 20-04-1999

Acceptado: 11-10-1999

## Estudio de algunas características de las proteínas de *Canavalia*

Ramírez M., Alejandra O. y Ortiz de Bertorelli, Ligia

Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar las proteínas del grano de los genotipos venezolanos de *Canavalia ensiformis*: U-02, Yaracuy, Valle de La Pascua, Original y Tovar. Estos genotipos presentaron un contenido proteico promedio de 31,37%, el cual varió entre 28,44% y 33,05%. El aislamiento de las proteínas se llevó a cabo según su solubilidad, lográndose extraer en promedio 84,57% de albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico y 15,43% de glutelinas reducidas insolubles en alcohol (AIG). El contenido de los factores antinutricionales (canavanina y título hemaglutinante) en las fracciones proteicas fue: Albúminas 1,96%, +4; Globulinas 0,17%, +5; AIG 0,22%, +1; observándose que las fracciones proteicas del genotipo Tovar mostraron los valores más bajos de Canavanina (0,79%; 0,02% y 0,00% respectivamente). La digestibilidad proteica *in vitro* reveló que las globulinas fueron las proteínas que presentaron mayor digestibilidad (65,20%), seguidas de las albúminas (58,90%) y de las AIG (37,28%).

**Palabras clave:** Canavalia, aislamiento proteico, digestibilidad proteica, factores antinutricionales.

**SUMMARY.** Characterization of protein from *Canavalia*. The purpose of this work was the isolation and characterization of grain protein from five Venezuelans Genotypes (U-02, Yaracuy, Valle De La Pascua, Originaly Tovar) of Jack Bean (*Canavalia ensiformis*). The average protein content from these genotypes was 31.37%, it ranged between 28.44% and 33.05%. The protein isolation was performed by solubility extraction procedures, showed: 84.57% of albumins, globulins and non proteic nitrogen and 15.43% of alcohol insoluble reduced glutelin (AIG). The content of antinutritional factors (canavanine and hemagglutination title) found in protein fractions were respectively: Albumins 1.96%. +4; globulins 0.17%. +5 and AIG 0.22%. +1. It was observed that protein fractions of genotype Tovar had the lowest canavanine values (0.79%, 0.02% and 0.00% respectively). The globulins gave the highest *in vitro* protein digestibility (65.20%) followed by Albumins (58.90%) and AIG (37.28%).

**Key words:** Jack Bean, protein isolation, protein digestibility, antinutritional factors.

### INTRODUCCION

Las leguminosas se caracterizan por tener un contenido proteico alto, el cual varía entre 17% y 50% predominando las globulinas que constituyen del 50% al 80% de la proteína total. Las albúminas y glutelinas representan porcentajes menores y las prolaminas se encuentran desde trazas hasta un 3% (1).

En *canavalia* se ha reportado que el 30% de la proteína total del grano está compuesto por 45% de globulinas, 23% de glutelinas y 14% de albúminas. La extracción de las albúminas en estos granos se ha logrado utilizando agua y solución de NaCl 0,5 M respectivamente. Caracterizándose las albúminas por tener aminoácidos azufrados, lo que le confiere un valor biológico mayor que el del resto de las proteínas (2).

Los aminoácidos que más abundan en las proteínas del grano de *canavalia*, al igual que en la mayoría de las leguminosas, son escasos en los cereales y viceversa, por esta razón una mezcla de partes iguales de estos granos, tendrá un valor nutritivo de más del doble que el de cada componente por separado. Esta suplementación en el valor biológico de las proteínas de las leguminosas y cereales es de gran importancia en la alimentación popular (3).

La utilización de la *canavalia* como recurso alimenticio está limitada por la baja digestibilidad de sus proteínas (4) y por la

presencia de factores antinutricionales tales como la concanavalina A, la canavanina y los taninos. Sin embargo existen evidencias del efecto positivo de algunos tratamientos como el remojo, la cocción y el tostado en la reducción de estos factores y en el aumento de la digestibilidad proteica (2,4).

En Venezuela, al igual que en otros países, hay un gran interés por utilizar esta leguminosa como fuente alimenticia, con este propósito se han realizado, con éxito, estudios de mejoramiento que han llevado al desarrollo de genotipos venezolanos de buenas características agronómicas y nutricionales (5), de los cuales se hace necesario conocer su composición proteica, así como las características bioquímicas y nutricionales de las proteínas, con la finalidad de continuar el mejoramiento de este cultivo para su utilización animal y humana.

### MATERIALES Y METODOS

#### Materiales

Los granos de los genotipos venezolanos de *Canavalia ensiformis*, utilizados en este trabajo, fueron suministrados por el profesor Julio Viera del Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, e identificados como: U-02, Yaracuy, Valle de La Pascua, Original y Tovar.

## Métodos

**Preparación de las harinas:** Los granos de los diferentes genotipos fueron lavados con agua, dejados secar durante una noche a 37°C en estufa de aire forzado y luego molidos en un molino con malla de 0,5 mm. Las harinas fueron desgrasadas con éter de petróleo, usando una relación 1:3 (p/v) y almacenadas a una temperatura entre 8° y 10°C para su posterior análisis.

**Análisis de nitrógeno:** Fue utilizado el método micro-Kjeldahl descrito en el AOAC (6). El contenido de proteína fue calculado multiplicando el nitrógeno obtenido por 6,25 (7).

**Fraccionamiento de las proteínas:** Las proteínas fueron fraccionadas, según su solubilidad, siguiendo el método de Paulis y Wall (8). Los extractos proteicos recolectados fueron dializados contra agua destilada por 48 h. Las globulinas precipitadas fueron separadas de las albúminas por centrifugación. Las fracciones proteicas fueron liofilizadas y almacenadas entre 8° y 10°C.

**Factores antinutricionales:** a) Canavanina: Se determinó por el método colorimétrico descrito por Bell (9), usando el reactivo pentacianoamminoferrato. b) Título hemaglutinante: Se realizó por el método señalado por Jaffé (10), utilizando sangre de conejo y citrato de sodio como anticoagulante.

**Digestibilidad proteica in vitro:** Se procedió según el método de Akeson y Stahman (11), utilizando caseína como proteína patrón.

**Análisis estadísticos:** Los resultados obtenidos en el fraccionamiento proteico y en la digestibilidad *in vitro*, se sometieron a un análisis de varianza a un nivel de significación del 5%, complementado con una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Fraccionamiento proteico

Con el fraccionamiento proteico (Tabla 1), se logró extraer un promedio de 80.05% del total de la proteína de los granos estudiados, correspondiendo un 67,70% a la fracción constituida por las albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico y un 12,35% a la fracción formada por las glutelinas reducidas insolubles en alcohol (AIG). En estos granos de canavalia no se detectaron ni prolaminas ni glutelinas solubles en alcohol (ASG).

En las proteínas de la canavalia (Tabla 2), al igual que en otras leguminosas, la fracción compuesta por las albúminas y globulinas fue la más abundante (84,57%), resultados que coinciden con los de la literatura revisada (2, 16-21). En cambio, las AIG constituyeron la fracción de menor proporción (15,43%) en todas las muestras analizadas.

TABLA 1  
Fraccionamiento de las proteínas del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Fracción proteica (%) *				Proteína recuperada
	ALB, GLO, NNP	Prolaminas	ASG	AIG	
U-02	69,21	—	-	11,73	80,94
Yaracuy	69,88	—	-	12,41	82,29
Tovar	65,39	—	-	12,52	77,91
Original	64,48	—	-	11,33	75,81
Valle de La Pascua	69,54	—	-	13,77	83,31
Promedio	67,70	—	-	12,35	80,05

\* Gramos de fracción proteica/100 g de proteína

TABLA 2  
Fracciones proteicas promedio del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Fracción proteica (%) **		
	% Proteína*	ALB, GLO, NNP	AIG
U-02	33,05 <sup>a</sup>	85,50 <sup>a</sup>	14,50 <sup>b</sup>
Yaracuy	30,91 <sup>b</sup>	84,92 <sup>a</sup>	15,08 <sup>b</sup>
Tovar	32,70 <sup>a</sup>	83,93 <sup>b</sup>	16,03 <sup>a</sup>
Original	28,44 <sup>c</sup>	85,05 <sup>a</sup>	14,95 <sup>b</sup>
Valle de La Pascua	31,73 <sup>a,b</sup>	83,47 <sup>b</sup>	16,53 <sup>a</sup>
Promedio	31,37	84,57	15,43

\* % en base seca

\*\* Gramos de fracción proteica/100 g de proteína Los promedios en columna que presentan letras comunes no alcanzan entre sí, diferencias significativas al nivel del 5%.

El análisis estadístico detectó diferencias significativas al nivel del 5%, entre los contenidos de las fracciones proteicas, demostrando la prueba de medias que los genotipos U-02, Yaracuy y Original tienen una composición proteica similar. Estos genotipos presentan la mayor proporción de la fracción albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico (84,92%-85,50%) y el menor contenido de AIG (14,50%-15,08%). Igualmente, la composición de las proteínas de los genotipos Tovar y Valle de La Pascua fue la misma, teniendo estos granos menor cantidad de albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico (83,47%-83,93%) y mayor porcentaje de AIG (16,03%-16,53%) que los anteriores.

### Contenido proteico de las fracciones proteicas

La cantidad de proteína presente en las albúminas, globulinas y las AIG se muestra en la Tabla 3, se observa que el contenido proteico promedio de estas fracciones fue 68,15%;

87,42% y 12,36% respectivamente, lo que indica que la fracción globulinas es la que tiene el mayor contenido proteico y por ende la mayor pureza. Estos resultados concuerdan con los reportados por otros autores para otras leguminosas (17, 19).

TABLE 3  
Pureza (% proteína) de las fracciones proteicas del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Fracción proteica		AIG
	Albuminas	Globulinas	
U-02	66,44	89,40	11,80
Yaracuy	71,65	88,48	12,49
Tovar	73,39	83,34	12,59
Original	63,34	88,47	11,30
Valle de La Pascua	65,64	87,42	13,61
Promedio	68,15	87,42	12,36

#### Factores antinutricionales

En las Tablas 4, 5 y 6 se indican los resultados obtenidos en la determinación de los factores antinutricionales (canavanina y título hemaglutinante) de las fracciones proteicas del grano de los cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*.

TABLE 4  
Concentración de canavanina y título hemaglutinante en las albúminas de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipo	Canavanina %	Título hemaglutinante
U-02	2,04	+ 6
Yaracuy	1,50	+ 4
Tovar	0,79	+ 4
Original	3,65	+ 4
Valle de La Pascua	1,84	+ 4
Promedio	1,96	+ 4

TABLE 5  
Concentración de canavanina y título hemaglutinante en las globulinas de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipo	Canavanina %	Título hemaglutinante
U-02	0,08	+ 6
Yaracuy	0,52	+ 5
Tovar	0,02	+ 5
Original	0,11	+ 5
Valle de La Pascua	0,11	+ 4
Promedio	0,17	+ 5

TABLE 6  
Concentración de canavanina y título hemaglutinante en las AIG de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipo	Canavanina %	Título hemaglutinante
U-02	0,64	+ 1
Yaracuy	0,22	+ 1
Tovar	0,00	+ 1
Original	0,26	+ 0
Valle de La Pascua	0,00	+ 1
Promedio	0,22	+ 1

La concentración de canavanina en las albúminas de los diferentes genotipos osciló entre 0,79% y 3,65% con un promedio de 1,96%; en las globulinas estuvo entre 0,02% y 0,52% con una media de 0,17% y en las AIG varió entre 0,00% y 0,64% con 0,22% de promedio. El mayor contenido de canavanina, en las albúminas, podría deberse a una retención de este aminoácido durante la diálisis aplicada en el proceso de separación de esta fracción.

Al comparar los valores de canavanina con los obtenidos por Ramírez y Ortiz (5) en las harinas de estos genotipos (2,02%-4,86%), se observa que la concentración de este compuesto es menor en las distintas fracciones proteicas que en las harinas, por lo que se considera que el proceso de fraccionamiento proteico conlleva a una disminución de este aminoácido, lo cual sería deseable.

De todos los genotipos estudiados, las fracciones proteicas del genotipo Tovar, contienen el menor porcentaje de canavanina: (0,00%-0,79%), por lo cual podría suponerse que este genotipo presenta una mejor calidad nutricional respecto a este compuesto, que los otros genotipos estudiados. En tanto que las mayores proporciones las presentan las albúminas del Original (3,65%), las globulinas del Yaracuy (0,52%) y las AIG del U-02 (0,64%).

En relación con el título hemaglutinante, podemos señalar que en las albúminas de los diferentes genotipos, al igual que en las globulinas, este factor varió entre +4 y +6, siendo los valores promedios: +4 y +5 respectivamente, correspondiendo el valor más alto al U-02, mientras que en las AIG el contenido fue menor, mostrando valores entre 0 y 1 con una media de +1.

Al comparar los resultados correspondientes al título hemaglutinante con los reportados por Ramírez y Ortiz (5) en harinas de estos genotipos (+2 - +5), se aprecian valores ligeramente menores de título hemaglutinante en las harinas que en las fracciones proteicas albúminas y globulinas; quizás esto pueda deberse a que la concanavalina A, que es una proteína globular, se retiene o concentra en el proceso de fraccionamiento proteico. Sin embargo, se debe señalar que la prueba empleada es cualitativa, es decir sólo indica la presencia o no de concanavalina A en una muestra.

### Digestibilidad proteica *in vitro*

La digestibilidad proteica *in vitro* de las fracciones proteicas del grano de cinco genotipos de canavalia y de la caseína se muestra en la Tabla 7. Estos resultados presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos. Al observar los valores promedios de este parámetro, en las diferentes fracciones, podemos notar que las globulinas son las proteínas que presentan mayor digestibilidad promedio (65,20%), seguidas por las albúminas (58,90%) y por las AIG (37,28%). Estos valores promedios fueron mayores que los reportados por Gómez (2), quien encontró mayor digestibilidad proteica *in vitro* para las albúminas que para las globulinas. Estas discrepancias en los resultados pueden ser atribuidas a las condiciones bajo las cuales se realizaron cada uno de los ensayos, así como a las características de las enzimas usadas.

TABLA 7

Digestibilidad proteica *in vitro* de las fracciones proteicas del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Digestibilidad <i>in vitro</i> (%) *		
	Albúminas	Globulinas	AIG
U-02	62,97 <sup>a</sup>	63,83 <sup>c</sup>	41,71 <sup>a</sup>
Yaracuy	55,98 <sup>b</sup>	64,81 <sup>b</sup>	33,64 <sup>b</sup>
Tovar	52,64 <sup>c</sup>	71,49 <sup>a</sup>	35,12 <sup>b</sup>
Original	61,07 <sup>a</sup>	61,28 <sup>d</sup>	33,62 <sup>b</sup>
Valle de La Pascua	61,77 <sup>a</sup>	64,58 <sup>c</sup>	42,33 <sup>a</sup>
Promedio	58,90	65,20	37,28

\* Gramos de proteína digerida / 100 g de proteína

Los promedios en columna que presentan letras comunes no alcanzan diferencias significativas entre sí al nivel del 5%.

La prueba de medias reveló que las albúminas de los genotipos U-02 (62,97%), Valle de La Pascua (61,77%) y Original (61,07%) tienen una digestibilidad similar, la cual es superior a la del genotipo Yaracuy (55,98%) y Tovar (52,64%), cuyos valores difieren significativamente entre sí y de los anteriores. En tanto que en las globulinas, la mayor digestibilidad (71,49%) le correspondió al genotipo Tovar y la menor (61,28%) a la del Original, siendo todos los valores estadísticamente diferentes, excepto los de las canavalias Valle de La Pascua (64,58%) y U-02 (63,83%) que no alcanzaron diferencias significativas entre sí. Igualmente, la digestibilidad de las AIG de los genotipos Valle de La Pascua (42,33%) y U-02 (41,71%) no alcanzó diferencias y fue superior a la del Tovar (35,12%), Yaracuy (33,64%) y Original (33,62%), cuyos valores tampoco difirieron al nivel del 5%.

La mayor digestibilidad de las albúminas (62,97%) la presentó el genotipo U-02, la de las globulinas (71,49%) el Tovar y la de las AIG (42,33%) el genotipo Valle de La Pascua. Asimismo, la menor digestibilidad de las albúminas

(52,64%) la mostró la canavalia Tovar y la de las globulinas (61,28%) y AIG (33,62%) la Original. Entre los genotipos analizados se destacaron Valle de La Pascua y U-02 por tener alta digestibilidad de sus fracciones proteicas.

La digestibilidad mostrada por las albúminas y globulinas de los genotipos analizados es mayor a la de las harinas crudas, las cuales de acuerdo a lo reportado por Ramírez y Ortiz (5), presentaron en promedio 49,87% de digestibilidad, es decir, estas fracciones son más digeribles que las harinas crudas.

### CONCLUSIONES

Al fraccionar las proteínas del grano de los genotipos de *Canavalia* en estudio, se observó que las albúminas y globulinas son las fracciones proteicas más abundantes, presentando estas últimas un contenido proteico mayor, lo que indica que se obtuvieron más puras. La determinación de los factores antinutricionales reveló que en las albúminas hay una mayor concentración de canavanina, sin embargo con respecto al título hemaglutinante no hay diferencias entre estas fracciones. Cabe resaltar que las fracciones proteicas del genotipo Tovar presentaron la menor cantidad de este aminoácido por lo que se puede decir que este genotipo presenta una mayor calidad nutricional, respecto a este compuesto que los otros genotipos analizados. La digestibilidad proteica *in vitro* indicó que las globulinas presentaron mayor digestibilidad que las otras fracciones, asimismo se apreció que las albúminas y globulinas de estos genotipos presentaron mayor digestibilidad que las harinas. En general las globulinas son la fracción proteica de mejor calidad nutricional, debido a que su contenido proteico fue mayor, presentó menos cantidad de canavanina y tuvo una mayor digestibilidad proteica.

### AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su reconocimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (C.D.C.H.), por el financiamiento de esta investigación (Proyecto 01.37.2873.92) y agradecen al Ingeniero Agrónomo Julio Vera, la donación de las muestras de *Canavalia*.

### REFERENCIAS

1. Desphande S. Food Legumes: Chemistry and Technology. Chapter 3. En: Advances in Cereal Science and Technology. Vol. X,Y. Pomeranz. Ed Am Assoc Cereal Chemists. St. Paul MN. 1990; 147-241.
2. Gómez A. Efectos de tratamientos físicos y químicos sobre los factores antinutricionales presentes en las semillas de *Canavalia ensiformis*. Digestibilidad *in vivo* e *in vitro*. Tesis de Doctorado. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 1990:163.
3. Jaffé W. Leguminosas de consumo humano. Revista Alcance No. 35: 88-93. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1986.

4. Bressani R, Gómez R, García A y Elias L. Chemical composition amino acid content and protein quality of *Canavalia* spp. seeds. *J Sci Food Agric*. 1987;40(1):17-23.
5. Ramirez A y Ortiz de Bertorelli L. Características químicas y nutricionales del grano de cinco (5) genotipos de *Canavalia ensiformis*. *Arch Latinoamer Nutr*. 1997;47(3): 234-236.
6. Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C.). Official Methods of Analysis. 13th Ed. Washington D.C. 1990:1298.
7. Rodríguez B y Martín E. Análisis de alimentos. Tomo I. Organización de Bienestar Estudiantil (O.B.E.). Universidad Central de Venezuela. 1980;396.
8. Paulis J y Wall J. Comparison of the proteins composition of selected corns and their wild relatives Teosinte and *Tripsacum*. *J Agric Food Chem*. 1977;25(2):2265-2270.
9. Bell E. Canavanine and related compounds in leguminosae. *The Biochemical Journal*. 1958;70:617.
10. Jaffé W. Hemagglutinin toxic constituents of plant foodstuffs. Ed. I.E. Liener Academic Press. New York. 1969;69-101.
11. Akesson y Stahman. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *J Nutrition* 1967;83:257-261.
12. Ortiz de Bertorelli L. Extracción y caracterización de las zeínas del grano de diez cultivares de maíz. *Arch Latinoamer Nutr*. 1993;42(3): 248-253.
13. Molina M y Bressani R. Protein starch extraction and nutritive value of the jack bean and jack bean protein isolate. En: Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as animal and human foods. Ed. Jaffé, W.G. *Arch Latinoamer Nutr*. Caracas, Venezuela. 1975.
14. Carabaño J. Granos de *Canavalia ensiformis* en raciones para gallinas ponedoras. V Ciclo de Conferencias sobre Producción Avícola. Maracay, Venezuela. 1985.
15. Angulo J, Carre B, Harcoast J y Picard M. Composición química y papel de aminoácidos del grano de *Canavalia ensiformis* como recurso para la alimentación animal. XXXVI Convención Anual de ASOVAC. Suplemento No. 1. Caracas, Venezuela. 1986;153-163.
16. Duranti M y Carletti P. Amino acid composition of seed proteins of *Lupinus albus*. *J Agric Food Chem*. 1979;27(5): 977-978.
17. Sathe S y Salunkhe D. Solubilization and electrophoretic characterization of the great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins. *J Food Sci*. 1981;46(5):82-87.
18. Marquez U y Jajolo F. Composition and digestibility of albumins and glutelins from *Phaseolus vulgaris*. *J Agric Food Chem*. 1981;29:1068-1074.
19. Kawakishi S y Namiki M. Albumins proteins of eight edible grain legume species. Electrophoretic patterns and amino composition. *J Agric Food Chem*. 1982;30:620-622.
20. Oomah B y Bushuk W. Characterization of lupine proteins. *J Food Sci* 1983;48(1):38-41.
21. Theertha D. Characterization of sunflower albumins. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie*. 1987;20(1):22-25.

Recibido: 11-12-1998

Aceptado: 30-09-1999

## Estudio electroforético de las albúminas y globulinas de cuatro genotipos de *Canavalia ensiformis*

Ligia Ortiz de Bertorelli y Alejandra Ramírez

Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela

**RESUMEN.** Para el estudio de las albúminas y globulinas de semillas de *Canavalia ensiformis*, se utilizaron la electroforesis en gel discontinuo de poliacrilamida (PAGE) y la electroforesis en gel discontinuo de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (PAGE-SDS). En la PAGE, la concentración de acrilamida usada en el gel superior fue 4.0% con un pH de 6,7 y en el gel inferior se utilizó 7,5% y 10% de acrilamida con un pH de 8,9. En la PAGE-SDS se empleó 4,4% de acrilamida con un pH de 6,8 en el gel superior y 7,5% y 12,6% de acrilamida con un pH de 8,8 en el gel inferior. Los materiales estudiados fueron los genotipos venezolanos Tovar, Yaracuy, Original y U-02. Las albúminas y globulinas fueron extraídas con solución de NaCl 0,5M y luego separadas por diálisis contra agua y liofilizadas. Estas fracciones proteicas representaron 84,85% de la proteína total de la semilla. Las albúminas fueron separadas en PAGE al 7,5% de acrilamida en cinco componentes y las globulinas en seis, siendo los patrones electroforéticos semejantes entre los genotipos analizados. Así mismo, los patrones PAGE al 10% de acrilamida fueron iguales en todos los genotipos, presentando las albúminas cinco bandas y las globulinas tres. Con PAGE-SDS al 7,5% de acrilamida, las albúminas fueron separadas hasta en ocho componentes y las globulinas hasta en siete bandas con movilidades entre 0,2981 y 0,9932, obteniéndose patrones diferentes para cada genotipo. Igualmente, los patrones PAGE-SDS al 12,6% de acrilamida fueron distintos para los genotipos, separándose las proteínas en mayor número de bandas. Las albúminas mostraron hasta veintiuna bandas con movilidades entre 0,2603 y 0,7398 y las globulinas hasta dieciséis bandas con movilidades entre 0,2454 y 0,7390. Los patrones PAGE de los genotipos de *Canavalia ensiformis* analizados no se distinguieron entre sí. En cambio con la PAGE-SDS se obtuvieron patrones electroforéticos distintos que variaron en el número e intensidad de las bandas, permitiendo diferenciar los genotipos estudiados. El peso molecular de las albúminas varió entre 76.000 y 12.000 daltones y el de las globulinas entre 80.000 y 12.000 daltones.  
**Palabras clave:** *Canavalia*, albúminas, globulinas, electroforesis.

**SUMMARY.** Electrophoretic study of albumins and globulins of four genotypes of *Canavalia ensiformis*. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and PAGE-SDS were used to study seed albumins and globulins of *Canavalia ensiformis*. In PAGE the concentration of acrylamide used in the upper gel was 4.0% with a pH of 6.7 and in the lower gel 7.5% and 10% of acrylamide were used with a pH of 8.9. In PAGE-SDS the concentration of acrylamide was 4.4% with a pH of 6.8 in the upper gel and 7.5% and 12.6% with a pH of 8.8 in the lower gel. The material used were the Venezuelan genotypes Tovar, Yaracuy, Original and U-02. The albumins and globulins were extracted with a 0.5 M NaCl solution and then separated by dialysis against water and lyophilized. These protein fractions represented 84.85% of the total amount of protein in seeds. The albumins were separated in PAGE with 7.5% acrylamide into five fractions and globulins into six, with similar electrophoretic patterns between genotypes. In a similar manner, the patterns obtained in PAGE with 10% acrylamide were the same for all genotypes, showing five bands for albumins and three bands for globulins. With PAGE-SDS containing 7.5% of acrylamide, albumins were separated into as many as eight components, and globulins into as many as seven bands with mobilities between 0.2981 and 0.9932, with different patterns for each genotype. Also the patterns PAGE-SDS at 12.6% of acrylamide were different for the genotypes, separating proteins into a greater number of bands. The albumins showed as many as twenty-one bands with mobilities between 0.2603 and 0.7398, and globulins as many as sixteen bands with mobilities between 0.2454 and 0.7390. The PAGE patterns of the genotypes analyzed did not show differences between them. However, with PAGE-SDS different electrophoretic patterns were obtained which varied in the number and intensity of the bands, making it possible to distinguish the genotypes studied. The molecular weight of the albumins varied between 76,000 and 12,000 daltons and of the globulins between 80,000 and 12,000 daltons.

**Key words:** *Canavalia*, albumins, globulins, electrophoresis.

### INTRODUCCION

La *Canavalia ensiformis* es una leguminosa con gran potencial para ser usada en la alimentación humana y animal, debido a los altos rendimientos que se obtienen en su cultivo (1,2), a su contenido de proteína, el cual varía entre 26% y 33% (3-5) y a que es una rica fuente de energía y de vitaminas. Sin embargo, su utilización como recurso alimenticio está

limitado por la baja digestibilidad de sus proteínas y por la presencia de factores antinutricionales, entre ellos, la concanavalina A y la canavanina (2,5,6).

Sobre estos componentes se han realizado diversas investigaciones que han comprendido estudios de las propiedades físicas, químicas y fisiológicas (3,7,8), así como la destoxificación (5,9,10).

Las proteínas más abundantes en la *Canavalia ensiformis*

son las globulinas, que comprenden el 45% del contenido proteico total, seguidas por las glutelinas que representan el 23% y las albúminas el 14%, mientras que las prolaminas están ausentes o en muy bajas concentraciones. La proporción aproximada, en que se encuentran en las semillas de *Canavalia* estas tres fracciones proteínicas, es 1:3:2 (albúminas: globulinas: glutelinas), proporción que también ha sido observada en otras leguminosas (5).

Estudios electroforéticos han demostrado que las albúminas y globulinas son proteínas complejas, constituidas por diversos componentes. Al aplicar electroforesis discontinua en gel de poliacrilamida al 10% con dodecilsulfato de sodio (PAGE-SDS), las albúminas de la *Canavalia ensiformis* del genotipo Original, fueron separadas en dieciséis bandas polipeptídicas, en las que predominaron las de bajo y mediano peso molecular (5). Por otra parte, Chacón (3) usando PAGE-SDS con 15% de acrilamida, separó las albúminas de diferentes especies de *Canavalia* en catorce y dieciocho bandas y las globulinas entre ocho y quince, dependiendo de la especie. En cambio, por electroforesis en medio no disociante, sólo observó una densa franja en la parte superior del gel en ambas fracciones proteicas de las especies de *Canavalia* analizadas. Estas especies fueron: *Canavalia ensiformis*, *Canavalia brasiliensis*, *Canavalia dictyota*, *Canavalia bicarinata*, *Canavalia plagiosperma* y *Canavalia gladiata*.

En Venezuela, al igual que en otros países, existe un gran interés por utilizar esta leguminosa como fuente alimentaria y con este propósito se han realizado exitosamente, estudios de mejoramiento que han llevado al desarrollo de genotipos con buenas propiedades agronómicas. Sin embargo, para su aplicación en la alimentación humana y animal es necesario conocer, entre otros factores, las características de las proteínas de las semillas de las cuales se tiene poca información. Por esta razón, el objetivo de este estudio consistió en extraer y caracterizar, mediante técnicas electroforéticas, las albúminas y globulinas de las semillas de genotipos venezolanos de *Canavalia ensiformis*, lo cual reviste gran importancia en los programas de mejoramiento y taxonómicos.

## MATERIALES Y METODOS

### Materiales

Se analizaron las proteínas de los genotipos venezolanos de *Canavalia ensiformis* desarrollados en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela: Tovar, Yaracuy, Original y U-O2.

### Métodos

**Preparación de las harinas:** Las semillas fueron lavadas con agua y dejadas secar durante una noche a 37°C en una estufa con aire forzado. Luego fueron molidas en un molino Cyclone Sample Mill, equipado con una malla de 0,5mm de diámetro. La harina fue desgrasada con éter de petróleo en una relación 1:3 (p/v) a temperatura ambiente.

**Extracción de las proteínas:** Las albúminas y globulinas fueron extraídas de la harina desgrasada con solución de NaCl 0,5M en una relación 1:5 (p/v), agitando por 1h a 4°C.

**La extracción fue repetida en una relación 2:5 (p/v):** Los extractos recolectados fueron dializados contra agua destilada por 48h. Las globulinas precipitadas fueron separadas de las albúminas por centrifugación. Ambas fracciones proteicas fueron liofilizadas y almacenadas a 4°C (11-13).

### Análisis de las proteínas

**Nitrógeno:** El método aplicado fue el Micro-Kjeldahl (14) y el contenido de proteína fue calculado multiplicando el nitrógeno obtenido por 6,25.

**Electroforesis discontinua:** La electroforesis, en gel en tubo, fue realizada en un aparato Shandon, equipado con una fuente de poder Vokan. Las dimensiones de los tubos de vidrio fueron: 7,5cm de largo y 5,0mm de diámetro interno. La electroforesis fue iniciada con una corriente constante de 1mA por tubo de gel y al llegar la muestra al gel inferior, la corriente fue aumentada a 3mA por tubo de gel. El teñido de las proteínas fue realizado con una solución de azul de coomassie al 25% y para el desteñido de los geles fue usada una solución de ácido acético al 75% con metanol al 5% (15). La movilidad relativa (MV) de los componentes fue calculada mediante la ecuación usada por Weber y Osborn (16). Los resultados corresponden al promedio de tres determinaciones.

$$MV = \frac{\text{Distancia migración proteína} \times \text{Longitud del gel teñido}}{\text{Longitud gel desteñido} \times \text{Distancia migración colorante}}$$

**En gel de poliacrilamida (PAGE):** Las proteínas fueron disueltas con una solución de buffer TRIS (hidroximetilaminometano) al 0,12% con pH 6,7, manteniéndolas a 40°C por 24h. El gel superior o gel concentrador fue preparado con acrilamida al 4% y pH 6,7. El gel inferior o gel de desarrollo al 7,5% y 10% de acrilamida y pH 8,9. La relación usada de BIS (metilen bis acrilamida) a acrilamida fue 1:37 (17).

**En gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (PAGE-SDS):** Las proteínas fueron disueltas con una solución de buffer TRIS 0,12% y pH 6,8 con 1% de SDS y 1% de 2-mercaptoetanol, manteniéndolas a 37°C por 24h en la oscuridad. Luego, fueron dializadas por 16h en la oscuridad contra una solución de buffer TRIS 0,12% pH y 6,8 con 0,1% de SDS y 0,1% de 2-mercaptoetanol. El gel superior fue preparado con una concentración de acrilamida de 4,4% y pH 6,8 y el gel inferior al 7,5% y 12,6% de acrilamida y pH 8,8. La relación usada de BIS/acrilamida fue 1:37 (11, 17).

**Peso molecular:** Fue calculado por comparación de las movilidades relativas de las bandas de los patrones electroforéticos PAGE-SDS obtenidos con 12,6% de acrilamida con las movilidades de proteínas estándares, determinadas ambas en igualdad de condiciones. Los estándares usados fueron: citocromo C (PM=12.300 daltones), mioglobina (PM=17.200 D), anhidrasa carbónica (PM=30.000 D), ovoalbúmina (PM=45.000 D), albúmina (PM=66.250 D) y ovotransferina (PM=78.000 D).

**Análisis estadísticos:** Los análisis se realizaron por triplicado y a los resultados se les aplicó un análisis de varianza complementado con una prueba de medias de rango múltiple de Duncan, utilizando un nivel de significación del 1% (18).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Extracción de las proteínas

Las semillas de *Canavalia ensiformis* presentaron en promedio 31,29% de proteínas (Tabla 1), el cual varió entre los genotipos en forma significativa al nivel del 1%, presentando el Original el menor porcentaje (28,44%) y el U-02 el mayor (33,06%). Las albúminas y globulinas extraídas representaron, en promedio, el 84, 85% de la proteína total de la semilla, siendo el genotipo Tovar el que presentó el contenido mas bajo (83,93%) y el U-02 el mas alto (85,51%), difiriendo los valores al nivel del 1%. Es de destacar, que el genotipo U-02 mostró la mayor cantidad de proteína y de albúminas y globulinas, mientras que el Original presentó el menor contenido de proteína, pero un alto porcentaje de albúminas y globulinas (85,05%). En cuanto al contenido de nitrógeno de las fracciones proteicas (Tabla 2), se observó que en las albúminas extraídas, la pureza varió entre 12,31% N (Original) y 13,08% N (U-02), en tanto que en las globulinas este parámetro fue algo mayor, ubicándose entre 13,35% N (Tovar) y 13,99% N (Yaracuy).

TABLA 1  
Contenido de proteína y de albúminas y globulinas de semillas de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	% Proteína	% Albúminas y globulinas
Tovar	32,7 <sup>a</sup>	83,93 <sup>c</sup>
Yaracuy	30,91 <sup>b</sup>	84,90 <sup>b</sup>
Original	28,44 <sup>c</sup>	85,05 <sup>a,b</sup>
U-02	33,06 <sup>a</sup>	85,51 <sup>a</sup>
Promedio	31,29	84,85

Los valores en columna que presentan letras comunes, no difieren entre sí al nivel de significación del 1%.

TABLA 2  
Contenido de nitrógeno de las fracciones proteicas, albúminas y globulinas de semillas de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Fracción albúminas % N	Fracción globulinas % N
Tovar	12,38	13,35
Yaracuy	12,63	13,99
Original	12,31	13,63
U-02	13,08	13,60

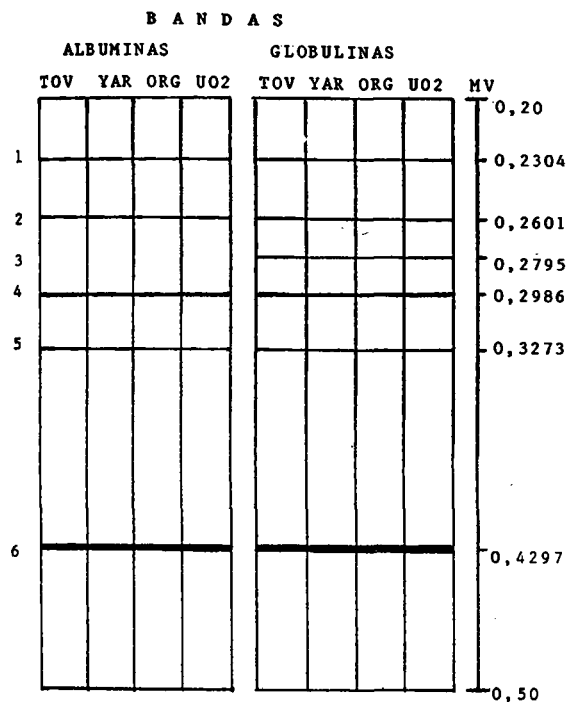
### Electroforesis PAGE

Los patrones electroforéticos con 7,5% de acrilamida, obtenidos para las albúminas estudiadas no se distinguieron entre sí (Figura 1) y dichas proteínas fueron separadas en cinco componentes con movilidades relativas entre 0,2304 y 0,4297. Igualmente, los patrones de las globulinas fueron semejantes y mostraron seis bandas, difiriendo de los de las albúminas en que presentaron la banda 3 (MV=0,2795). En ambas proteínas, las bandas principales fueron la 4 (MV=0,2986) y la 6 (MV=0,4297). Esta última banda fue más ancha y de mayor intensidad en todos los genotipos, por lo que comprendió a componentes que se encuentran en mayor proporción que en el resto de las bandas. Con 10% de acrilamida (Figura 2), los patrones PAGE de las albúminas y globulinas de todos los genotipos analizados, también fueron iguales. En las albúminas se observaron cinco componentes con movilidades relativas ubicadas en un rango de 0,2517 a 0,5303, mientras que las globulinas sólo presentaron tres bandas: la 1 (MV=0,2517), 2 (MV=0,3042) y 3 (MV=0,4169). En ambas fracciones proteicas, de todos los genotipos de *Canavalia*, estas dos últimas bandas fueron las principales, siendo la banda 3 la más ancha e intensa. Con esta técnica no se logró una buena separación de las albúminas y globulinas, las cuales son fracciones proteicas altamente complejas formadas por componentes de diferente tamaño o estado de asociación. Esta deficiente separación de las proteínas en el gel, probablemente debida al tamaño de las moléculas proteicas, imposibilitó establecer diferencias entre ellas. Chacón (3), al analizar estas proteínas mediante electroforesis con acrilamida al 15% sin medio disociante, no logró separarlas y solamente obtuvo una densa franja en la parte superior del gel.

### Electroforesis PAGE-SDS

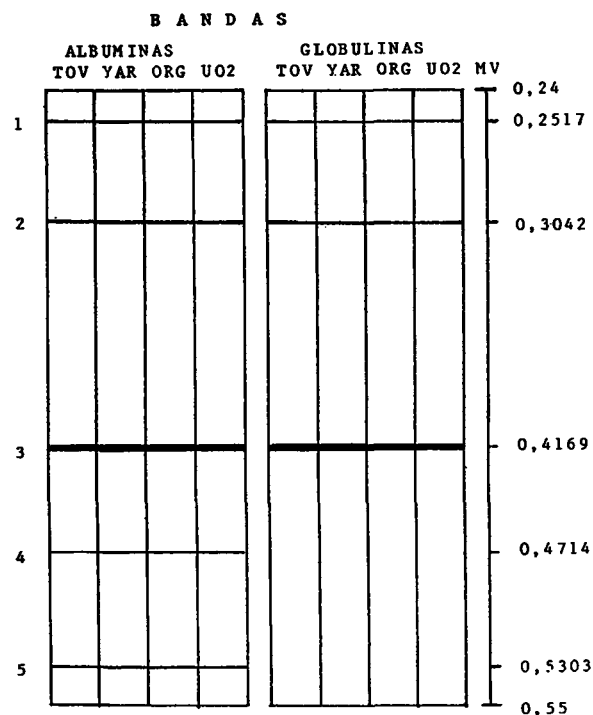
Los patrones PAGE-SDS al 7,5% de acrilamida de las albúminas y globulinas variaron en el número e intensidad de las bandas, permitiendo diferenciar las muestras en estudio, como se aprecia en la Figura 3. Las albúminas presentaron hasta ocho componentes y las globulinas hasta siete con movilidades relativas entre 0,2981 y 0,9932. Las proteínas de ambas fracciones se diferenciaron entre sí en la banda 5 (MV=0,7811), la cual está ausente en las globulinas.

FIGURA 1  
Bandas en PAGE al 7,5% de acrilamida de proteínas de  
semillas de *Canavalia ensiformis*



La albúmina del genotipo Yaracuy se separó en cinco componentes representados por las bandas 2 (MV=0,3411), 3 (MV=0,5609), 5 (MV=0,7811), 6 (MV=0,8463) y 8 (MV=0,9932). La albúmina Tovar mostró siete bandas y al igual que la anterior, no presentó la banda 1 (MV=0,2981). En tanto que la Original y la U-02 mostraron los ocho componentes y patrones electroforéticos muy parecidos que sólo se distinguieron entre sí en que la banda 3 fue más intensa en la U-02. En esta fracción proteica, las bandas comunes fueron la 2, 3, 5, 6 y 8, siendo la banda 6 la más intensa en todos los genotipos, mientras que la banda 3 mostró mayor intensidad en las albúminas de los genotipos Tovar, Yaracuy y U-02 y la banda 4 (MV=0,6721) en la Tovar, Original y U-02. En las globulinas, las variaciones entre los patrones PAGE-SDS de los genotipos de *Canavalia*, fueron en menor grado que las observadas entre las albúminas. Así, las globulinas del genotipo Original y del U-02 mostraron patrones electroforéticos semejantes que difirieron de las del Yaracuy únicamente en que la banda 4 fue más intensa en este último genotipo, y de las del Tovar, en que en este genotipo la banda 4 está ausente, presentando dicha fracción sólo seis componentes y las restantes siete. Con 12,6% de acrilamida, la variación entre los patrones PAGE-SDS de los genotipos analizados de ambas fracciones fue más notorio, siendo mayor en los patrones de las albúminas como se observa en las Figuras 4, 5 y 6.

FIGURA 2  
Bandas en PAGE al 10% de acrilamida de proteínas de  
semillas de *Canavalia ensiformis*



Estas proteínas mostraron veintitrés constituyentes distintos con movilidades relativas entre 0,2603 y 0,7398 y las globulinas dieciséis con movilidades de 0,2454 a 0,7390. La albúmina Original y la Yaracuy fueron separadas en dieciocho componentes, la Tovar en veinte y la U-02 en veintiuno. En todas las albúminas analizadas, las bandas principales fueron la 11 (MV=0,3676) y la 18 (MV=0,5035), siendo la primera la de mayor intensidad. Otras bandas principales fueron la 15 (MV=0,4535) en la albúmina Tovar y la 16 (MV=0,4644) en la Tovar, Original y U-02. Las bandas 9 (MV=0,3246), 10 (MV=0,3318) y 17 (MV=0,4920) únicamente fueron observadas en la U-02 y la 21 (MV=0,5907) en la Tovar. Además, la banda 2 (MV=0,2674) no se observó en la U-02, ni la 19 (MV=0,5284) en la Yaracuy. El resto de las bandas fue común a todos los genotipos. Por su parte, las globulinas Original y U-02 fueron separadas en trece componentes, la Tovar en catorce y la Yaracuy en dieciséis, presentando las dos primeras patrones electroforéticos muy parecidos que sólo difirieron entre sí en que la banda 4 (MV=0,3004) fue más intensa en el genotipo U-02. En todas las globulinas estudiadas, las bandas de mayor intensidad fueron la 5 (MV=0,3479) y la 10 (MV=0,5094), así como la banda 4, la cual fue muy intensa en la Tovar, Yaracuy y U-02. Además, las bandas 7 (MV=0,4156) y 8 (MV=0,4419) sólo se observaron en la globulina del genotipo Yaracuy y la banda 11 (MV=0,5273) en la Tovar y Yaracuy. Las otras

bandas fueron comunes en todos los genotipos. Estos resultados difieren de los obtenidos por Chacón (3), quien utilizó diferente concentración de acrilamida (15%) y distinto material biológico. Igualmente difieren de los de Gómez (5), quien aplicó una concentración de acrilamida del 10%. Como era de esperarse por la naturaleza de las albúminas y globulinas, mediante este método, que usa 2 - mercaptoetanol y SDS como medios disociante y acomplejante, se obtuvo una buena separación de los componentes de dichas proteínas, la cual permitió su diferenciación, lográndose una mayor separación al aumentar la concentración de acrilamida de 7,5% a 12,6%.

FIGURA 3

Bandas en PAGE-SDS al 7,5% de acrilamida de proteínas de semillas de *Canavalia ensiformis*

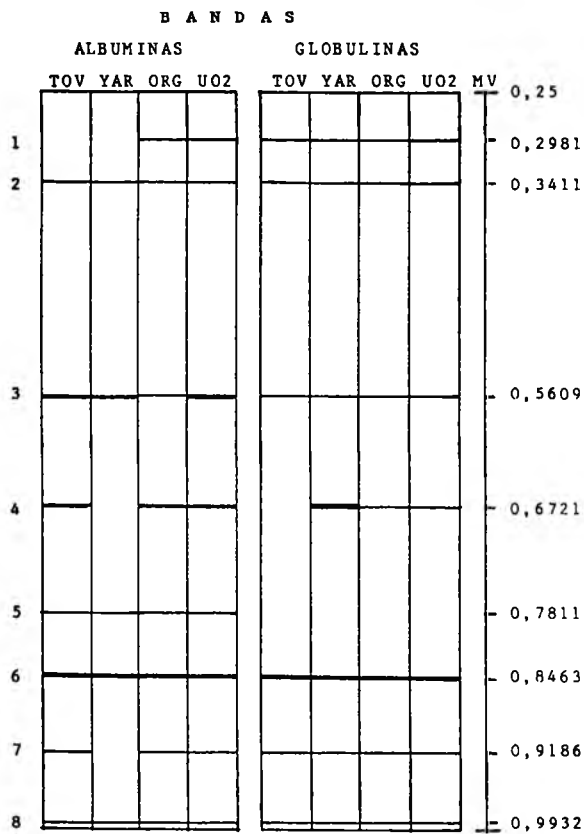
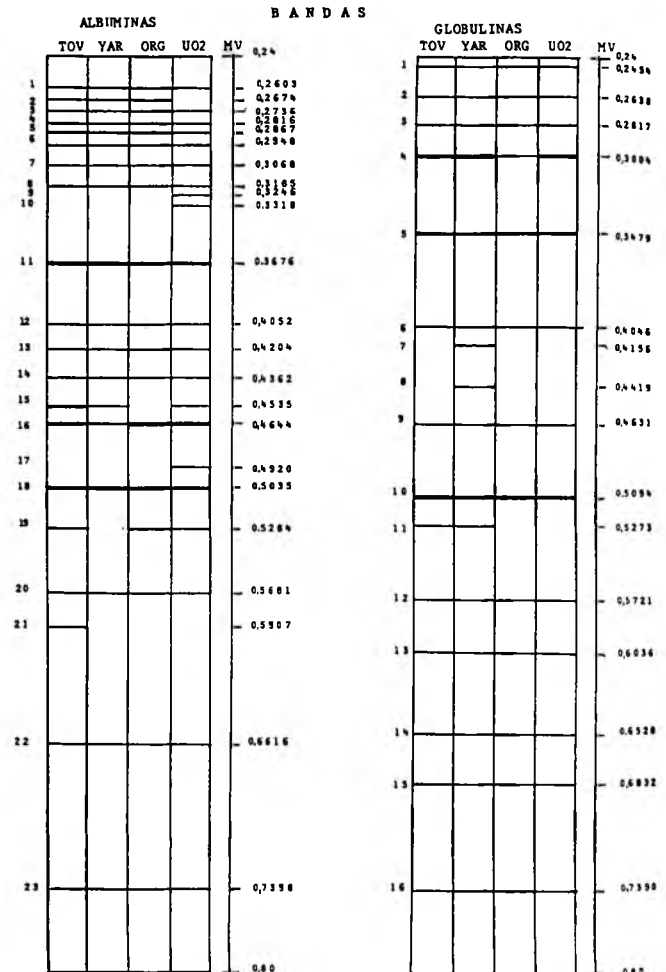


FIGURA 4

Bandas en PAGE-SDS al 12,6% de acrilamida de proteínas de semillas de *Canavalia ensiformis*



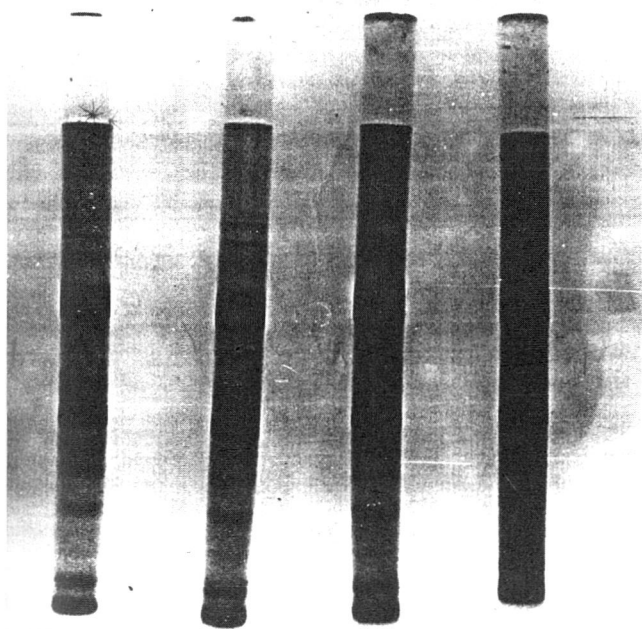
**Peso molecular**

Los pesos moleculares de los componentes de las albúminas analizadas se ubicaron en un rango entre 76.000 y 12.000 daltones, como se señala en la Tabla 3. Los pesos moleculares de los constituyentes principales de todas las albúminas fueron: 48.750 D (Banda 11) y 29.750 D (Banda 18). Para las bandas 15 y 16, las cuales fueron intensas en las albúminas Tovar, Original y U-02, los pesos moleculares de los componentes correspondientes fueron: 36.000 y 34.000 D respectivamente. Así mismo los pesos moleculares de los constituyentes de las bandas 9, 10 y 17, presentes únicamente en la *Canavalia* U-02, fueron 59.000, 58.500 y 30.500 D respectivamente, y 21.500 D el peso molecular de los de la banda 21, la cual sólo apareció en el genotipo Tovar. En cuanto al peso molecular de las globulinas estudiadas (Tabla 3), se observó que los valores variaron entre 80.000 y 12.000 D. Para los constituyentes principales de esta fracción, correspondieron

los pesos moleculares de 54.000 D (Banda 5) y 28.750 D (Banda 10). Y 64.000 D para los de la banda 4, componente principal de los genotipos Tovar, Yaracuy y U-02. Además, los pesos moleculares de los componentes de las bandas 7 y 8, presentes sólo en la globulina Yaracuy, fueron 41.000 y 37.050 D respectivamente y 27.000 D el de la banda 11 observada en los genotipos Tovar y Yaracuy. Las albúminas y globulinas son fracciones proteicas heterogéneas constituidas por componentes de diferentes tamaños en los que predominaron los de mediano y bajo peso molecular.

FIGURA 5

Patrones electroforéticos PAGE-SDS con 12,6% de acrilamida, de albúminas de semillas de *Canavalia ensiformis*. De izquierda a derecha: Genotipos U-02, Yaracuy, Tovar y Original



En conclusión, pareciera que el comportamiento electroforético de las globulinas fuese más homogéneo que el de las albúminas, ya que presentaron menos componentes y se diferenciaron en menor grado. Igualmente, los patrones PAGE de los genotipos de *Canavalia* mostraron pocas bandas y no se distinguieron entre sí. En cambio con la PAGE-SDS se obtuvieron patrones electroforéticos distintos que variaron en el número e intensidad de las bandas y que permitieron diferenciar los genotipos en estudio.

FIGURA 6

Patrones electroforéticos PAGE-SDS con 12,6% de acrilamida de Globulinas de semillas de *Canavalia ensiformis*. De izquierda a derecha: Genotipos U-02, Yaracuy, Tovar y Original

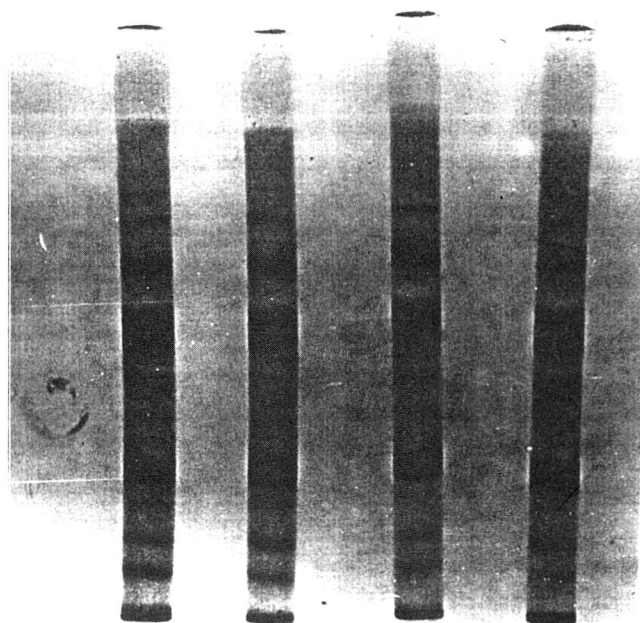


TABLA 3

Peso molecular de los componentes de las albúminas y globulinas de *Canavalia ensiformis*

Bandas	PM Albúminas	PM Globulinas
1	76.000	80.000
2	74.000	76.000
3	72.000	69.750
4	68.750	64.000
5	68.000	54.000
6	66.000	43.750
7	63.000	41.000
8	62.750	37.050
9	59.000	34.000
10	58.500	28.750
11	48.750	27.000
12	44.000	23.000
13	40.000	20.250
14	37.250	16.750
15	36.000	15.000
16	34.000	12.000
17	30.500	
18	29.750	
19	26.500	
20	23.000	
21	21.500	
22	16.250	
23	12.000	

### AGRADECIMIENTO

Las autoras agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, el financiamiento de esta investigación y al profesor Julio Viera la donación de las muestras estudiadas.

### REFERENCIAS

1. Viera J, Escobar A y Mora M. Consideraciones agronómicas del cultivo de *Canavalia ensiformis*. Rev Alcance 1986;35:279-293. .
2. Bressani R, Gómez R, García A y Elías, L. Chemical composition amino acid content and protein quality of *Canavalia ssp*. Seeds J Sci Food Agric. 1987;40(1):17-23.
3. Chacín R. Estudio de algunas proteínas de semillas de canavalia con fines taxonómicos. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias, UCV. 1989.
4. Delgado G. Obtención de aislados proteínicos a partir de harinas crudas integrales de tres variedades de *Canavalia ensiformis*. Trabajo de ascenso. Facultad de Agronomía, UCV. 1990.
5. Gómez A. Efectos de tratamientos físicos y químicos sobre los factores antinutricionales presentes en las semillas de *Canavalia ensiformis*. Digestibilidad *in vivo* e *in vitro*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias. UCV. 1990.
6. Ramírez A y Ortiz de Bertorelli L. Características químicas y nutricionales del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*. Arch Latinoamer Nutr. 1997;47(3):234-236.
7. Hague D. Studies of storage proteins of higher plants. Concanavalina A from three species of the genus *Canavalia*. Plant Physiology. 1975;55(4):636-642.
8. León T y Reina N. Evaluación biológica y cuantificación de factores antinutricionales en cuatro cultivares de *Canavalia ensiformis*. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. UCV. 1987.
9. Aguirre J. Destoxificación industrial de *Canavalia ensiformis* mediante el proceso de extrusión. Trabajo de grado. Facultad de Ingeniería de Alimentos. UNESR. 1988.
10. Coello L y Rodríguez J. Evaluación de factores antinutricionales del grano de *Canavalia ensiformis*. Efecto de varios tratamientos. Acta Científica Venezolana. 1988;39(1):159-166.
11. Ortiz de Bertorelli L. Extracción y caracterización de las prolaminas del grano de seis cultivares de sorgo *Sorghum bicolor L. Moench* Arch Latinoamer Nutr. 1992;42(1):46-51.
12. Ortiz de Bertorelli L y Guerra M. Caracterización de las proteínas de los maíces Venezuela-1, Arichuna. Obregón y Venezuela-1 Opaco-2. Arch Latinoamer Nutr 1983;33(3):539-555.
13. Paulis J y Wall J. Comparison of the protein compositions of selected corns and their wild relatives Teosinte and Tripsacum. J Agric Food Chem. 1977;25(2):2265-2270.
14. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12th ed. Washington DC. 1975.
15. Parra P, Ortiz de Bertorelli L y Miranda F. Identificación de híbridos venezolanos de sorgo (*Sorghum bicolor L Moench*) mediante patrones electroforéticos de proteínas. Rev Fac Agron. (Maracay) UCV. 1996;21:61-70.
16. Weber K y Osborn M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. J Biol Chem. 1969;244(16):4406-4412.
17. Parra P y Ortiz de Bertorelli L. Montaje de un método electroforético para la identificación de cultivares de maíz. Rev Fac Agron (Maracay) UCV. 1993;19:213-226.
18. Little T y Hills F. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. Trillas. 3a. de. México. 1979.

Recibido: 31-08-1998

Aceptado: 20-07-1999

## Elaboración de un yogurt con base en una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum*)

Josefina C. Morales de León, Ma.Lorena Cassís Nosthas, Elizabeth Cortés Penedo

Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ), México, D.F.

**RESUMEN.** El presente trabajo, tuvo como objetivo determinar las condiciones experimentales de elaboración de un yogurt extendido con garbanzo (*Cicer arietinum* L.), inoculado con *St. thermophilus* y *L. bulgaricus*, para compararlo físicoquímica, microbiológica y sensorialmente con un yogurt elaborado con base en leche descremada. Los resultados obtenidos indicaron que de las mezclas obtenidas por el método de calificación química (cálculo de aminoácidos) que cumplieron con los objetivos propuestos fueron la mezcla 70:30 y 80:20 (leche descremada: extracto de garbanzo). Los yogurt elaborados con la mezcla 70:30 adicionados con almidones modificados (ULTRA SPERCE M Y COL-FLO), no eliminaron la sinéresis presente en los productos así como tampoco mejoraron las características sensoriales de los mismos; sin embargo, en el yogurt elaborado con la mezcla 80:20, y el almidón modificado (ULTRA SPERCE M.) se logró eliminar la sinéresis obteniéndose un yogurt «extendido» con características de sabor y textura similar a la de un yogurt elaborado con base en leche, el cuál fue aceptado por el 80% de los jueces y que cumple además con las especificaciones de la norma oficial mexicana para yogurt.

**Palabras clave:** Yogurt, «extensor», garbanzo.

**SUMMARY.** Elaboration of yogurt made of milk and chickpea (*Cicer arietinum*) mixture. The objective of this work was to establish the experimental conditions for the production of yogurt extended with chickpea (*Cicer arietinum*), inoculated with *St. thermophilus* and *L. bulgaricus* and compare its chemical, microbiological and sensorial characteristics versus a yogurt made of skimmed milk. Results indicated that 70:30 and 80:20 (skimmed milk and chickpea extract) mixtures obtained by chemical score fulfilled with the proposed objectives.

Yogurt made with 70:30 mixture added with modified starch (ULTRA SPERCE M and COL-FLO), did not remove syneresis present in these products and did not improve its sensory characteristics neither. Nevertheless, yogurt made with 80:20 mixture and modified starch (ULTRA SPERCE M) removed syneresis and present flavor and texture characteristics alike yogurt made of milk, this "extended" yogurt was accepted by the 80% of the judge and fulfill with yogurt specification established in the mexican regulations for this products.

**Key words:** Yogurt, "extend", chickpea.

### INTRODUCCION

Desde hace varios años, México se ha enfrentado a una producción insuficiente de leche, no solo para consumo como leche fluida sino también para la elaboración de derivados lácteos, situación que en los últimos años se ha visto agravada por el incremento de la población, un menor poder adquisitivo, la poca productividad de los hatos lecheros, el acaparamiento del producto en las grandes ciudades, los sistemas de distribución, etc. (1,7).

Las estadísticas informan que para octubre de 1997, la producción nacional de leche fué de 727.1 millones de litros, sin embargo, esta producción no fué suficiente para cubrir la demanda para consumo como leche fluida así como para la elaboración de productos lácteos, por lo que fué complementada con importaciones, donde la leche en polvo fué la más importante (2,20).

Particularmente, las leches fermentadas se han consumido durante miles de años, su historia se relaciona no sólo con su sabor agradable y ligeramente ácido, sino también con su

mayor período de conservación en comparación con la leche. En las décadas recientes, se ha puesto mayor interés en los efectos benéficos potenciales de las leches fermentadas sobre la salud, lo que ha impactado en los volúmenes de venta y la variedad disponible de éstos productos alrededor del mundo (2).

El yogurt, es un producto resultante de la fermentación de la lactosa por acción de las bacterias *St. thermophilus* y *L. bulgaricus* con producción de ácido láctico (3). En México, el consumo nacional de yogurt en 1980 fué de 15 mil toneladas lo que representó el 8% del total de los derivados lácteos producidos; en 1985, el consumo se elevó a 32 mil toneladas (incremento mayor al 100%) y para 1990 se estimó un consumo de unas 49 mil toneladas, lo que nos indica un incremento creciente de la demanda (17). Para octubre de 1997, el incremento en la producción nacional y en las importaciones de éste derivado lácteo, fué de 131,809 y 537 toneladas, respectivamente.

Las leguminosas, particularmente el garbanzo (*Cicer arietinum*) ocupa el tercer lugar de producción nacional

después del frijol (*Phaseolus vulgaris*) y la soya (*Glycine max*); sin embargo, el grano que se utiliza para consumo humano, normalmente se exporta a otros países, pero solamente el 80% del mismo cumple con las normas comerciales, el 20% restante se destina en su mayoría para alimento animal, con lo que se pierde una fuente importante de proteína (5,6), la cuál puede utilizarse para el desarrollo de nuevos productos.

El sustituir parcialmente un producto de mayor costo por otro similar pero de menor precio, se conoce como "extensión". Para que sea aceptable, se requiere que la "extensión" de los productos se realice con materias primas que conserven o mejoren las características sanitarias y nutricias de las materias primas que sustituyen (13).

La utilización del garbanzo y otras leguminosas como el frijol y la soya, han sido informadas por diferentes autores (7-9); Pinthong et al. desarrollaron un yogurt con base en soya y le adicionaron *St. thermophilus* y *L. bulgaricus*, con el objeto de mejorar el sabor y la aceptación de éste tipo de productos (10). También, en éste mismo año, Schmidt et al, informaron los efectos del tratamiento térmico y del almacenamiento sobre las características físicas y sensoriales, en un yogurt «fortificado» con aislado de soya (11). García, G.M.I. en 1986, desarrolló un producto tipo yogurt, elaborado con soya, con el objeto de mantener las características de sabor, aroma y consistencia similares a las de un yogurt elaborado con base en leche y un nivel de aceptación del producto del 80% de la población utilizada en el estudio (12). Shirai et al., evaluaron la aceptación de un yogurt con base en una mezcla de soya, harina de avena y suero de leche, adicionada con diferentes cultivos iniciadores y aditivos (13).

Con base en lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron: determinar las condiciones experimentales de elaboración de un yogurt extendido con garbanzo (*Cicer arietinum*) y evaluar física, química, microbiológica y sensorialmente el yogurt extendido, en comparación con un yogurt elaborado con base en leche.

## MATERIAL Y METODOS

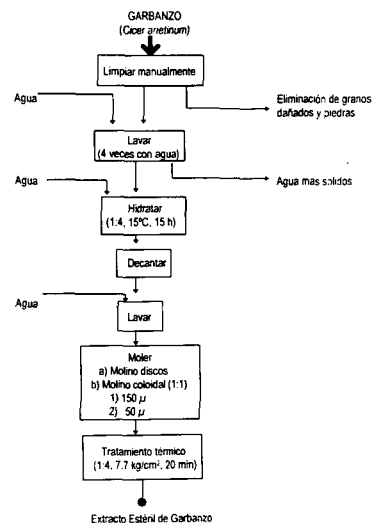
### Desarrollo experimental

Con el fin de conocer la composición y la calidad sanitaria de las materias primas (garbanzo y leche descremada), se llevaron a cabo análisis químicos y microbiológicos.

El cultivo mixto de inoculación directa (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) se seleccionó con base en los resultados de diversos estudios (6,7,10,12) de los que se observó que, éste cultivo mixto proporciona las características físicas y sensoriales de un yogurt, producto objetivo del presente trabajo.

Para obtener el extracto estéril de garbanzo, se siguió el diagrama de elaboración que se presenta en la Figura 1 (14). La pasta obtenida se sometió a análisis microbiológico, con el fin de confirmar la ausencia de microorganismos en el extracto.

FIGURA 1  
Proceso de obtención de extracto estéril de garbanzo (14)



Las mezclas teóricas de leche y garbanzo se obtuvieron mediante el método de cálculo químico (en éste se calcula el aminoácido limitante en las mezclas) en las que la concentración de materias primas varía de 10 en 10 iniciando con 100% leche y 0% garbanzo, hasta 0% leche y 100% garbanzo. De éstas mezclas, se seleccionaron aquellas que cumplieron con una relación metionina más cistina mínima del 80% con respecto al patrón FAO/OMS. Las mezclas seleccionadas se prepararon y se caracterizaron mediante pruebas físicas y sensoriales; las mezclas que presentaron un color igual al de la leche, fueron las que se seleccionaron para continuar el estudio.

Se elaboraron los yogurt extendidos con garbanzo así como también un yogurt testigo elaborado con base en leche descremada, de acuerdo al diagrama que se presenta en la Figura 2 (A y B). Los yogurt elaborados deberían reunir las siguientes especificaciones: un contenido mínimo de proteína de 3.4 g/100g, un mínimo de 12% de sólidos, un pH menos de 4.5, y una acidez de 0.8 a 1.8 g ác.láctico/100 g de muestra.

Se contempló la adición de estabilizantes particularmente Col-Flo 67 y Ultra Sperse M<sup>(1)</sup>, con el objeto de evitar sinéresis en los yogurt extendidos con garbanzo, adicionándose en una concentración del 2%, recomendada por el proveedor.

Los productos finalmente obtenidos, se caracterizaron por medio de análisis químico, físico, microbiológico y sensorial.

### Métodos de análisis

Los análisis a los que se sometieron tanto las materias primas como el yogurt con base en leche (testigo) y el yogurt extendido con garbanzo fueron:

*Análisis químico* de acuerdo a las técnicas oficiales del AOAC (15) en las que se incluye humedad (925.09), cenizas

1. Almidón modificado de maíz ceroso, donado por la empresa Aranal Comercial, México.

(923.03), proteína (976.05), extracto etéreo (920.39), fibra cruda (962.09). Los hidratos de carbono, se calculan restando a 100, la suma de los valores obtenidos en las citadas determinaciones.

**Acidez total titulable (ATT)**, de acuerdo a la técnica oficial del AOAC (método potenciométrico) (15).

**Análisis microbiológicos**, de acuerdo a las técnicas del manual de microbiología del INNSZ (16), en las que se incluye: cuenta total, cuenta total de bacterias lácticas, cuenta total de coliformes totales, hongos y levaduras, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*.

**Color y sabor de las mezclas**. Las mezclas preparadas con base en garbanzo y leche descremada, se evaluaron con respecto al color, por 10 personas no entrenadas, a las que se les pidió que compararan cada una de ellas con una muestra de leche como referencia. En cuanto al sabor, a éstas mismas personas se les pidió que degustaran cada una de las mezclas e indicaran aquella o aquellas muestras que no presentaran sabor predominante a garbanzo.

**Determinación del pH**, de acuerdo a la técnica del potenciómetro orion-research, modelo 601-A (17).

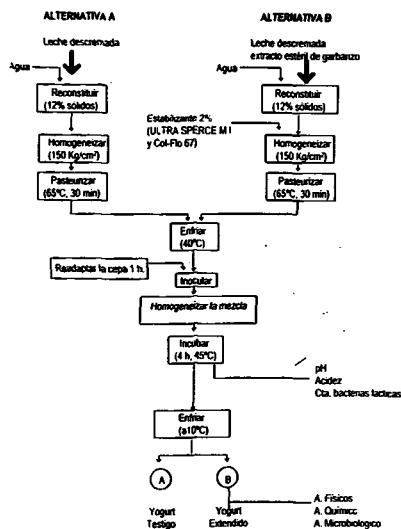
**Sólidos totales (%)**, por medio de un refractómetro abbé (18).

**Viscosidad**, por medio de un viscosímetro de brookfield, modelo RV, spin No.7, 20 r.p.m.

**Evaluación Sensorial**. Los yogurt extendidos con garbanzo se evaluaron a nivel laboratorio, participaron 30 jueces no entrenados, consumidores de yogurt. A éstas personas se les aplicó una prueba de Nivel de Agrado con escala hedónica de 7 puntos, en donde 1 corresponde a "Disgusta Mucho" y 7 a "Gusta Mucho". Para la interpretación estadística de la comparación de ambos productos, se aplicó una prueba t-student a una  $p \leq 0.05$ . Se calculó también el porcentaje de aceptación de los yogurt evaluados tomando como base que los 30 sujetos representan el 100% (20,21).

FIGURA 2

Proceso de elaboración de yogurt con base en leche y de un yogurt extendido con extracto estéril de garbanzo



RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presentan los resultados del análisis químico de las materias primas.

TABLA 1  
Análisis químico de las materias primas (g/100 g)

Determinación	Leche descremada	Garbanzo ( <i>Cicer arietinum</i> )
Humedad	4.0	9.9
Cenizas	8.0	2.9
Fibra cruda	-	3.2
Proteína*	36.1	16.3
Extracto etéreo	0.9	6.4
Hidratos de carbono **	51.2	61.4

\* Nitrógeno x 6.38 para leche  
Nitrógeno x 6.25 para garbanzo  
\*\* Por diferencia

En cuanto al análisis microbiológico (Tabla 2) de la leche descremada, se puede observar que la cuenta total de mesófilos, hongos y levaduras, coliformes así como *Salmonella* y *S. aureus*, se encuentran dentro de los límites establecidos por la Norma Oficial para leche (50,000 UFC/g, Menos de 10 UFC/g, NMP menos de 3/g, y Negativo en 25g respectivamente)(21,23). Para el extracto de garbanzo (14), después del tratamiento térmico, se encontró exento de microorganismos.

TABLA 2  
Análisis microbiológico de la leche descremada y garbanzo(*Cicer arietinum*)

Determinación	Leche descremada	Garbanzo ( <i>Cicer arietinum</i> )
Cuenta Total	22 X 10 <sup>3</sup> UFC/g	Menos de 10 UFC/g
Hongos y Levaduras	Menos de 10 UFC/g	Menos de 10 UFC/g
Coliformes Totales	NMP menos de 3/g	NMP menos de 3/g
Coliformes Fecales	NMP menos de 3/g	NMP menos de 3/g
<i>Salmonella</i>	Negativo en 25 g	Negativo en 25 g
<i>S.aureus</i>	Menos de 10 UFC/g	Menos de 10 UFC/g

En la Tabla 3 se presenta el porcentaje de metionina + cistina y triptofano obtenido en las mezclas teóricas de leche y garbanzo; se observa que de las 11 mezclas obtenidas sólo 6 cumplieron con la especificación establecida, esto es que cumplan con el 80% del patrón FAO/OMS/73 para metionina+cistina. Los resultados de la caracterización de las mezclas seleccionadas se presentan en la Tabla 4. De ésta se observa que las características físicas y sensoriales de las mezclas de leche descremada más extracto estéril de garbanzo

zo, fueron muy semejantes a las de la leche, no así el sabor, en donde las mezclas 50:50 y 60:40 (leche descremada: extracto estéril de garbanzo), presentaron un marcado sabor a garbanzo y las mezclas 70:30 y 80:20, solamente un ligero sabor a ésta leguminosa; por lo que y con base en lo anterior, se seleccionaron éstas dos últimas mezclas para continuar el estudio.

TABLA 3

Porcentaje de metionina + cistina y triptofano obtenido de las mezclas de leche y garbanzo (*Cicer arietinum*) con respecto al patrón FAO/OMS/73<sup>2</sup>

Leche + Garbanzo (%)	Metionina + Cistina (%)	Triptofano (%)
100:0	100	146.9
90:10	96.3	140.2
80:20	92.6	133.5
70:30	88.9	126.9
60:40	85.2	128.2
50:50	81.5	113.3
40:60	77.7	106.9
30:70	74.0	100.2
20:80	70.3	93.5
10:90	66.6	86.9
0:100	62.9	80.2
PATRON FAO/OMS 73 (g/100 g proteína)	3.5	1.0

Base húmeda

FUENTE: Amino-acid Content of Foods and Biological Data on Proteins. Food Policy and Food Science Service, Nutrition Division, FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1970.

2. Energy and Protein Requirements. Report of a Joint FAO/WHO. Nutrition report, series No.52, FAO Rome. 1973.

TABLA 4

Características físicas y sensoriales de las mezclas con base en leche descremada y extracto estéril de garbanzo

Leche descremada + extracto estéril de garbanzo	pH	Sólido (%)	Viscosidad (cps)	Color o tono	Sabor
90 : 10	6.6	10.2	2,000	Blanco	Leche
80 : 20	6.6	9.4	2,000	Blanco	Ligeramente a Garbanzo
70 : 30	6.6	8.5	2,000	Blanco	Ligeramente a Garbanzo
60 : 40	6.7	8.0	2,000	Blanco	Garbanzo
50 : 50	6.7	7.9	2,000	Blanco	Garbanzo

Los yogurt elaborados con las mezclas 70:30 y 80:20 (leche descremada: extracto estéril de garbanzo) presentaron sinéresis, por lo que se procedió a adicionar los estabilizantes. En la Tabla 5 se presentan las características sensoriales obtenidas en los yogurt elaborados con las mezclas 70:30 y 80:20 (leche descremada : extracto estéril de garbanzo) adicionados de estabilizantes. Se observó que el yogurt elaborado con la mezcla 70:30 adicionado con 2% de Ultra Sperse M, presentó un coágulo firme y poca sinéresis, sin embargo, cuando se utilizó el estabilizante Col-Flo 67, en una concentración de 2%, se observó (visualmente) una mayor sinéresis; al degustarlos sensorialmente, los jueces indicaron que en ambos productos, se percibió una textura granulosa con sabor a garbanzo cocido, obteniéndose una media de nivel de agrado de 4.8 (Ni gusta Ni disgusta) lo que representa un 68.6% de aceptación de los jueces.

TABLA 5

Características sensoriales obtenidas en los yogurt extendidos con garbanzo (70:30 y 80:20, leche descremada: extracto estéril de garbanzo) adicionados con estabilizantes (Ultra S.M. y COL-FLO 67)\*

Yogurt extendido	Consistencia	Sabor	Nivel de agrado (x)	Aceptación (%)
70:30 ULTRA S.M.	Coágulo firme. Poca sinéresis. Ligeramente granuloso	Garbanzo cocido	4.8	68.6
70:30 COL-FLO	Coágulo firme. Sinéresis. Granuloso	Garbanzo cocido	4.8	68.6
80:20 ULTRA S.M.	Coágulo firme. Consistencia suave	Yogurt	5.6	80.0
80:20 COL-FLO	Coágulo firme. Poca sinéresis; Ligeramente granuloso	Yogurt con con notas ligeramente ácidas	5.0	80.0

En el caso del yogurt elaborado con la mezcla 80:20 adicionado con 2% del estabilizante Col-Flo 67 se observó ligera presencia de sinéresis y se percibió una consistencia granulosa, mientras que, con el estabilizante Ultra Sperse M al 2%, se eliminó la sinéresis y se obtuvo un producto de textura suave y con sabor a yogurt.

Los yogurt elaborados con la mezcla 80:20 y 70:30 adicionados con el estabilizante Ultra Sperse M (2%), presentaron una media de nivel de agrado de 5.6 (bueno) y 4.8 (Ni gusta ni Disgusta), respectivamente. La interpretación estadística de los resultados indicó diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0.05$ ).

Con base en éstos resultados, se seleccionó el estabilizante Ultra Sperce M al 2% para utilizarlo en la elaboración de un yogurt extendido con garbanzo en una mezcla de 80:20 (leche descremada : extracto estéril de garbanzo).

En la Tabla 6, se presentan los resultados obtenidos del análisis químico y físico del yogurt con base en leche (testigo) y el yogurt extendido con garbanzo (80:20, leche descremada: extracto estéril de garbanzo); de esta se observa que el yogurt extendido presentó un mayor contenido de proteína y de cenizas que el yogurt testigo, así como un ligero incremento en el contenido de extracto etéreo lo que se justifica por el aporte del garbanzo al producto. En cuanto al por ciento de sólidos, la viscosidad, el pH y la acidez obtenida en el yogurt extendido, se encontró dentro de los límites establecidos por la norma oficial mexicana para yogurt (22), obteniéndose un producto de consistencia similar al del yogurt elaborado con base en leche.

TABLA 6

Análisis químico y físico del yogurt con base en leche (testigo) y del yogurt extendido con garbanzo (80:20) ( g / 100 g )

Determinación	Yogurt con base en leche	Yogurt extendido con garbanzo
Humedad	85.1	85.4
Cenizas	0.7	1.1
Proteína*	6.3	8.0
Extracto etéreo	1.0	0.58
Hidratos de carbono**	6.9	4.9
pH	4.2	4.2
Acidez (g ác.láctico/100g)	1.7	1.8
Sólidos (%)	12	11.6
Viscosidad (cps)	5,500	5,800
Energía (kcal/100g)	64.6	61.22
(kJ/100g)	274.3	260.04

\* Nitrógeno x 6.25 para Yogurt extendido con garbanzo.  
Nitrógeno x 6.38 para Yogurt con base en leche.

\*\* Por diferencia

Del análisis microbiológico (Tabla 7), el yogurt extendido con garbanzo, cumple con las especificaciones de la Norma Oficial para un yogurt elaborado con base en leche (22), por lo que resulta apto para su consumo.

TABLA 7  
Análisis microbiológico del yogurt extendido con garbanzo (80:20) vs normal oficial (UFC/g)

Determinación	Yogurt extendido (80:20)	Norma oficial*
Bacterias lácticas vivas	34x10 <sup>6</sup>	2x10 <sup>6</sup>
Cuenta de Coliformes totales y fecales	Menos de 10	Máximo 10 UFC/g
Investigación de <i>Salmonella</i>	Negativo en 25 g	Negativo en 25 g
Cuenta de <i>S. AUREUS</i>	Menos de 10	Menos de 10
Cuenta de hongos y levaduras	Menos de 10	Máximo 10 UFC/g

\* NOM-F-4441983. Yogurt o leche búlgara. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas. México, D.F.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir sobre la posibilidad de aprovechar el garbanzo (*Cicer arietinum*) en el desarrollo de derivados lácteos como el yogurt, obteniéndose un producto con características físicas y sensoriales similares a la de un yogurt elaborado con 100% leche, un mayor contenido proteínico y un aporte energético de 140.7 kcal/100g o 597.6 kJ/100g.

Dada la insuficiente disponibilidad de leche en el país y el incremento en la demanda de yogurt por parte de los consumidores en México, el lograr "extender" la leche con ésta leguminosa, resultan una ventaja para la industria de derivados lácteos, ya que podrá ofrecer productos de calidad nutricional equivalente a los yogurt elaborados con 100% leche.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento parcial del proyecto; así mismo a la Q.B.P. Ma. de la Luz Colón del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos del INNSZ, por su apoyo en el área de microbiología, a la empresa Aranal Comercial, México, por la donación de los estabilizantes utilizados en dicha investigación y agradecen también a la Srta. Margarita Montiel Romero del Depto. de Ciencia y Tecnología de los Alimentos del INNSZ, por su labor secretarial.

## REFERENCIAS

1. Viniegra GG. The role of lactic fermentations in food industry. *Food Technology* 1993;36(2):11-13.
2. Solorza FJ. El papel nutricional del yogurt; posibles efectos benéficos a la salud. *Lácteos mexicanos* 1991 Oct/Nov: 5-7.
3. Danone World Newsletter. Beneficios de las leches fermentadas y de los probióticos sobre la salud: Una revisión. Décimo-sexto Congreso Internacional de Nutrición: De la Ciencia Nutricional a la Nutrición para una mejor salud global; 1997 (15).
4. SAGAR. Boletín Mensual de Leche. Centro de Estadística Agropecuaria. 1997 Diciembre:(12), México, D.F.
5. Cassís NL y Morales LJ. El garbanzo (*Cicer arietinum L.*). Cuadernos de nutrición 1995;18(5):11-16, México, D.F.
6. Kao R. Nutritional aspects of fermented foods from chickpea, horsebean and soybean. *Cereal Chem* 1978; 55(4):512-517.
7. Zamora FA and Fields ML. Nutritional quality of fermented cowpeas (*Vigna sinensis*) and chickpeas (*Cicer arietinum*) *J Food Sci* 1979;44(1):234-236.
8. Ulloa JA, Valencia ME. Calidad nutritiva de un concentrado proteico de garbanzo (*Cicer arietinum*) obtenido por ultrafiltración. *Arch Latinoam Nutr*1992;42(4):428-431.
9. González CJ. Aprovechamiento de garbanzo de baja calidad comercial mediante fermentación en el estado sólido. México:UNAM. 1992.
10. Pinthong R, Macras R, Rothwell J. The development of soya-based yogurt. *Food Technology* 1980;45(4):647.
11. Schmidt R, Sistrunk C, Cornell J. Heat treatment and storage effects on texture characteristics of milk and yogurt systems fortified with oilseeds proteins. *J Food Science* 1980;45(3):471.
12. García GMI. Desarrollo de un producto tipo yogurt elaborado con un sustituto lácteo a base de soya. México: U.I.A.1986
13. Shirai K, Gutiérrez-Durán M, Marshall VME, Revah-Moiseev S. y García-Garibay M. Production of a yogurt-like product from plant foodstuffs and whey. Sensory evaluation and physical attributes. *J Sci Food Agri* 1992;59: 205-210.
14. Morales LJ, Cassís NL y Cecín SP. Obtención de un extracto fermentado de garbanzo (*Cicer arietinum L.*) para utilizarlo en el desarrollo de productos «extendidos». *Arch Latinoam Nutr* 1998 (Enviado para su publicación).
15. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 16 th ed. Washington, 1995.
16. Colón HML, Morales LJ. Manual de microbiología de alimentos. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 1993, México, D.F.
17. Manual del potenciómetro Orion-Research, modelo 601-A/digital analyser.
18. Manual del refractómetro Abbe-3L / Bausch and Lomb.
19. Manual del viscosímetro de Brookfield, modelo rv, spin No.7. 20 r.p.m.
20. Pedrero FDL y Pangborn RM. Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos. Ed. Alhambra Mexicana. México, D.F., 1989.
21. NOM 091-SSA 1-1994. Leche pasteurizada de vaca. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Diario Oficial. Secretaría de Salud. México,D.F.
22. NOM - F- 444- 1983. Yogurt o Leche Búlgara. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas. México,D.F.
23. NOM-F-26-1986 4/7. Alimentos-Lacteos-Leche en Polvo. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas, México. D.F.

Recibido: 06-01-1999

Aceptado: 16-12-1999

## Nitratos e nitritos em queijos caseiros e industrializados comercializados na região sul de Minas Gerais, Brasil

Kelly Regina Seraphim & Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira

Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, MG. Brasil

**RESUMO.** Foram avaliados os níveis de nitratos e nitritos em queijos produzidos e comercializados no sul de Minas Gerais. No Brasil, a adição destes aditivos é permitida no limite máximo (LMP) de 50 mg/kg. O método analítico validado fundamenta-se na redução do nitrato a nitrito em coluna de cádmio e quantificação espectrofotométrica por reação de diazoconjugação com ácido sulfanílico/ $\alpha$ -naftol. Das 43 amostras analisadas, 38 (88,37%) não apresentaram nitrato e nitrito em níveis detectáveis; em apenas 5 (11,63%) foi encontrado nitrato, sendo que em 4, acima do LMP. Do total, somente 1 (2,33%) apresentou nitrito, porém abaixo do LMP. Do ponto de vista toxicológico, a maioria das amostras podem ser consideradas seguras, apesar dos resultados também podem significar maior risco de contaminação bacteriana.

**Palavras chaves:** Nitratos, nitritos, queijos.

**SUMMARY.** Nitrate and nitrite in homemade and industrialized cheeses commercialized in the Southern region of Minas Gerais, Brazil. The evaluation of nitrate and nitrite in homemade and industrialized cheeses commercialized in the southern region of Minas Gerais State, was the aim of this work. In Brazil, the use of these additives is permitted at maximum levels of 50 mg/kg. The basis of the previously validated method is the quantitative reduction of nitrate to nitrite through cadmium column and spectrophotometric determination after nitrite diazotation with sulphanic acid/ $\alpha$ -naphthol reagent. From all samples analyzed, 38 (88,37%) showed neither a nitrate nor nitrite detectable content; 5 samples (11,63%) presented nitrate, 4 of them being above the tolerated level and only one (2,33%) showed detectable nitrite, however below the permissible limit. The majority of samples did not show nitrate or nitrite at detectable levels. However, though probably safe from a toxicological point of view, the results can implicate an increased risk of bacteriological contamination.

**Key words:** Nitrate, nitrite, cheeses, analysis.

### INTRODUÇÃO

Os queijos podem ser afetados por diversos tipos de defeitos, o mais temido é o estufamento tardio, sendo na maioria das vezes causado pelo *Clostridium tyrobutyricum* (1,2) cuja presença causa fermentação do lactato (1) produzindo na massa ácido butírico, gás carbônico e hidrogênio (2-4). O acúmulo destes gases causa estufamento interno, com número variável de olhaduras grandes e irregulares. Pode apresentar trincas na casca, odor de ranço desagradável e sabor estranho, devido ao ácido butírico. Os queijos duros, com casca, ou os embalados em película plástica possuem facilidade a retenção de gases e aos estufamentos. Portanto, quando o defeito ocorre, os queijos são profundamente alterados do ponto de vista estético, físico-químico e organoléptico, de maneira que dificilmente podem ser vendidos no mercado regular (5).

Como consequência do estufamento tardio, muitas pesquisas têm sido realizadas para testar métodos que evitem o crescimento destes microrganismos (6). O mais eficaz e conveniente para aplicação em indústrias (4-9) é adição de nitrato de sódio ou de potássio (6,10,11) que são utilizados na fabricação de queijos na concentração de 10 a 30 g/100L de leite.

No Brasil, esta adição é permitida em queijos, com exceção de queijos frescos, no limite de 50 mg/kg (ppm), quantificado como íon nitrito, no produto a ser consumido (12).

Os nitratos têm eficiência comprovada contra microrganismos butíricos por tempo ilimitado e não possuem efeito prejudicial sobre a flora láctica desejável no queijo (5). Uma vez adicionado ao leite, ele sofre redução enzimática pela xantina oxidase a nitrito que inibe o crescimento e desenvolvimento do *Clostridium* (4,13).

Por outro lado, nitratos e nitritos podem causar efeito tóxico em indivíduos expostos através de alimentos, dependendo da quantidade ingerida e da susceptibilidade do organismo. Os nitritos convertem a hemoglobina a metemoglobinemia, o que afeta o transporte de oxigênio. Existe também a possibilidade de reação desses íons com aminas secundárias e terciárias tanto "in vivo" como no próprio alimento, originando compostos N-nitrosos de elevado potencial carcinogênico, teratogênico e mutagênico (14-18). Fabricantes de queijo que utilizam tal método e reaproveitam o soro para fabricar outros produtos, como por exemplo aricota e alimentos infantis, devem monitorizar a concentração de nitrato e nitrito nestes, visto que a maioria dos íons são dissolvidos e arrastados pelo soro (19).

A avaliação periódica dos teores de nitratos e nitritos em alimentos deve ser realizada a fim de que a IDA (ingestão diária aceitável) não seja ultrapassada, o que colocaria em risco a população. Os valores de IDA para nitratos e nitritos preconizados no Brasil e em todo Mercosul, são os mesmos da FAO/OMS, ou seja, de 0,06 mg/kg/dia de nitrito (como íon) e de 3,7 mg/kg/dia para nitrato, ressaltando que a IDA não deve ser aplicada às crianças menores de 3 meses de idade. Alimentos destinados às crianças com menos de 6 meses de idade não podem conter nitrito como aditivo (20).

Não se tem conhecimento de trabalho desenvolvido na região sul de Minas relativo à determinação de nitratos e nitritos em queijo; esta região do é uma das maiores produtoras de queijos do País. Não se sabe se fabricantes estão usando tal aditivo, e, caso sim, se os valores ultrapassam ou não o permitido, o que motivou a realização deste trabalho. Para tal, a metodologia escolhida foi submetida a validação a fim de garantir a qualidade dos dados gerados.

## MATERIAL E METODO

Foram analisadas 43 (quarenta e três) amostras de queijo, sendo 16 (dezesesseis) industrializados e 27 (vinte e sete) caseiros, adquiridos em supermercados, mercearias, açougues, mercados municipais, laticínios e feiras livres de Alfenas e região. Dentre as amostras de queijos caseiros, 14 eram do tipo fresco. Estas análises foram realizadas no período de maio a junho de 1998.

O método empregado para determinação de nitrato e nitrito em queijos foi baseado nas técnicas descritas pelas normas da AOAC (método 976.14) (21) e também segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (22), só diferindo na vidraria utilizada: ao invés de um funil de separação acoplado a um tubo de vidro, utilizou-se bureta de 50 mL, o que evitou a formação de bolhas de ar.

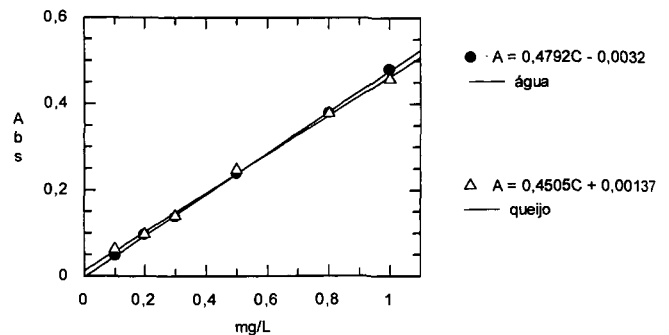
Para otimização do método, estudou-se: a linearidade, construindo a curva padrão de nitrito de sódio em água e em queijo; a capacidade redutora da coluna de cádmio, realizada logo após a montagem da coluna pela passagem de solução padrão de nitrato de sódio, num total de 7 experimentos; a precisão intra-ensaio, em adicionados com concentrações de 100, 500 e 1000 mg/kg, sendo feito quintuplicatas de cada concentração; a precisão interensaio, avaliada por análises de uma amostra dia-após-dia durante 7 dias, conservada sob refrigeração; a estabilidade da capacidade redutora da coluna de cádmio, calculada pela determinação da capacidade redutora da coluna, 7 vezes antes do início da análise das amostras e durante esta, por mais 4 vezes.

Os aparelhos utilizados foram: banho-maria Modelo 100 Fanem Ltda., espectrofotômetro de duplo feixe Micronal Modelo B493 e liqüidificador Roma Walita RI 6745.

## RESULTADOS

Através do estudo da linearidade, pela construção das curvas padrão, observou-se pequena influência da matriz nas leituras de absorvâncias (Figura 1).

FIGURA 1  
Curvas de calibração de nitrito adicionado á água e ao queijo



Portanto, a quantificação de nitrito foi feita utilizando a equação de regressão linear obtida da curva preparada pela adição de quantidades crescentes de nitrito em queijo.

A capacidade média redutora da coluna foi de 95,43% e a estabilidade ficou entre 93,66% e 103,82% (média 96,17%±3,71).

A precisão intra-ensaio do método, avaliada pela % de CV, foi de 4,90% para adicionados de 100 mg/kg de nitrito, 3,45% para 500 mg/kg e 3,41% para 1000 mg/kg. A precisão interensaio, para amostra com valor médio de 892,14 mg/kg±24,18, foi de 2,71% de CV. O limite de detecção do método foi estabelecido em 10 mg/kg.

Os teores de nitratos e nitritos determinados nas amostras podem ser visualizados na Tabela 1.

## DISCUSSÃO

O método validado apresentou-se adequado para aplicação na determinação de nitratos e nitritos em queijos, com variações intra e interensaio aceitáveis e limite de detecção 5 vezes menor de que o valor considerado limite máximo permitido de nitratos em queijos no País, de 50 mg/kg. Os procedimentos adotados foram de fácil execução, relativamente rápidos (aproximadamente 3 horas para cada análise, utilizando coluna de cádmio), viabilizando-os para análise de rotina de nitrato e nitrito em queijo.

Pode-se verificar através deste trabalho que todos os queijos que não apresentaram nitratos foram também negativos para nitritos. Zerfiridis & Manolkidis (8), na Grécia, também encontraram dados similares ou nitrito em concentração menor que 1 mg/kg, independente do conteúdo de nitrato. A ausência de nitritos em queijos industrializados onde não foi detectado o nitrato foi reportada por vários

pesquisadores (23-26). Provavelmente este fato se deve a que o nitrito, quando presente em queijos, é proveniente da redução do nitrato adicionado.

TABELA 1

Valores médios de nitrito e nitrato em amostras de queijo: industrializados, de 1 a 16, e caseiros, de 17 a 43 (sendo as de 30 a 43 do tipo fresco)

Valor médio (mg/kg)			Valor médio (mg/kg)		
Amostra	Nitrito	Nitrato	Amostra	Nitrito	Nitrato
01	nd	nd	23	nd	nd
02	39,3	142,8	24	nd	nd
03	nd	269,7	25	nd	nd
04	ndnd	26	nd	nd	
05	nd	nd	27	nd	nd
06	nd	nd	28	nd	nd
07	nd	nd	29	nd	nd
08	nd	nd	30	nd	15,0
09	nd	533,4	31	nd	189,0
10	nd	nd	32	nd	nd
11	nd	nd	33	nd	nd
12	nd	nd	34	nd	nd
13	nd	nd	35	nd	nd
14	nd	nd	36	nd	nd
15	nd	nd	37	nd	nd
16	nd	nd	38	nd	nd
17	nd	nd	39	nd	nd
18	nd	nd	40	nd	nd
19	nd	nd	41	nd	nd
20	nd	nd	42	nd	nd
21	nd	nd	43	nd	nd
22	nd	nd			

Nas amostras analisadas neste trabalho não foi verificada a presença de nitratos e nitritos em quantidades superiores a 100 mg/kg na maioria delas (88,37%). Outro trabalho desenvolvido no Brasil, na cidade de São Paulo, por Silveira et al. (27), em 1991, que analisaram 112 amostras de queijos, foi verificado que em 104 (92,85 %) não havia nitrato e nitrito detectável (LD=10 mg/kg), e em 8 (7,14%) apenas o nitrato estava presente. Os baixos níveis de nitrato e nitrito encontrados em queijos poderiam ser explicados pela alta solubilidade destes íons em água, ficando pequena parte adsorvida na superfície das micelas da caseína coagulada (28).

Lemieszec Chodorowska et al., citados por Devoyod (4), analisaram 1281 amostras de queijo semiduros, e em apenas 1% das amostras encontraram concentrações acima de 100 mg/kg; em 32,5% entre 20 e 100 mg/kg; em 44,9% entre 5 e 20 mg/kg e em 21,6% abaixo de 5 mg/kg. Em relação ao nitrito, 50,3% das amostras apresentaram concentrações menores de 1 mg/kg e apenas 0,3% superiores a 10 mg/kg.

Em 1980, Zerfiridis & Manolkidis (8) analisaram 54 amostras de queijos da Grécia e verificaram que 46,3% não

apresentavam nitrato e nitrito, 24% nitrato inferior a 1 mg/kg; 9,3% entre 1 a 10 mg/kg; 20,4%, entre 35 e 104 mg/kg. Pesquisaram também 69 marcas de queijos importados, sendo que o resultado encontrado mostrou grandes variações de teor: entre 1 e 508 mg/kg, sendo que 8,7% não apresentaram nitrato.

Lipparini & Rampa (2), em 1983, analisaram 72 amostras de queijo para teores de nitratos e nitritos procedentes de diferentes países: Itália, França, Alemanha, Holanda, Dinamarca, Suíça e Inglaterra. As quantidades de nitrato encontradas estiveram entre 0,4 e 18,3 mg/kg. Em todas obteve-se traços de nitrito até o limite de 0,9 mg/kg.

Baixas também foram as concentrações encontradas por Karlowski & Bojeski (29) para queijos poloneses, onde a média de nitrato encontrada foi de 12,2 mg/kg (de nd a 131,8 mg/kg) e de nitrito de 4,2 mg/kg (de 0 a 10,0 mg/kg).

Plutta et al. (30), analisando níveis de nitrato e nitrito em queijo produzido na Polônia, onde 0,01 a 0,02% de nitrato de sódio foi adicionado durante a fabricação, encontraram quantidades relativamente baixas, médias de 10 mg/Kg de nitrato e 1 mg/kg de nitrito.

Su et al. (31), na China, conduziram seus estudos sobre a composição de 41 amostras de queijos importados, sendo a concentração de nitrito detectada entre 1,1 e 6,3 mg/kg.

Diraman (32), em 1993, analisando 82 amostras de queijo na Turquia, onde nitrato e nitrito foram usados como agentes antimicrobianos, encontraram nitrato em concentrações variando de 0,19 a 191,64 mg/kg, sendo que 27 amostras continham menos que 1 mg/kg.

A adição de nitrato ao leite utilizado na preparação de queijo na Polônia é permitido num limite máximo de 50 mg/kg (33). Na Bulgária, nitrato de potássio é adicionado de 10 a 20 g/100 L para queijo duro e semi-duro. Esse valor de 20g/100L deve ser aderido à produção de queijo e tal regulamentação não resulta num risco de acumular nitrato, nitrito e N-nitrosaminas no consumidor (34). Na Holanda, é permitida a adição de 15 g de nitrato/100 L de leite e no Canadá, 20 g/100 L de leite. Já na França, Turquia, Grécia e Itália, o uso de tais conservantes não é permitido (32, 35).

A adição de nitrato e nitrito durante a fabricação de queijo é uma necessidade tecnológica no Brasil, pois outros métodos não contam com apoio legal, ou dependem de melhora da qualidade higiênica (27, 28, 32, 35, 36), de apoio financeiro (salvo a usinas de grande porte), de tecnologia ou mesmo da comprovação de sua eficiência.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados experimentais obtidos neste trabalho, concluiu-se que:

1. Grande parte dos produtores de queijo da região sul de Minas Gerais, Brasil, não fazem uso de nitratos e nitritos como agentes conservantes ou utilizam quantidades muito baixas e os que o fazem ultrapassam os limites máximos permitidos (amostras 2, 3, 12 e 14).

2. Apesar da maioria das amostras não apresentar níveis detectáveis de nitrato e nitrito, estando portanto seguras do ponto de vista toxicológico, isto pode implicar num maior risco de contaminação bacteriana.
3. Quando a adição de nitrato e nitrito se fizer necessária, e sendo o limite estabelecido pela legislação brasileira coerente, deve-se promover orientação para o uso correto. Mas, só a junção dos esforços de autoridades sanitárias, extensionistas, produtores de leite, técnicos de laticínios e pesquisadores poderá garantir bons produtos alimentícios.

### REFERÊNCIAS

1. Moraes JM. Influência de diferentes concentrações de nitratos e nitritos na inibição de esporulados anaeróbicos gasógenos do leite. *Rev Inst Latic. Cândido Tostes* 1981;36(215):21-23.
2. Lipparini L, Rampa A. Note sulla presenza di residui di nitrati e nitriti e di N-nitrosoamine nei prodotti lattiero - caseari del commercio. *Rass Chim* 1983;35(2):73-78.
3. Alais C. *Ciencia de la leche*. Barcelona: Reverté, 1985;233. 635-37.
4. Devoyod JJ. L'emploi des nitrates dans la fabrication des fromages. *Ann Nutr Aliment*. 1976;30(5/6):789-92.
5. Furtado MM. O estufamento tardio dos queijos: características e prevenção - um revisão. *Rev Inst Latic Cândido Tostes* 1985;40(242):3-39.
6. Gray JL, Irvine DM, Kakuda Y. Nitrates and N-nitrosamines in cheese. *J Food Prot*. 1979;42(3):263-72.
7. Rockize S. Les nitrates et nitrites comme additifs aux aliments. *Ann Nutr Aliment*. 1976;30:715-42.
8. Zerfliridis GK, Manolkidis KS. Contents of nitrates and nitrites in some Greek and imported cheeses. *J Food Prot*. 1981;44(8):576-79.
9. Zerfliridis GK. Hydrogen peroxide okayed for use in cheesemaking and whey manufacture. *Dairy Field* 1981;164(19):17.
10. Galesloot TE, Stadhouders GW, Elgersma RHC. On the occurrence of nitrosamines and the use of nitrate in the production of Gouda and Edam cheese. Report NOV-470, 2nd version, Netherlands Institute for Dairy Research 1975.
11. Webb BH, Johnson N AH, Alford JA. *Fundamentals of dairy chemistry*, 2a. ed: AVI Publishing Co. 1974.
12. Brasil, Leis, Decretos, etc. Resolução no 4/1988 do Conselho Nacional de Saúde. *Diário Oficial, Brasília*, 19 dez. 1988, Sec. I, p.24718. Aprova a revisão das tabelas I, III, IV e V, referentes a aditivos intencionais e anexos I, II, III, IV, V, VI e VII, todos do Decreto 55.871 de 26/03/65.
13. Galesloot TE. Effect of nitrate in preventing butyric acid fermentation in cheese. *Neth Milk Dairy J* 1961;15:395-410.
14. Araújo ACP, Midio AF. Nitratos e nitritos en alimentos infantilis industrializados y caseros. *Alimentaria* 1990;27(209):69-75.
15. Reys GR, Scalan RA. N-nitrosaminas: formação e ocorrência em alimentos. *Bol Soc Bras Cien Tecnol Aliment*. 1984;18:299-309.
16. Sarasera S, Savitz RA. Cured and broiled meat consumption in relation to childhood cancer. *Cancer Causes Control* 1994; 5:141-148.
17. Swann PF. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J Sci Food Agric*. 1975;26:1761-1770.
18. Vitozzi L. Toxicology of nitrates and nitrites. *Food Addit. Contam*. 1992;9:579-585.
19. Duarte M, Midio AF. Soro lácteo: características nutricionais e riscos na sua utilização, *Higiene Alimentar* 1997a;11(47):23-25.
20. World Health Organization. Technical Report Series 859 - Evaluation of certain food additives and contaminants. 44th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 1996.
21. Official methods of the Association of Official Analytical Chemists. 16ed. Washington 1997:2:62-63.
22. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3ed. São Paulo 1985, 1.
23. Birkkjaer HE, Thomsen D. Varying the addition of saltpetre in manufacture of different types of Danish cheese. *Beterning fra Statens Forsogsmejeri* 1978; 230.
24. Goodhead K, Gough TA, Webb KS, Stadhouders J, Elgersma RHC. The use of nitrate in the manufacture of Gouda cheese. Lack of evidence of nitrosamine formation. *Neth Milk Dairy J*. 1976;30:207-221.
25. Przybylowski P, Kiszka J, Daznowiec Z. Contents of nitrates, nitrites and nitrosamines in 3 types of cheese, Edam, Gouda and Tilsit. *Przemysl*.
26. Sen NP, Donaldson B. Improved colorimetric method for determination nitrate and nitrite foods. *J Assoc Off Anal Chem*. 1975; 61:1755-1760.
27. Silveira NVV, Yabiku HY, Durte M, Takahashi MY, Chicourel EL. Níveis de nitritos, nitratos e sorbatos em queijos comercializados na cidade de São Paulo. *Rev Inst A. Lutz* 1991;51(1/2):37-40.
28. Abreu LR, Costa LCG, Furtado MM. Influência da adição de nitrato de sódio ao leite destinado à fabricação de queijo prato nos teores de nitrato e nitrito do soro e do queijo. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes* 1986; 41(247):35-6.
29. Karlowski K, Bojewski J. Investigation of Polish cheeses for the presence of nitrate, nitrite and N-nitrosamines. *Rocz Panstw Zakl Hig*. 1987; 38(3):199-205.
30. Pluta A, Zmarlicki S, Gawel J & Ostrowski S. - Nitrate and nitrite in maturing cheese produced in Poland. *Przem. Spozyw*. 1986; 40(7/8/9):166-7.
31. Su HP, Tien CH, Lin CW. A survey of the composition of commercial cheese products. *J. of the Chinese Society of Animal Science* 1992; 21(3):317-325.
32. Diraman H. - A research on nitrite determination of cheese produced in Thrace region. *Gida*. 18(5):293-295. 1993.
33. Nabrzycki M, Gajewska R. The content of nitrate and nitrite in some other foodstuffs. *Rocznikii Panstwowego Zakladu Higieny* 1994; 45(3):167-180.
34. Kozhev S, Kozhev A. Potassium nitrate residues in hard and semihard cheeses. *Khranitelna Promishlenost* 1994; 43(3):18-19.
35. Glaesser H. Use of nitrite in cheese production. *Dairy Industries Internacional* 1989; 54(11),19,21-23.
36. Abo-Elnaga IG, Abdel-Mottaleb L, El-Gendy SM. Effect of some late-blowing inhibitors on bacteriological and chemical changes in Swiss cheese. *Sudan J Food Sci Technol*. 1974; 6:32-35.

Recibido: 14-12-1998

Aceptado: 02-06-1999

## Composición química de productos alimenticios derivados de trigo y maíz elaborados en Costa Rica

*Adriana Blanco-Metzler, María de los Angeles Montero-Campos y Mireya Fernández-Piedra*

Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (Inciensa). Tres Ríos, Costa Rica

**RESUMEN.** Se analizó la composición química de trece alimentos correspondientes a veintiún productos alimenticios derivados de trigo y maíz, elaborados en Costa Rica con el propósito de contar con datos de alimentos locales, necesarios para apoyar la formulación de políticas de salud y programas destinados a mejorar la nutrición de la población y la calidad de los alimentos. Los métodos analíticos utilizados para determinar la composición proximal fueron los del AOAC, se cuantificó la energía por bomba calorimétrica y la fibra dietética (FD) por el método gravimétrico-enzimático. Además, se determinó el tamaño de porción de cada alimento y se les clasificó de acuerdo a su aporte de FD. El contenido de los nutrientes se comparó con los reportados en tablas extranjeras de uso frecuente. Las galletas dulces mostraron contenidos de grasa y energía mucho más elevados que en los panes y galletas saladas. Se clasificó a los derivados de trigo y de maíz en fuentes bajas o muy bajas de FD (<2.9 g FD/porción). La tortilla duplica al pan en el contenido de FD, y es predominantemente insoluble. A excepción de los derivados de maíz se encontró marcadas diferencias en la composición nutricional de los alimentos con respecto a los datos provenientes de tablas extranjeras. La tabla de alimentos con que se encontró mayor concordancia en la composición fue la centroamericana, seguida de la latinoamericana, lo que refuerza la necesidad de los estudios colaborativos subregionales y regionales. Se demostró la necesidad de contar con datos de composición química en los alimentos elaborados en el país. **Palabras clave:** Composición de alimentos, análisis de alimentos, LATINFOODS, alimentos derivados de trigo, alimentos derivados de maíz.

**SUMMARY.** Chemical composition of wheat and corn based food products elaborated in Costa Rica. Twenty one wheat and corn based food products elaborated in Costa Rica were analyzed by chemically with the purpose of having data on local foods. The analytical methods to determine proximate composition were AOAC's. Energy was estimated by calorimetric bomb and dietary fiber (DF) by the gravimetric enzymatic method. Also food portion size was estimated and related with DF content for food classification. The values of the nutrients per food were established and compared with others reported in foreign tables commonly used in the country. Fat and energy content in cookies are higher than in salad breads and crackers. Wheat and corn based food products are classified either as low or very low DF sources (<2.9 g DF/portion). Corn "tortilla" DF content duplicates bread's and the fiber is basically insoluble. Marked differences were founded in the nutritive composition of specific foods when compared with values reported in foreign food tables. In other foods, as corn based products, similarities in the chemical composition were common. The chemical composition of the studied local foods shows the potential of the diet to be atherogenic, an important aspect to be considered with relation to the main causes of mortality in Costa Rica population. The more compatible food composition table with our data is the Central American, followed by the Latin American one. The necessity of having data on the chemical composition of local foods has been demonstrated.

**Key words:** Food composition, food analysis, LATINFOODS, wheat based food products, corn based food products.

### INTRODUCCION

Los cereales y sus derivados, son el principal grupo de alimentos consumidos por la población costarricense. Los derivados de trigo y los de maíz representan en los cereales el 30% y el 12%, respectivamente, mientras el arroz al restante 58%. La distribución en el consumo de estos alimentos difiere según el grado de urbanización, así la ingestión de los derivados de trigo es mayor en la zona urbana con respecto a la rural. Por el contrario el consumo de maíz y derivados es mayor en el área rural que la urbana. El ingreso económico de la población costarricense afecta en poco el consumo del total de los dos grupos de derivados, difiriendo en el tipo de producto (1).

De acuerdo a la oferta comercial, los derivados de trigo que se consumen en el país por orden de importancia son los panes, la harina de trigo, las pastas y las galletas (1). El mercado nacional de los derivados de trigo es muy dinámico, en gran parte debido a la globalización. Existe una amplia variedad de tipos y marcas de panes, galletas y pastas donde en los últimos años, la declaración en las etiquetas de la información nutricional es cada vez más frecuente.

La relación entre salud y alimentos es de suma importancia en enfermedades crónicas no transmisibles como las cardiovasculares y el cáncer, que representan la primera y segunda causa de muerte en la población costarricense (2). La prevención y tratamiento de estas enfermedades y de sus

factores de riesgo, está directamente asociado a factores dietéticos, tales como las calorías, la grasa, la fibra dietética, el colesterol, la vitamina E, los carotenoides y otros compuestos no nutricionales (3,4).

A pesar de la relevancia en la salud y nutrición de la población nacional, a diferencias culturales y particularidades ambientales, no se cuenta con datos sobre el valor nutritivo, fundamentalmente en los alimentos de mayor consumo y los producidos en el país. Los usuarios nacionales de los datos en composición de los alimentos, utilizan fuentes de datos extranjeras (4,5). Es por ello que en el presente estudio piloto se determinó el contenido de macronutrientes en harinas y productos alimenticios a partir de trigo y maíz producidos en Costa Rica, mediante análisis directo a fin de contar con datos para apoyar la formulación de políticas de salud y programas destinados a mejorar la nutrición (3). Las aplicaciones específicas que podrán tener los resultados son: la intervención dietética de personas con enfermedades crónicas degenerativas relacionadas con la dieta, la promoción de la salud, la regulación de la calidad de los alimentos y las bases de datos en composición de alimentos de Costa Rica (Sistema de Información en Composición de Alimentos) y latinoamericana (LATINFOODS).

## MATERIALES Y METODOS

### Materiales

Los siguientes trece alimentos derivados de trigo refinado y maíz, correspondientes a veintiún productos de consumo popular y de diferentes marcas comerciales (indicadas entre paréntesis) fueron estudiados:

#### Trigo y derivados:

- Harina de trigo, refinada, todo propósito (Nacarina)
- Pan francés de panadería, conocidos como manitas» (2 panaderías)
- Pan blanco industrial en tajadas (Cinta Azul, Damaris)
- Galleta de soda salada, industrial (Copo, Pozuelo)
- Galleta salada Boquitas (tipo cocktail), industrial (Pozuelo)
- Galleta tipo saladina (Pozuelo)
- Galleta dulce de harina refinada ( 2 panaderías)
- Galleta dulce de harina refinada, industrial (Cuétara, Copo)
- Pasta sin huevo cocida tipo espagueti y chop suey (Roma, Vigui)

#### Maíz y derivados

- Harina de maíz blanco precocido, industrial (Masa Rica)
- Masa húmeda de maíz blanco tratado con cal, artesanal (2 molinos)
- Tortilla de maíz blanco tratado con cal, artesanal (2 molinos)
- Tortilla de maíz blanco tratado con cal, industrial (Torti-Rica)

### Selección de las muestras:

Sobre la base del listado de alimentos inscritos por el número de licencia sanitaria en el Ministerio de Salud de Costa Rica y los volúmenes de producción por marca comercial, se seleccionaron aquellos producidos en mayor cantidad.

### Muestreo:

La recolección de las muestras se realizó durante 1993 y 1994. Una unidad de cada producto procesado fue recolectada por triplicado en dos supermercados del comercio metropolitano. Se muestrearon un total de 10 unidades por tipo de pan, galleta y tortilla elaborada artesanalmente. La masa de maíz se compró en dos molinos artesanales.

### Tamaño de porción:

Debido a la necesidad de contar con datos locales del tamaño de porción en los alimentos listos para comer se realizó su determinación en el laboratorio. Se definió a la porción como la cantidad del alimento que generalmente se acostumbra consumir por tiempo de comida y esta cantidad fue establecida en el empaque del producto industrial (una tajada o bollito de pan, un paquete de galletas) y para los artesanales según los criterios de las nutricionistas locales.

En las galletas industriales se pesó en balanza granataria un total de seis unidades de cada una de las tres muestras, el peso promedio de seis galletas correspondió a una porción (un paquete). En los panes se determinó el peso promedio de tajadas alternas por bollo de pan de cada una de las muestras de un supermercado, definiéndose el tamaño de porción como el promedio de una tajada. De las galletas de producción artesanal y tortillas se pesaron 10 unidades; el promedio de un bollito, seis galletas y dos tortillas, respectivamente, correspondió a una porción.

### Preparación de las muestras:

Las muestras con más de 10% de humedad fueron secadas enteras en un horno de convección a 70° C hasta sequedad. Luego fueron molidas en un triturador stomaker y se formó la muestra compuesta con cantidades iguales de las repeticiones. Las galletas por contener menos del 10% de humedad, se procesaron directamente en el «stomaker».

El único producto que incluyó una cocción en el laboratorio fueron las pastas, que se cocinaron en agua destilada en ebullición tal y como lo se establece en la etiqueta del producto, no se adicionó ni sal ni grasa. En un horno de convección a 70° C se secó la muestra y luego se molió en una licuadora.

### Métodos químicos de análisis:

Se realizó a cada muestra los siguientes análisis por triplicado, el valor promedio se expresó en base fresca:

- **Humedad:** se determinó en horno de convección (método 14.004) según la metodología del AOAC (7).
- **Energía:** se determinó en una bomba calorimétrica según el método de la American National Standard (8).

- **Proteína:** se determinó mediante el método de macroKjeldahl (2.049) según la metodología del AOAC (7). La mezcla digestiva utilizada estaba compuesta de ácido sulfúrico y ácido fosfórico en una proporción de 19:1. Los catalizadores utilizados en la digestión fueron: sulfato de sodio, sulfato de cobre y selenito de sodio.
- **Grasa:** se determinó mediante la extracción con éter de petróleo, método 7.056, en un Soxhlet y mediante la metodología descrita en el AOAC (9).
- **Cenizas:** se determinaron por incineración en mufla y de acuerdo al método 14.006 del AOAC (7).
- **Fibra dietética:** se determinó mediante el método enzimático gravimétrico de Lee *et al* (9). Las muestras con más de 10% de grasa fueron previamente desgrasadas. Para cada muestra, primeramente se determinó la fibra dietética total (FDT) y luego se determinó la fracción insoluble (FDI). La fracción soluble (FDS) se calculó por diferencia. Para los análisis se utilizó material con un tamaño de partícula de 500-850  $\mu\text{m}$ .
- **Carbohidratos (CHO) totales y digeribles:** se calcularon por diferencia:  
 $\text{CHO totales} = 100 - (\text{humedad} + \text{proteína} + \text{grasa} + \text{ceniza})$  y  
 $\text{CHO digeribles} = 100 - (\text{humedad} + \text{proteína} + \text{grasa} + \text{ceniza} + \text{FDT})$ .

## RESULTADOS Y DISCUSION

En las Tablas 1 y 2 se indica la composición proximal de las harinas, panes, galletas y pastas refinadas de trigo. En la Tabla 3 se indica la composición de las tortillas de maíz y su materia prima. El contenido de carbohidratos digeribles y de fibra dietética total y sus fracciones, así como la porción y el contenido de FDT/porción de los alimentos anteriormente citados aparecen en las Tablas 4,5 y 6.

Los panes de trigo elaborados artesanalmente contienen 11% menos de humedad que los producidos industrialmente. Al comparar cada tipo de pan con su equivalente de la Tabla Centroamericana (CA) del INCAP(11) se encontraron semejanzas en el contenido de macronutrientes. Con respecto a los datos de los panes indicados en la base de datos ESHA del programa Food Processor de EUA (12) existe una diferencia importante (hasta de un 50%) en el contenido de agua, siendo mucho menor en los panes nacionales con respecto a los estadounidenses (36% humedad), lo que determina diferencias importantes en su composición y por ello utilizar estos valores subestima los contenidos de grasa y el valor calórico de los alimentos nacionales. La formulación del pan blanco industrial local difiere del de EUA pues no incluye leche (12). Por otro lado, con respecto a la Tabla Latinoamericana (13), es difícil elegir el tipo de pan para hacer comparaciones, pues existe una amplia gama de panes, con diferentes nombres y excluye la lista de ingredientes. Los contenidos de fibra dietética reportados en el Food Processor (12) son un poco más bajos (1.9-2.7% FDT) que los aquí encontrados. Los datos de fibra solamente se pueden comparar con los de la base de datos

de EUA ya que en las otras tablas no aparecen.

Las galletas sobresalen con respecto a los otros derivados de cereales estudiados, por el mayor contenido calórico y de grasa (Tablas 1, 2 y 3), debido en parte al menor contenido de humedad y a la formulación. Como se observa en la Tabla 2 alrededor de la cuarta parte de la galleta salada Boquita es grasa. Tanto en los datos obtenidos por análisis directo, como los reportados (12), se encontró que la composición proximal de las galletas soda y salada es similar, y que las galletas boquitas o tipo cocktail ( en inglés round crackers-like Ritz»), difieren de las primeras, tanto en el contenido graso como calórico. Con respecto al contenido de humedad reportado para galletas en otras tablas (11,13) no se encontraron diferencias importantes. No se identificó el equivalente de la galleta dulce de panadería en otras tablas a excepción del Food Processor (12), donde la composición semeja a las animal cookies. Se encontró que la galleta dulce tipo María indicada en la Tabla CA (11) duplica el contenido de grasa que las de Costa Rica. Los contenidos de fibra dietética en algunos tipos de galletas presentan valores semejantes o un poco más bajos a los reportados en el Food Processor (12) (8g% FDT).

TABLA 1

Composición proximal de harina y panes blancos de trigo (% base fresca)

Alimento	Humedad (g)	Energía (kcal)	Proteína (g)	Grasa (g)	Ceniza (g)	CHOT (*)
Harina refinada (n=1)	10.1±0.5	391±2	12.0±0.6	0.9±0.1	0.4±0.0	76.7
Pan francés panadería (n=2)	16.4±4.4	365±11	11.6±0.5	2.1±0.7	2.3±0.5	67.6
Pan salado industrial (n=2)	27.6±2.8	321±13	9.6±0.1	2.6±0.6	1.7±0.0	58.5

(\*) CHOT: Carbohidratos totales, g.  
 n: Número de muestras

Las pastas de trigo cocidas constituyen los alimentos con mayor contenido de humedad, casi tres cuartas partes del producto es agua (ver Tabla 2). El contenido de agua en las pastas costarricenses es mucho más elevado que los valores reportados en la Tabla CA (11) y la del Food Processor (12) (ambas 66% humedad). Estas diferencias podrían deberse al grado de cocción de éstas.

De los alimentos preenvasados sólo las pastas presentaban en su etiqueta la información nutricional. Los valores declarados en ella corresponden al producto sin cocinar, aspecto que se debe modificar porque se consumen cocidas.

En la Tabla 3 aparecen los resultados de las tortillas producidas en el país, así como la harina y la masa. La harina de maíz se vende en el comercio para elaborar tortillas y otros

productos derivados en el hogar y en la industria. En los molinos se utiliza maíz fresco tratado con hidróxido de calcio y luego es lavado con agua, para ser molido produciéndose como producto intermedio una masa fresca.

**TABLA 2**  
Composición proximal de galletas y pastas de trigo  
(% base fresca)

Alimento	Humedad (g)	Calorías (kcal)	Proteína (g)	Grasa (g)	Ceniza (g)	CHOT (*)
Galleta soda salada (n=2)	2.8±2.1	445±12	9.7±1.2	11.8±0.1	2.5±0.2	73.2
Galleta salada boquitas (n=1)	1.8±0.3	513±1	5.3±0.1	24.2±0.1	2.6±0.1	66.1
Galleta saladina (n=1)	3.7±0.0	456±0	10.4±0.1	11.8±0.0	4.3±0.3	69.8
Galleta dulce panadería (n=2)	4.6±2.6	414±18	9.7±0.4	4.8±2.3	1.4±0.5	79.5
Galleta dulce industrial (n=2)	1.9±0.4	466±11	6.5±0.2	11.8±1.0	1.4±0.2	78.4
Pasta cocida (n=2)	74.1±0.1	114±6	3.1±0.2	0.1±0.0	0.2±0.0	22.6

(\*) CHOT: Carbohidratos totales, g.  
n: Número de muestras

**TABLA 3**  
Composición proximal de materias primas y tortillas de maíz (% base fresca)

Alimento	Humedad (g)	Energía (kcal)	Proteína (g)	Grasa (g)	Ceniza (g)	CHOT (*)
Harina maíz precocido (n=1)	6.8±0.0	426.8±1.1	9.7±0.0	3.8±0.1	1.3±0.0	78.4
Masa de maíz molino (n=2)	66.8±0.5	147.0±4.8	3.4±0.3	0.7±0.2	0.3±0.2	28.9
Tortilla de maíz molino (n=2)	50.0±7.2	223±22	4.8±0.7	0.7±0.4	0.7±0.2	44
Tortilla de maíz industrial (n=1)	45.2±0.5	247±0	5.1±0.0	1.0±0.0	0.9±0.0	47.7

(\*) CHOT: Carbohidratos totales, g.  
n: Número de muestras

El contenido de macronutrientes de las tortillas elaboradas en molinos artesanales es semejante a la industrial producida en el país, la única pequeña diferencia es el contenido de grasa que es un poco mayor en la tortilla industrial que la del molino.

La composición de macronutrientes en las tortillas y masa de maíz semeja a la que se presenta en otras fuentes de datos (11,13,16), aún en el contenido de fibra dietética reportado para la tortilla (8 g FDT/ 100g) en el Food Processor (11).

Se comparó en base seca el contenido de los nutrientes de la masa de molino con las de tortillas de molino, la harina precocida y las tortillas producidas industrialmente, encontrándose que la cocción aumenta el contenido de fibra dietética y reduce el de grasa total. El incremento en fibra dietética concuerda con los reportados por Acevedo y Bressani (16) en masa y tortillas de algunas de las variedades de maíz. El aumento de FDT de la tortilla con respecto a la masa posiblemente se debe a la formación durante la cocción de almidones indigeribles que se cuantifican en el análisis como fibra dietética (17). En Costa Rica las tortillas elaboradas artesanalmente se cocinan en un comal engrasado a altas temperaturas y en la industria se hornean en una plancha sin engrasar, la reducción en el contenido de grasa por efecto de la cocción podría deberse a que ésta se licúa con el calor y queda en el utensilio de cocción. Este hallazgo también es reportado por Vargas (18).

Las harinas de trigo y de maíz difieren en el contenido de macronutrientes cuando se expresan en base seca. Se encontró valores calóricos semejantes, a pesar de la diferencia en el contenido de grasa y de la proteína. La harina de maíz contiene más grasa y cenizas que la harina de trigo, para el caso de la proteína ocurren lo contrario. Es notable el mayor contenido de fibra dietética en la harina de maíz con respecto a la de trigo, aspecto que se debe utilizar para promover el aumento en el consumo de fibra dietética en el país.

Para establecer la contribución de los alimentos en la dieta se calculó el contenido de fibra dietética por porción. Se utilizó la siguiente clasificación para categorizar a los alimentos: <1, 1-2.9, 3-3.9, 4-5.9 y >6 g FDT/porción representan alimentos muy bajos, bajos, moderados, altos y muy altos, respectivamente en fibra dietética (6).

Según las Tablas 4,5 y 6 los panes, galletas y pastas de trigo, y las tortillas de maíz se clasifican como fuentes bajas y muy bajas de fibra. También se observa que en todos los productos, excepto en las galletas, la proporción de la fibra insoluble con respecto a la soluble, siempre es mayor.

El contenido de FDT por porción de tortilla es comparativamente superior al de los panes y galletas comerciales. No obstante, es importante considerar desde el punto de vista fisiológico el tipo de fibra de cada uno. A diferencia de los productos de trigo, los de maíz están compuestos de una fibra fundamentalmente insoluble (Tabla 6). Asp (17) señala que esta fibra, tiene una acción fundamentalmente en el sistema gastrointestinal y no en el metabolismo de grasas y glucosa; por lo que no es recomendado incrementar su consumo en el manejo dietético de la enfermedad cardiovascular y sus factores de riesgo.

**TABLA 4**  
Contenido de carbohidratos digeribles, fibra dietética y tamaño de porción en harina y panes blancos de trigo

Alimento	CHO diger	FDI	FDS	FDT	Porción (g)	FDDT/Porc (g/g)
Harina refinada refinada (n=1)	75.1	2.2	1.1	3.3	NA	NA
Pan francés panadería (n=2)	62.9	3.0±0.1	1.7±0.1	4.7±0.0	1 bollito, 24g	1.1
Pan salado industrial (n=2)	54.9	2.0±0.0	1.6±0.2	3.6±0.3	1 tajada, 19 g	0.7

CHO diger: Carbohidratos digeribles (g/100g)

FD: Fibra dietética (I: insoluble, S: soluble, T: total) (g/100g)

NA: No aplica n: número de muestras

En los productos derivados de cereales listos para consumir, excepto en las galletas, los dos macronutrientes que aparecen en mayor proporción son agua y carbohidratos digeribles (ver Tabla 1 al 6). En las galletas los macronutrientes que sobresalen son los carbohidratos y las grasas, encontrándose entre aquellas las consideradas por la población como libres de grasa (galletas de soda), con un contenido de hasta 11.8 % de grasa.

Se demuestra que existen marcadas diferencias en la composición nutricional de los alimentos, así como semejanzas. Ello señala es que muy importante contar con datos de composición de los alimentos locales, sobre todo de aquellos de consumo popular y que la fuente de datos más compatible con los aquí reportados es la Tabla CA (11). Algunos alimentos y nutrientes como la fibra dietética no aparece en las tablas más comúnmente usadas en el país por lo que la generación de estos datos será de gran ayuda para los usuarios.

**TABLA 5**  
Contenido de carbohidratos digeribles, fibra dietética y tamaño de porción en galletas y pasta de trigo

Alimento	CHO diger	FDI	FDS	FDT	Porción (g)	FDDT/Porc (g/g)
Galleta soda salada (n=2)	69.1	1.8±0.3	2.3±0.4	4.1±1.0	paquete, 26	1.1
Galleta salada boquitas (n=1)	63.5	0.6	1.2	1.8	paquete, 26	0.5
Galleta saladina (n=1)	65.5	1.5	2.7	4.2	paquete, 25	2.6
Galleta dulce panadería (n=2)	76.8	1.3±0.6	1.7±0.7	3.0±0.1	5 unidades, 23	0.6
Galleta dulce industrial (n=2)	75.7	1.0±0.3	1.7±0.0	2.6±0.6	5 unidades, 23	0.6
Pasta cocida (n=2)	21	1.5±0.1	0.1±0.1	1.6±0.1	1 taza, 95	1.5

CHO diger: Carbohidratos digeribles (g/100g)

FD: Fibra dietética (I: insoluble, S: soluble, T: total) (g/100g)

NA: No aplica n: número de muestras

**TABLA 6**  
Contenido de carbohidratos digeribles, fibra dietética y tamaño de porción en materias primas y tortillas de maíz

Alimento	CHO diger.	FDI	FDS	FDT	Porción (g)	FDDT/Porc (g/g)
Harina de maíz precocido (n=1)	72.5	10	0	10	NA	NA
Mesa de maíz molino (n=2)	25.5	3.2±0.6	0.2±0.1	3.4±0.5	NA	NA
Tortilla de maíz, casera (n=2)	37.5	6.2±1.4	0.2±0.1	6.5±2.0	2 tortillas, 38	2.5
Tortilla de maíz industrial (n=1)	40.8	6	1	7	2 tortillas, 32	2.2

CHO diger: Carbohidratos digeribles (g/100g)

FD: Fibra dietética (I: insoluble, S: soluble, T: total) (g/100g)

NA: No aplica n: número de muestras.

El tamaño de la porción descrita, podrá ser utilizado para el planeamiento de dietas y en la elaboración del etiquetado nutricional de los alimentos preenvasados. Dado que no se contaba con datos sobre la composición de los alimentos locales la generada en el presente estudio piloto podrá servir de base para realizar muestreos representativos en futuros estudios. Una utilidad adicional de esta información es que orientan en el uso de tablas de composición foráneas, pues facilita la selección de los alimentos cuando se requiera información adicional en composición de alimentos, experiencia que se llevó a cabo con las nutricionistas de Inciensa.

La composición química de algunos de los derivados de trigo, fundamentalmente las galletas, muestra que tienen elevados contenidos de calorías y grasas, aspecto que se debe tomar en cuenta y dar a conocer a los usuarios para que lo consideren en las intervenciones dietéticas, promoción de la salud y etiquetado nutricional a fin de contribuir en la prevención y tratamiento de las enfermedades crónicas relacionadas con la dieta.

### AGRADECIMIENTO

Este estudio se realizó con el apoyo financiero del Fondo de Desarrollo de Asignaciones Familiares (FODESAF) de Costa Rica y de la Fundación Internacional para la Ciencia, IFS (Grant E/ 925-2).

### REFERENCIAS

1. Meza N, Rodríguez N. II Encuesta nacional sobre consumo aparente de alimentos, 1991. Análisis de tendencias en el consumo de alimentos. 1989-1991. San José, Costa Rica: s.e., 1993.
2. Ministerio de Salud. Informe anual 1996. San José, Costa Rica: Impresora Los Sauces, 1997.
3. Araya H. Uso de tablas de composición de alimentos en las intervenciones alimentarias y nutricionales. En: Morón C, Zacarías I, De Pablo S, editores. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Santiago, Chile: A&C Impresores, 1997:9-19.
4. Aráuz AG, Monge RA, Muñoz L, Rojas M. La dieta como factor de riesgo de la enfermedad cardiovascular en habitantes del área metropolitana, San José, Costa Rica. Arch Latinoamer Nutr. 1991;41:350-9.
5. Rodríguez N, Aráuz AG, Meza N y Roselló M. Factores aterogénicos de la dieta de la población costarricense, 1991. Arch Latinoamer Nutr 1996;46:27-32.
6. Slavin J. Dietary fiber: Classification, chemical analyses, and food sources. J Am Diet Assoc. 1987;87:1164-1171.
7. Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12 edition Washington D.C. 1975.
8. American National Standard Test Methods for Heat of Combustion of Liquid Hydrocarbon Fuels by Bomb Caloric. Philadelphia American Society for Testing and Materials, (ANSI/ASTM D240-76). 1979;1-7.
9. Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12-13 th edition Washington D.C. 1980.
10. Lee S, Prosky L, De Vries J. Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods enzymatic gravimetric method, MES-TRIS Buffer: Collaborative Study. J AOAC Intl. 1992;75:395-416.
11. Menchú MT, Méndez H, Barrera MA, Ortega L. Tabla de composición de alimentos de Centroamérica. Primera sección. 1ra. edición. Guatemala: OPS-INCAP, 1996. (Versión preliminar).
12. ESHA. The Food Processor for Windows. Nutrition and Fitness Software. Oregon: ESHA Research Salem, 1996 (Versión 6.0).
13. Tabla de composición de alimentos de América Latina. Santiago de Chile: Centro Subregional LATINFOODS para América del Sur, Universidad de Chile. 1997 (Edición preliminar).
14. Wu Leung. Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina. INCAP-ICNND. 1961;131p.
15. Vargas P, Chaverri A. Técnicas de panificación y repostería. San José: Instituto Nacional de Aprendizaje. 1985;192p.
16. Acevedo E, Brassani R. Contenido de fibra dietética y digestibilidad del nitrógeno en alimentos centroamericanos: Guatemala. Arch Latinoamer Nutr 1990;XL:439-451.
17. AspNG, Schweizer TF, Southgate DAT y Theandrs O "Dietary Fiber Analysis". En: Dietary Fibre. A component of food: nutritional function in health and disease. Schweizer TF, Edwards CA, editores. London: Springer-Verlag, 1993.
18. Vargas E, Muñoz R, Gómez J. Composición química y valor biológico de tortillas y panes producidos a nivel industrial en Costa Rica. Arch Latinoamer Nutr. 1986;36:456-465.

Recibido: 28-11-1998

Aceptado: 01-10-1999

## Fibra dietética en verduras cultivadas en Chile

Nelly Pak D.

Centro de Nutrición Humana, Facultad de Medicina Universidad de Chile

**RESUMEN.** El objetivo de este trabajo es aportar conocimiento sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble de las verduras cultivadas en Chile, tal como se consumen. Se analizó un total de 33 verduras, obtenidas del comercio y del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Se determinó en la parte comestible de las verduras (16 crudas y 17 cocidas a ebullición), el contenido de humedad y fibra dietética total, soluble e insoluble. La humedad fluctuó entre 63,2 a 96,2 g %. Los datos de fibra se presentan como promedio  $\pm$  ds. Los valores de fibra dietética total soluble e insoluble, expresados en g% en base fresca fueron de  $3,00 \pm 1,59$ ,  $0,93 \pm 0,50$  y  $2,06 \pm 1,26$  con un rango de 0,96 a 7,3, 0,3 a 2,6 y 0,51 a 5,90 respectivamente. Calculado en g % peso seco, el valor de la fibra dietética fue de  $30,1 \pm 12,5$  con un porcentaje de fibra insoluble y soluble de 68,5. El aporte de fibra dietética total por porción comestible tamaño grande varió entre 1,0 a 10,7 g.

Al estimar la relación fibra insoluble/fibra cruda y fibra dietética total/ fibra cruda, no se encontró una relación constante en ambos casos, fluctuando los valores entre 1,1 a 4,5 (promedio  $2,2 \pm 1,0$ ) y 1,4 a 6,5 (promedio  $3,2 \pm 1,5$ ) respectivamente.

El análisis de los resultados permite concluir que en las verduras existe una gran variación en los aportes de fibra dietética soluble e insoluble. La información del presente estudio permite seleccionar los diferentes tipos de verduras de acuerdo a su contenido de fibra soluble e insoluble, para un mejor manejo dietético en la prevención o tratamiento de determinadas patologías.

**Palabras clave:** Fibra dietética, fibra insoluble/fibra cruda, fibra total/fibra cruda, verduras.

**SUMMARY. Dietary fiber in vegetables cultivated in Chile.** The objective of this study was to determine the soluble, insoluble, and total dietary fiber contents in vegetables produced in Chile. The analyses were conducted in the vegetables in the same conditions as they are consumed. Thirty-three vegetables obtained from local markets and the Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) were studied. Water and fiber contents were determined in 16 raw and 17 cooked (boiled) samples. Moisture range between 63.2% and 96.2%. Average ( $\pm$ sd) total, soluble and insoluble contents, expressed as g% on wet basis were:  $3.00 \pm 1.59$ , range 0.96-7.3;  $0.93 \pm 0.50$  range; 0.30-2.60, and  $2.06 \pm 1.26$ , range 0.51-5.90 respectively. On dry weight basis total fiber concentration was  $30.1 \pm 12.5$ , with a proportion of 68.5% and 31.5% of the insoluble and soluble form, respectively. On dry weight basis total fiber concentration was  $30.1 \pm 12.5$ , with a proportion of 68.5% and 31.5% of the insoluble and soluble form, respectively. Dietary fiber supply ranged between 1.0 to 10.7 g in the large serving sizes.

The ratios insoluble fiber/crude fiber and total dietary fiber/crude fiber did not present constant results. Values ranged between 1.1 and 4.5 (mean  $2.2 \pm 1.0$ ) in the former, and from 1.4 to 6.5 (mean  $3.2 \pm 1.5$ ) in the latter.

We conclude that both soluble and insoluble fiber vary widely among vegetables produced in Chile. This study provides information on the fiber composition of vegetables. Such information may help to choose them according to these variables in order to be used in the prevention or treatment of selected pathologies.

**Key words:** Dietary fiber, insoluble fiber/crude fiber, total dietary fiber/crude fiber, vegetables.

### INTRODUCCION

Actualmente existe un gran interés por conocer el aporte de fibra dietética de los alimentos. Esto se apoya en el gran cúmulo de evidencia a nivel epidemiológico, fisiológico y clínico que relaciona la deficiencia de fibra en la dieta con la mayor frecuencia de ciertas enfermedades como diabetes, arteriosclerosis, obesidad, constipación etc. (1).

La fibra dietética total esta conformada por la suma de la fracción insoluble (celulosa, gran parte de las hemicelulosas y ligninas, y soluble (pectinas, gomas, mucilagos y ciertas hemicelulosas), que presentan en general roles fisiológicos diferentes. La fibra insoluble tiene una mayor ingerencia en aumentar el volumen de las deposiciones y disminuir el tránsito intestinal y la fibra soluble se la relaciona con su

acción sobre el metabolismo de hidratos de carbono y lípidos (2).

La fibra dietética esta presente en los alimentos de origen vegetal: cereales, leguminosas, frutas, verduras, nueces y semillas de oleaginosas. Su contenido y composición varia en los diferentes alimentos, también un mismo alimento puede diferir en su concentración de fibra de acuerdo a su grado de madurez, refinación, tratamiento tecnológico.

En la mayoría de las tablas de composición química de alimentos, los valores de fibra que aparecen corresponde a la fibra cruda que representa los materiales resistentes a la acción de ácidos y álcalis diluidos e hirvientes en condiciones estandarizadas. Con este método se subvalora en forma importante el contenido de fibra insoluble y no mide la fibra soluble (4). Por ello existe un gran interés en conocer el verdadero

tenor de fibra dietética de los alimentos y más aún su desglose en fibra insoluble y soluble; esta información permite evaluar a los alimentos como fuente de las diferentes fracciones de fibra dietética.

Previamente hemos determinado el contenido de fibra dietética total soluble e insoluble en cereales y leguminosas cultivadas, en Chile (5) y de algas marinas comestibles (6), utilizando técnicas enzimático-gravimétricas que reflejarían el aporte total de fibra dietética.

Considerando que las verduras figuran entre los alimentos que son importantes portadores de fibra en la dieta del hombre (7), nos pareció de interés complementar la información sobre el contenido de fibra dietética y de las fracciones soluble e insoluble de las verduras consumidas en Chile.

## MATERIAL Y METODOS

Se obtuvieron 33 diferentes muestras de verduras del comercio y del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Se recolectaron cuatro a cinco unidades o 1/2 kg de cada alimento y se separó la parte comestible de cada una de ellas. Las verduras que se consumen habitualmente cocidas, se las sometió a cocción por ebullición en olla corriente, sacando la cáscara o cáscara y semilla posteriormente, en algunas de ellas. En la Tabla 1 se indica la especie, variedad, procedencia y una descripción de la parte comestible analizada.

Las muestras se homogeneizaron frescas en un omnimixer (Sorvall). Se determinó en cada muestra su contenido de humedad, en duplicado, por calentamiento a estufa de vacío a 70°C hasta peso constante, y la fibra dietética, en triplicado, según la técnica de Asp NG et al (8) con algunas modificaciones, principalmente en relación al medio filtrante (discos de microfibrilla de vidrio Whatman GF/A, tamaño de poro 1,5 µm, con lana de vidrio como ayuda filtrante) (4,9). Los valores de fibra dietética total, soluble e insoluble se expresaron en g/100g peso húmedo, peso seco y por porción (tamaño grande). La estimación del tamaño de la porción de las diferentes verduras analizadas, se obtuvo a partir de la información del Departamento de Nutrición (10).

Se calculó además el porcentaje de fibra soluble e insoluble de la fibra dietética de cada alimento.

Se analizó también la relación fibra total/fibra cruda y fibra insoluble/fibra cruda; para ello se utilizó el valor de fibra cruda de la Tabla Chilena de Alimentos (11).

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de humedad y de fibra dietética insoluble, soluble y total en las verduras, expresados en g/100g en base peso húmedo. La humedad fluctuó entre 63,2 para una variedad de ajo a 96,2 para el pepino. En la fibra dietética total los valores oscilaron entre 0,96 para el tomate (promedio de 3 variedades) a 7,3 para el perejil. Destacó en forma importante por su mayor conteni-

do de fibra insoluble el frijol tierno y el perejil; en fibra soluble la alcachofa es la que presentó el mayor valor (2,61) y el ajo, betarraga, coliflor, perejil y zanahoria mostraron valores entre 1,5 a 1,8. El valor promedio  $\pm$  ds de las 26 verduras analizadas (se estimo un solo valor promedio para las diferentes variedades de una misma verdura) para la fibra total, insoluble y soluble fue de  $3,00 \pm 1,59$ ,  $2,06 \pm 1,26$  y  $0,93 \pm 0,50$  respectivamente.

TABLA 1  
Verduras: Especie, variedad y descripción de la parte comestible analizada

Verduras*	Descripción parte comestible analizada
Acelga ( <i>Beta vulgaris</i> var <i>Cicla</i> )	Hojas cocidas
Ají ( <i>Capsicum annuum</i> var <i>Cristal</i> )	Crudo, sin semillas
Ajo ( <i>Allium sativum</i> var <i>Argentino</i> )	Crudo, sin cáscara
Ajo ( <i>Allium sativum</i> var <i>Español INIA</i> )	Crudo, sin cáscara
Alcachofa ( <i>Cynara scolymus</i> var <i>Chilena</i> )	Flor, fondo, cocida
Alcachofa ( <i>Cynara scolymus</i> var <i>Chilena</i> )	Tallo, parte interior, cocido
Berenjena ( <i>Solanum melongena</i> )	Cocida, sin cáscara y semillas
Betarraga ( <i>Beta vulgaris</i> var <i>Rapaceae</i> )	Cocida, sin cáscara
Camote ( <i>Ipomea batata</i> )	Cocido, sin cáscara
Champiñón ( <i>Agaricus arvensis</i> )	Frescos, crudos
Coliflor ( <i>Brassica oleracea</i> var <i>Bola de nieve</i> )	Cocida
Choclo ( <i>Zea maiz</i> var <i>Monarca</i> )	Grano tierno cocido
Espárrago ( <i>Asparagus officinalis</i> var <i>Blanca</i> )	Tallo, brote tierno, cocido
Frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> var <i>Coscorron granado INIA</i> )	Semilla tierna, cocida
Frijol verde ( <i>Phaseolus vulgaris</i> var <i>Apolo</i> )	Vaina tierna, cocida
Frijol verde ( <i>Phaseolus vulgaris</i> var <i>Choshuenco</i> )	Vaina tierna, cocida
Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var <i>Escarola</i> )	Cruda
Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var <i>Francesa</i> )	Cruda
Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var <i>Milanese</i> )	Cruda
Papa ( <i>Solanum tuberosum</i> var <i>Desire</i> )	Cocidas, sin cáscara
Papa ( <i>Solanum tuberosum</i> var <i>Fueguina</i> )	Cocidas, sin cáscara
Pepino ( <i>Cucumis sativus</i> var <i>Marketer</i> )	Crudo, sin cáscara
Perejil ( <i>Petroselinum crispum</i> )	Hojas crudas
Pimentón ( <i>Capsicum annum</i> var <i>Tetra</i> )	Crudo, sin semillas
Rábano ( <i>Raphanus sativus</i> )	Crudo, sin cáscara
Repollo ( <i>Brassica oleraceae</i> var <i>corazón de buey</i> )	Crudo
Tomate ( <i>Lycopersicum esculentum</i> var <i>Cal-ace</i> )	Crudo, con cáscara
Tomate ( <i>Lycopersicum esculentum</i> var <i>Línea Platina</i> )	Crudo, con cáscara
Zanahoria ( <i>Daucus carota</i> var <i>Chantenay</i> )	Cocida, sin cáscara
Zapallo ( <i>Cucurbita pepo</i> var <i>Camote</i> )	Cocido, sin cáscara y semillas
Zapallito italiano ( <i>Cucurbita moschata</i> var <i>negra</i> )	Cocido, sin cáscara y semillas

\* Procedencia del comercio, excepto ají, ajo, cebolla, choclo, frijol (semilla y vaina), papa, tomate y zapallo, obtenidos del Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA.

TABLA 2  
Contenido de fibra dietética de verduras  
g/100g

Verduras	Humedad	Fibra dietética*		Total
		Insoluble	Soluble	
Acelga*	93,84	2,30 ± 0,30	0,82 ± 0,10	3,12 ± 0,24
AjÍ	89,50	2,70 ± 0,04	1,11 ± 0,04	3,81 ± 0,04
Ajo argentino	63,20	1,20 ± 0,09	1,63 ± 0,24	2,83 ± 0,25
Ajo español	64,41	1,33 ± 0,02	1,61 ± 0,14	2,94 ± 0,16
Alcachofa*	88,67	2,55 ± 0,25	2,61 ± 0,13	5,16 ± 0,15
Alcachofa tallos*	91,82	2,17 ± 0,06	1,07 ± 0,11	3,24 ± 0,16
Berenjena*	93,65	0,89 ± 0,02	0,41 ± 0,01	1,30 ± 0,03
Betarraga*	90,83	1,47 ± 0,07	1,49 ± 0,05	2,96 ± 0,03
Camote*	70,41	1,50 ± 0,06	0,94 ± 0,03	2,44 ± 0,08
Cebolla	93,54	1,35 ± 0,13	0,24 ± 0,06	1,59 ± 0,19
Champiñón	92,24	1,47 ± 0,08	0,30 ± 0,16	1,77 ± 0,17
Choclo*	72,21	3,06 ± 0,15	0,39 ± 0,06	3,45 ± 0,20
Coliflor*	92,13	2,05 ± 0,12	1,64 ± 0,06	3,69 ± 0,07
Espárrago*	91,98	1,90 ± 0,16	0,78 ± 0,12	2,68 ± 0,13
Frijol Granado*	69,49	5,90 ± 0,11	1,18 ± 0,25	7,08 ± 0,20
Frijol verde Apolo*	90,30	2,52 ± 0,11	1,18 ± 0,07	3,70 ± 0,18
Frijol verde Choshuenco*	92,33	2,27 ± 0,16	0,86 ± 0,05	3,13 ± 0,27
Lechuga Escarola	95,15	1,08 ± 0,10	0,41 ± 0,07	1,49 ± 0,13
Lechuga Francesa	94,11	1,70 ± 0,25	0,52 ± 0,02	2,22 ± 0,25
Lechuga Milanesa	94,56	1,25 ± 0,01	0,56 ± 0,06	1,81 ± 0,03
Papa Desire*	77,89	1,47 ± 0,02	0,73 ± 0,12	2,20 ± 0,10
Papa Fueguina*	75,19	1,53 ± 0,03	0,55 ± 0,12	2,08 ± 0,15
Pepino	96,21	0,51 ± 0,03	0,51 ± 0,04	1,02 ± 0,08
Perejil	82,47	5,51 ± 0,04	1,75 ± 0,14	7,26 ± 0,11
Pimentón	93,36	1,98 ± 0,21	0,74 ± 0,03	2,72 ± 0,17
Rábano	93,77	1,11 ± 0,10	0,50 ± 0,02	1,61 ± 0,10
Repollo	92,19	2,12 ± 0,15	0,60 ± 0,02	2,72 ± 0,16
Tomate Cal-ace	92,80	0,78 ± 0,03	0,14 ± 0,05	0,92 ± 0,04
Tomate Línea Platina	93,35	0,69 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,84 ± 0,03
Tomate Industrial	94,40	0,84 ± 0,06	0,27 ± 0,04	1,11 ± 0,02
Zanahoria*	89,96	2,19 ± 0,19	1,75 ± 0,24	3,94 ± 0,08
Zapallo*	91,64	2,70 ± 0,30	0,88 ± 0,09	3,58 ± 0,37
Zapallito italiano*	94,45	0,93 ± 0,06	0,64 ± 0,07	1,57 ± 0,07

\* Cocidos

+ Promedio ± DS

En la Tabla 3 se indica los valores de fibra dietética expresados en g/100g peso seco y el porcentaje de fibra insoluble y soluble en relación a la fibra dietética total. Los valores de fibra dietética fluctuaron entre 8,0 para el ajo (promedio de 2 var) a 50,6 para la acelga, con un promedio de 30,1 ± 12,5. Una aproximada igualdad en las proporciones de fibra soluble e insoluble la presentaron alimentos como ajo, alcachofa, betarraga, coliflor pepino y zanahoria, en el resto de los alimentos predomina la fibra insoluble en proporciones variables con un máximo de 88,7 % en el choclo. El promedio del porcentaje de la fracción insoluble y soluble de las 26 verduras analizadas, alcanzó un valor de 68,5 ± 12,1 y 31,5 ± 12,1 respectivamente.

Una adecuada comparación de nuestros valores con los obtenidos por otros investigadores, se ve dificultada por las diferentes técnicas utilizadas en los distintos estudios (12-25). La composición de la fibra soluble e insoluble varía también dependiendo del método de análisis empleado (26).

Habría que añadir además otros factores que pueden afectar el contenido de fibra de las verduras, como el grado de

madurez, la variedad botánica que muy pocas veces se especifica la parte comestible analizada que puede diferir para un mismo alimento, de acuerdo a los hábitos en determinadas regiones y que en general no se señala claramente, el contenido de humedad del alimento y diferentes procesos culinarios que pueden modificar su aporte de fibra (26,27).

TABLA 3  
Fibra dietética en verduras (g/100g peso seco) y porcentaje de fibra insoluble y soluble

Verduras	Fibra dietética g/100g peso seco	Fibra	Fibra
		insoluble %	soluble %
Acelga*	50,6	73,7	26,3
AjÍ	36,3	70,9	29,1
Ajo Argentino	7,7	42,4	57,6
Ajo Español	8,3	45,2	54,8
Alcachofa*	45,5	49,4	50,6
Alcachofa Tallo*	39,6	67,0	33,0
Berenjena*	20,5	68,5	31,5
Betarraga*	32,3	49,7	50,3
Camote*	8,2	61,5	38,5
Cebolla	24,6	84,9	15,1
Champiñón	22,8	83,1	16,9
Choclo*	12,4	88,7	11,3
Coliflor*	46,9	55,6	44,4
Espárrago*	33,4	70,9	29,1
Frijol granado*	23,2	83,3	16,7
Frijol verde Apolo*	38,1	68,1	31,9
Frijol verde Choshuenco*	40,8	72,5	27,5
Lechuga Escarola	30,7	72,5	27,5
Lechuga Francesa	37,7	76,6	23,4
Lechuga Milanesa	33,3	69,1	30,9
Papa Desire*	10,0	66,8	33,2
Papa Fueguina*	8,4	73,6	26,4
Pepino	26,9	50,0	50,0
Perejil	41,4	75,9	24,1
Pimentón	41,0	72,8	27,2
Rábano	25,8	68,9	31,1
Repollo	34,8	77,9	22,1
Tomate Cal-ace	12,8	84,8	15,2
Tomate Línea Platina	12,6	82,1	17,9
Tomate Industrial	19,8	75,7	24,3
Zanahoria*	39,2	55,6	44,4
Zapallo*	42,8	75,4	24,6
Zapallito italiano*	28,3	59,2	40,8

\* Cocidos

En este último aspecto, los cambios en la fibra dietética pueden ser cualitativos o cuantitativos. Esto es, puede haber una reducción o un aumento de fibra dietética, o sin alterar el contenido de fibra, cambia su composición (28). Así, el descascarado de algunas verduras puede traer una reducción considerable, así como un cambio en la composición de la

fibra. La mayoría de las verduras son tratadas por calor antes de consumirse. En el procesamiento, los enlaces glicosídicos de los polisacáridos pueden romperse causando solubilización de la fibra insoluble, así como una degradación de la fibra ya soluble a fragmentos más pequeños. También puede haber pérdida de fibra soluble por lixiviación al agua de cocción. Por otro lado, el aumento aparente de fibra dietética después de la cocción puede deberse tan sólo a pérdida de los componentes que no son fibra, según lo informado por Nyman et al en zanahorias cocidas (29). Durante ciertos procedimientos térmicos, se forman productos de Maillard, que a menudo se estiman como fracción insoluble. La presencia de otros productos de interacción como amilosa-lípidos o la formación de almidón resistente, puede causar un aumento en la fibra dietética total. Todos estos cambios hacen muy difícil generalizar el efecto del procesamiento en la fibra dietética de los alimentos.

En forma global, los valores más concordantes con nuestros datos de fibra, son los que emplean los métodos enzimático gravimétricos.

En la Tabla 4 se informa el contenido de fibra dietética total, insoluble y soluble en verduras según la porción comestible habitual, considerando un tamaño grande. Se omite en este cálculo aquellos alimentos que se consumen en pequeña cantidad como el ajo. Aportan sobre 3 g de fibra dietética total, la acelga, alcachofa, betarraga, camote, coliflor, choclo, espárrago, frijol granado y en vaina, papas, zanahorias y zapallo. En fibra insoluble sobresale el frijol granado con 8,9 g y en fibra soluble la alcachofa y coliflor con 2,6 y 2,5 g respectivamente. El promedio de fibra total, insoluble y soluble fue de  $3,7 \pm 2,2$ ,  $2,6 \pm 1,8$  y  $1,1 \pm 0,7$  respectivamente.

Al estimar la relación fibra insoluble/fibra cruda y fibra dietética total/fibra cruda en 29 verduras en que se tenían valores de fibra cruda, no se encontró una relación constante en ambos casos, fluctuando los valores entre 1,1 a 4,5 promedio  $2,2 \pm 1,0$  y 1,4 a 6,5 promedio  $3,2 \pm 1,5$  respectivamente. Estas estimaciones corroboran una vez más la imposibilidad de extrapolar los valores de fibra dietética o de fibra insoluble a partir de los datos de fibra cruda (3,5, 15).

Los resultados analizados permiten concluir que existe una gran variación en los aportes de fibra soluble e insoluble en las verduras, lo que demanda el conocimiento de la composición de cada alimento en la forma que usualmente es consumida.

Dada la incidencia que tiene el consumo de los diferentes componentes de la fibra en la prevención y/o tratamiento de determinadas patologías, la información del presente trabajo contribuye a valorar en su real dimensión, como fuente de fibra soluble e insoluble a los diferentes tipos de alimentos que se incluyen en el rubro verduras.

TABLA 4  
Contenido de fibra dietética en verduras según porción comestible

Verduras	Porción comestible+ g	Fibra dietética g/porción		Total
		Insoluble	Soluble	
Acelga*	150	3,5	1,2	4,7
Alcachofa*	100	2,6	2,6	5,2
Berenjena*	150	1,3	0,6	1,9
Betarraga*	120	1,8	1,8	3,6
Camote*	200	3,0	1,9	4,9
Cebolla	100	1,4	0,2	1,6
Champiñón	150	2,2	0,5	2,7
Choclo*	160	4,9	0,6	5,5
Coliflor*	150	3,1	2,5	5,6
Espárrago*	150	2,9	1,2	4,1
Frijol granado *	150	8,9	1,8	10,7
Frijol verde* (prom 2 var)	150	3,6	1,6	5,2
Lechuga (prom 3 var)	80	1,1	0,4	1,5
Papa* (prom 2 var)	200	3,0	1,3	4,3
Pepino	100	0,5	0,5	1,0
Rábano	60	0,7	0,3	1,0
Repollo	100	2,1	0,6	2,7
Tomate (prom 3 var)	200	1,6	0,4	2,0
Zanahoria*	100	2,2	1,8	4,0
Zapallo*	100	2,7	0,9	3,6
Zapallito italiano*	150	1,4	1,0	2,4

\* Cocidos

+ Tamaño grande

## REFERENCIAS

1. Pilch SM. Physiological Effects and Health Consequences of Dietary Fiber. Bethesda, Md: Life Sciences Research Office. Federation of American Societies for Experimental Biology, 1987.
2. Council on Scientific Affairs. Dietary fiber and health JAMA 1989; 262: 542-546.
3. Slavin JL. Dietary fiber: Classification, chemical analysis, and food sources. J Am Diet Assoc 1987; 87:1164-1171.
4. Pak N. Análisis de fibra dietética. En Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Moron C, Zacarias I, De Pablo S, (eds). Organización, de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Dirección de Alimentación y Nutrición Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Santiago Chile, 1977:177-188.
5. Pak N, Ayala C, Vera G, Pennacchiotti I, Araya H. Fibra dietética soluble e insoluble en cereales y leguminosas cultivadas en Chile. Arch Latinoamer Nutr 1990;40: 116-125.
6. Pak N, Araya H. Valor nutritivo y aportes de fibra dietética (soluble e insoluble) de macroalgas marinas comestibles de Chile, crudas y cocidas. Alimentos 1996;21: 63-69.

7. Global Trends in Production and Consumption of Carbohydrates Foods. In Carbohydrates in human nutrition. FAO Food and Nutrition Paper 68 Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation Rome, 14-18 April 1997, pp 55-65, Rome 1998.
8. Asp NG, Johansson CG, Siljestrom MA. A rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J Agric Food Chem* 1983; 31:476-482.
9. Pak N, Ayala C, Vera G, Pennacchiotti I, Araya H. A rapid and simultaneous determination of soluble and insoluble dietary fiber. *Nutr Rep Int* 1989;40: 551-565.
10. Tabla de medidas caseras y su equivalencia al sistema métrico. Departamento de Nutrición Facultad de Medicina, Universidad de Chile Pdoc3.93 y 4.93.
11. Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de ciencias de los alimentos y tecnología química, Universidad de Chile. Santiago Chile 1990.
12. Anderson JW, Bridges SR. Dietary fiber content of selected foods. *Am J Clin Nutr* 1988;47:440-447.
13. Herranz J, Vidal - Valverde C, Rojas-Hidalgo E. Cellulose, hemicellulose and lignin content of raw and cooked processed vegetables. *J Food Sci* 1983;48: 274-275.
14. Herranz I, Vidal-Valverde C, Rojas-Hidalgo E. Cellulose, hemilcellulose and lignin content of raw and cooked spanish vegetables. *J Food Sci* 1981;46: 1927-1933.
15. Laza EL. A critical review of food fiber analysis and data. *J Am Diet Assoc* 1986;86:732-740.
16. Rani B, Kawatra A. Fibre constituents of some food. *Plant Foods for Human Nutrition* 1994;45: 343-347.
17. Marlett JA. Content and composition of dietary fiber en 117 frequently consumed foods. *J Am Diet Assoc* 1992;92:175-186.
18. Robertson J. Dry matter, ash, crude protein, total dietary fiber, soluble fiber, neutral detergent residue, hemicellulose, cellulose and lignin content of selected foods. In: Spiller G A, ed. *CRC Handbook of dietary fiber in human nutrition* 2nd Edition. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida, 1993:595-605.
19. Schakel SF, Sievert I A, Buzzard I M. Dietary fiber values for common foods In: Spiller G A, ed. *CRC Handbook of dietary fiber in human nutrition* 2nd Edition. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida 1993:567-93.
20. Mc Cance and Widdowson's. The composition of foods. Fifth Edition. Royal Society of Chemistry. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. UK 1992.
21. Hands ES. Food Finder. Food sources of vitamins & minerals Second edition ESHA Research. PO Box 13028, Salem, Oregon 93309, USA, 1990.
22. Provisional table on the dietary fiber content of selected foods. United States Department of Agriculture, Human Nutrition Information Service, HNIS/PT-106. Nutrient Data Research Branch, Nutrition Monitoring Division, September 1988 In: Mahan K L, Arlin M T editors. *Krause's Food Nutrition & Diet Therapy* 8th Edition. W B Saunders Company 1992:775-77.
23. Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México Comisión Nacional de Alimentación Instituto nacional de la Nutrición Salvador Zubiran Segunda Edición Revisado 1992. Méexico DF, Noviembre de 1992.
24. Herrera I, Romero J, Chávez J.F. Fibra dietética insoluble y soluble en vegetales venezolanos. XI Congreso Resumen de trabajo libres CM-048 XI Congreso Sociedad Latinoamericana de Nutrición Dr. Abraham Horwitz Guatemala, Noviembre 9-15, 1997.
25. Acevedo E, Bressani R. Contenido de fibra dietética y digestibilidad del nitrógeno en alimentos centroamericanos. *Arch Latinoamer Nutr* 1990;40:439-451.
26. Marlett JA, Chesters JG, Longacre MJ, Bogdanske JJ. Recovery of soluble dietary fiber is dependent on the method of analyses. *Am J Clin Nutr* 1989;50:479-485.
27. Carnovale E, Lintas C. Dietary fibre: effect of processing and nutrient interactions. *Eur J Clin Nutr* 1995;49 Suppl 3:S5307-S311.
28. Nyman M. Effect of processing on dietary fibre in vegetables. *Eur J Clin Nutr* 1995, 49, Suppl 3: S215-S218.
29. Nyman M, Palsson KE, Asp NG. Effect of processing on dietary fiber in vegetables. *Lebison. Wiss. u Thecnol* 1987;20: 29-36.

Recibido: 08-07-1999

Aceptado: 29-11-1999

## Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil - *Pleurotus* spp e outras espécies desidratadas

Gilma Lucazechi Sturion & Marcia Regina T. de Camargo Ranzani

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz- Universidade de São Paulo, Brasil

**RESUMO.** Os macrofungos podem acumular certos minerais, inclusive os metais tóxicos se presentes no substrato. Recomenda-se o monitoramento periódico desses elementos nos cogumelos comestíveis quando as condições de cultivo forem alteradas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o conteúdo em minerais de *Pleurotus* spp (hiratake e shimeji) e, de cogumelos secos importados (chileno e italiano).

Os corpos de frutificação de *Pleurotus* spp foram obtidos frescos de cultivadores e os cogumelos secos adquiridos no comércio. As amostras foram secas, moídas e digeridas por CIH-NO<sub>3</sub>H. O conteúdo de P, K, S, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Na e B foram analisados por ICP-AES e o de Al, Cd, Cr, Pb, Co e Ni por ICP-OES. Os resultados classificam tais cogumelos como fonte de potássio e cobre; *Pleurotus* spp são também fonte de fósforo (P<0,05); o chileno apresentou alto teor de ferro (P < 0,05). Todos os cogumelos avaliados foram identificados como alimento sem sódio (< 5 mg Na/100 g). Sendo fonte de K sem Na, atendem às necessidades dos pacientes hipertensos e/ou com problemas cardíacos como um alimento e/ou condimento no realce do flavor. Estudos subsequentes devem incluir maior amostragem e uma avaliação dos metais tóxicos Pb e Cr, com métodos de análise mais acurados, assim como a de Hg (não avaliado nesse estudo), principalmente em cogumelos silvestres, comercializados secos.

**Palavras-chave:** Minerais, metais tóxicos, *Pleurotus* spp frescos, hiratake, shimeji, cogumelos desidratados.

**SUMMARY.** Mineral composition of edible mushrooms cultivated in Brazil - *Pleurotus* spp and other dehydrated species.

Macrofungi can accumulate some minerals, including toxic metals if present in the substrate. A periodic monitoring of these elements in mushrooms is recommended when the conditions of cultivation are altered. The aim of this work was to evaluate the mineral content of *Pleurotus* spp (hiratake and shimeji) and of imported (chilean and italian) dehydrated mushrooms. Fresh fruiting bodies of *Pleurotus* spp were obtained from cultivators and dehydrated mushrooms were bought in a market. The samples were dried, milled and digested by CIH-NO<sub>3</sub>H. The content of P, K, S, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Na and B were analyzed by ICP-AES and Al, Cd, Cr, Pb, Co, Ni by ICP-OES. The results classify these mushrooms as a source of potassium and copper: *Pleurotus* spp are also a source of phosphorus (P<0.05); the chilean mushrooms present high content of iron (P<0.05). All the evaluated mushrooms were identified as a food without sodium (< 5 mg Na/100 g). So these mushrooms being a source of potassium without Na, answer the needs of hypertension and/or heart diseases patients as a food and/or like a condiment for flavor enhancement. Subsequent studies should include major sampling and the evaluation of the toxic metals, Pb and Cr, employing more accurate methods of analysis, as well as the evaluation of Hg (not analysed in this study), mainly in wild mushrooms, commercialized dehydrated.

**Key words:** Minerals, toxic metals, fresh *Pleurotus* spp, hiratake, shimeji, dehydrated mushrooms

### INTRODUÇÃO

O aumento da produção mundial de cogumelos comestíveis, especialmente do gênero *Pleurotus*, de aproximadamente 442,6% de 1986 a 1991 segundo Chang (1), faz com que esses adquiram maior importância quanto ao seu papel na nutrição humana. Atualmente ocupam o 2º lugar na produção mundial (2) graças a sua capacidade em colonizar inúmeros resíduos agroindustriais, uma característica que viabilizou economicamente essa produção e, ao mesmo tempo, contribuiu com a melhoria da qualidade do meio ambiente (3).

A adaptação das espécies/linhagens de *Pleurotus* a novos resíduos suscita maiores conhecimentos sobre sua composição química pois está diretamente relacionada à composição do substrato, principalmente quanto à variação ocasionada no teor e qualidade proteica e na presença e quantidade de

minerais desses cogumelos (4-7).

Existe na literatura, segundo Vetter (8), poucas informações a respeito dos componentes minerais de cogumelos cultivados sendo a maioria dessas relacionadas a cogumelos comestíveis silvestres. Tais estudos constataram que os macrofungos têm capacidade de acumular certos minerais entre os quais os metais tóxicos tais como o cádmio, o chumbo e o mercúrio, quando presentes no substrato (9-14).

Consequente a essa constatação várias pesquisas vêm sendo realizadas, nos países tradicionalmente consumidores de cogumelos. Entre os enfoques principais dessas estão a identificação das espécies de fungos bioacumuladores/coletores de metais pesados (15-18), a determinação do efeito da suplementação mineral na concentração de minerais em cogumelos (19) e, a avaliação da concentração de metais pesados no substrato e a translocação desses para os corpos de

frutificação (5,7,20-23). Essa capacidade de bioconcentração de metais pesados preocupa os pesquisadores que têm sugerido o monitoramento periódico dos metais pesados nos cogumelos comestíveis quando as condições de cultivo forem alteradas (6,9,21).

Uma preocupação, levantada por Favero et alii (7) e Jain et alii (21), relaciona-se ao cultivo de *Pleurotus* spp. pois esses cogumelos representam atualmente um dos principais processos de bioconversão de resíduos agroindustriais em produtos comestíveis de alta qualidade; além disso, esses cogumelos são produzidos o ano todo. Tais situações enfatizam portanto o risco ligado ao consumo dessas espécies comparado aos cogumelos silvestres onde o consumo é sazonal. Um outro fator considerado é que os cogumelos são apenas um item da dieta, portanto concentrações próximas aos limites máximos tolerados devem ser questionadas.

No Brasil tem-se observado um aumento na produção e consumo de cogumelos nos últimos 6 anos de acordo com a Casa da Agricultura de Mogi das Cruzes <sup>(1)</sup>. A esse respeito deve-se acrescentar um aumento na importação de cogumelos secos, onde podem estar presentes espécies cultivadas e silvestres, tanto do gênero *Pleurotus* quanto de outros capazes de acumular uma quantidade de metais pesados muito maior (17). Esses cogumelos secos vêm sendo comercializados a granel sob nomes genéricos de cogumelos chileno, italiano, etc., e os dados disponíveis da ABIA <sup>(2)</sup> não especificam quais tipos de cogumelos são importados. Informações oficiais relacionam o cogumelo chileno como sendo *Bolletus luteus*, um cogumelo silvestre.

O objetivo desse trabalho foi, portanto, levantar dados sobre o conteúdo em minerais de cogumelos, mais especificamente nas espécies/linhagens do gênero *Pleurotus*. Tais dados estarão subsidiando a necessidade de uma avaliação desse cogumelo cultivado no Brasil em bagaço de cana de açúcar misturado e/ou suplementado com outros resíduos (2,24,25). Como o conteúdo em minerais está relacionado às condições de cultivo, principalmente com o substrato utilizado e linhagem, uma avaliação das espécies/linhagens de *Pleurotus* cultivadas, chamadas comercialmente de hiratake e shiimeji, quanto à presença, teor e potencialidade nutricional e tóxica dos metais presentes, pode fornecer subsídios para um melhor controle de qualidade dos mesmos nas nossas condições de cultivo. Além das espécies/linhagens de *Pleurotus* foram avaliados cogumelos secos, importados e comercializados a granel sob os nomes genéricos de chileno e italiano pois, provavelmente, estes sejam cogumelos silvestres e, portanto, sujeitos à contaminação por metais pesados se presentes no ambiente de origem.

## MATERIAL E METODOS

### Coleta de amostras

Os corpos de frutificação de *Pleurotus* spp. foram obtidos frescos de cultivadores de hiratake e shimeji, os cogumelos secos foram obtidos diretamente do comércio e, receberam código conforme Tabela I. Estes foram levados à pré-secagem a  $6\pm 5^\circ\text{C}/12$  horas e secagem definitiva a  $100\pm 5^\circ\text{C}/4$  horas em estufa de circulação forçada (26). Foram considerados os corpos de frutificação parcialmente íntegros - chapéu e parte da estipe, tendo sido retirada apenas o final desta que fica em contato com o substrato. Após a secagem as amostras foram finamente moídas para utilização nas análises de minerais. As amostras de cogumelos secos foram obtidas no comércio de Piracicaba e levadas diretamente à secagem definitiva.

TABELA I  
Matéria seca (%) das amostras de cogumelos

Amostras	Espécies/Cogumelos	Matéria seca (%)
P.01	<i>Pleurotus</i> sp. (shimeji)	15,40
P.02	<i>Pleurotus</i> sp. (hiratake)	8,57
P.03	<i>Pleurotus</i> sp. (hiratake, branco)	9,73
P.04	<i>P. ostreatoroseus</i> (hiratake, rosa)	11,38
P.05	<i>Pleurotus</i> sp. (hiratake, branco)	8,12
P.06	<i>Pleurotus</i> sp. (hiratake, rosa)	8,48
P.07	<i>Pleurotus</i> sp. (shimeji)	10,27
Média de <i>Pleurotus</i> spp frescos		10,28
P.08	Cogumelo italiano (seco)	89,50
P.09	Cogumelo chileno (seco)	90,80
Média de cogumelos secos		90,15

### Análise de minerais

As amostras secas foram solubilizadas/mineralizadas por digestão nitroperclórica, em sistema aberto. Os macrominerais (P, K, S, Ca e Mg) e microminerais (Cu, Fe, Mn, Zn, Na e B) foram analisados por espectrometria de emissão atômica indutivamente ligada ao plasma de argônio (ICP-AES) e, os minerais alumínio, cádmio, cromo total, chumbo, cobalto e níquel foram analisados por espectrometria de emissão atômica (ICP-OES) empregando-se os equipamentos Model 975 ATOMCOMP (Jarrel - Ash) e Optima DV 3000 (Perkin-Elmer) respectivamente, do Setor de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear da Universidade de São Paulo, Campus - Piracicaba, São Paulo.

### Análise estatística

Os valores obtidos foram analisados empregando-se o Sistema de Análise Estatística-SANEST (27). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado; para diferenças entre médias observadas pela análise de variância e teste F aplicou-se o Teste de Tukey (28).

1. Casa da Agricultura de Mogi das Cruzes, S.P., 19 de abril de 1996 (comunicação pessoal)
2. Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação - ABIA, 07 de agosto de 1996 (comunicação pessoal)

## RESULTADOS

O teor médio de matéria seca das espécies de *Pleurotus* spp avaliadas foi de 10,28 % (Tabela 1). Nas Tabelas 2 e 3 encontram-se os resultados dos macro e micro minerais presentes. Dos metais tóxicos foram avaliados os teores de cádmio, chumbo, níquel, cromo e cobalto (Tabela 4).

TABELA 2

Macrominerais (g/100g em peso seco)\* presentes em cogumelos *Pleurotus* spp., chileno e italiano

Amostras	P	K	S	Ca	Mg
P.01	1,59b	3,09bcd	0,32ab	<0,01b	0,22b
P.02	1,32d	3,00cd	0,30b	<0,01b	0,20b
P.03	1,12e	3,07bcd	0,30b	<0,01b	0,17e
P.04	1,27d	3,65a	0,39a	<0,01b	0,18de
P.05	1,46c	3,35abc	0,30b	<0,01b	0,20bc
P.06	1,40c	3,78a	0,35ab	<0,01b	0,19cd
P.07	1,70a	3,08bcd	0,39a	0,01b	0,23a
Média <i>Pleurotus</i> spp	1,40	3,28	0,335	-	0,19
P.08	1,17e	3,56ab	0,29b	0,02a	0,12f
P.09	0,53f	2,71d	0,17c	0,02a	0,10g

\*Os resultados são médias de três repetições; valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo Teste de Tukey

Coefficientes de variação para observações não transformados = P (1,834%) ; K (5,312%) ; S (9,643%) ; Mg (2,635%)

Coefficientes de variação para observações transformadas segundo Raiz (x) + Raiz (x+0) = Ca (7,967%)

TABELA 3

Microminerais (mg/kg,p.s)\* presentes em cogumelos *Pleurotus* spp., chileno e italiano

Amostras	Cu	Fe	Mn	Zn	Na	Al	B
P.01	27,29b	131,00cd	14b	104,33b	52e	< 10e	< 5,0b
P.02	24,03c	119,33cd	12c	91,00bc	163b	< 10e	< 5,0b
P.03	20,06d	134,00bcd	11c	108,66b	183b	48d	5,59b
P.04	27,53b	160,33bc	11c	195,00a	95cd	<10e	15,22a
P.05	18,90d	114,00cd	12c	104,00b	71de	< 10e	< 5,0b
P.06	26,66bc	188,66b	12c	175,00a	106c	69c	11,61a
P.07	26,50bc	106,66cd	15b	114,33b	66de	56cd	5,59b
Média	24,42	136,28	12,42	127,47	105,14	-	-
P.08	55,83a	82,00d	6,0d	66,00c	380a	139b	< 5,0b
P.09	14,40e	598,00a	22a	92,33bc	119c	650a	< 5,0b

\*Os resultados são expressos na matéria seca e são médias de três repetições; valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo Teste de Tukey

Coefficientes de variação para observações não transformados = Cu (4,041%) ; Fe (10,578%) ; Mn (4,260%) ; Zn (7,915%) ; Na (8,121%)

Coefficientes de variação para observações transformadas: segundo Raiz ( $\bar{x}$ ) + Raiz (x+0) = Al (5,411%) ; segundo Raiz (x+0) = B (11,621%)

TABELA 4

Teores em mg/kg em peso fresco de Cd, Pb, Cu, Zn, Cr, Ni encontrados nos cogumelos avaliados e comparação entre os limites máximos permitidos de contaminantes inorgânicos em alimentos

Minerais	Decreto n° 55871*	Cogumelos avaliados (limite de detecção)†
Cd	1,00	< 0,1095
Pb	0,80	< 1,64
Cu	30,00	2,43
Hg	0,01	n.d.‡
Zn	50,00	12,7
Cr	0,10	< 0,1245-0,1566§
Ni	5,00	< 0,234
Se	0,30	n.d.
As	1,00	n.d.

\*Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos (31); † limite de detecção do método/equipamento adotado na avaliação dos cogumelos; ‡ n.d. = não determinado; § *Pleurotus* spp. e cogumelo italiano < 0,1245 e cogumelo chileno = 0,1566

## DISCUSSÃO

A discussão que se segue avaliou os resultados quanto à possibilidade desses cogumelos serem considerados fontes de minerais. De acordo com a Portaria n° 27 (29) para que um alimento possa ser considerado fonte de um dado mineral esse deve estar presente e contemplar no mínimo 15% da RDA(1989) <sup>(3)</sup> (ingesta diária recomendável) para tal elemento; valores acima de 30% da RDA indicam que o alimento apresenta teores altos. Os dados de alguns minerais foram convertidos em peso úmido para viabilizar a comparação com a RDA. No julgamento quanto à toxidez e /ou contaminação foram empregados os valores estabelecidos pela OMS (30) e /ou Decreto n° 55871 (31), respectivamente. Para os elementos onde a RDA ainda não foi estabelecida considerou-se a ESADDI (ingestão dietética diária considerada segura e adequada) citada por Czajka-Narins (32).

De acordo com Chang & Miles (33) os cogumelos em geral são boa fonte de minerais. Estes são absorvidos do substrato pelo micélio em crescimento e translocados para os corpos de frutificação.

O K aparece como o maior componente de minerais confirmando os dados da literatura (15). Os cogumelos *Pleurotus* spp. avaliados apresentaram em média 3,28g/100g em peso seco de K, ou seja, 328 mg/100 g de cogumelo fresco, o que corresponde a 16,4% da RDA, que é de 2000 mg. Assim, esses cogumelos são fonte desse mineral mesmo consideran-

3. Recommended Dietary Allowances. 10th Edition. Washington:National Academy Press, 1989.

do que existe variações entre eles estatisticamente significativas (Tabela 2). O maior teor em K foi encontrado nos cogumelos *Pleurotus* sp. de coloração rosa ( $P < 0,05$ ).

O P aparece como segundo elemento mineral, o que também está pertinente com os dados encontrados na literatura (5,8,15, 16, 24); nas amostras avaliadas o teor médio foi de 1,41g/100g em peso seco, ou seja, 141 mg/100 g de cogumelo fresco nas espécies de *Pleurotus* e, em teor significativamente menor no cogumelo chileno (53 mg/100 g de peso fresco). A RDA para o P é de 800 mg - as espécies de *Pleurotus* avaliadas nesse trabalho cobrem cerca de 17,65% das necessidades diárias, portanto também são fonte de P, embora entre elas haja diferenças significativas tendo sido encontrados os maiores teores naqueles chamados shimeji ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2).

O S ocorreu como terceiro elemento, contrariando os dados da literatura onde o Mg é o terceiro elemento mineral majoritário (5, 8, 15, 16, 24). As amostras de *Pleurotus* avaliadas apresentaram teores médios de 0,335g/100g em peso seco, ou seja, 33,5 mg/100 g de cogumelos frescos. As amostras dos cogumelos chamados shimeji e *Pleurotus* rosa apresentaram os maiores teores e o cogumelo chileno o menor teor ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2).

Com relação ao Mg, os maiores teores ocorreram nas espécies de *Pleurotus* chamadas shimeji. Entre os *Pleurotus* avaliados a média de Mg foi de 0,19g/100g em peso seco - valor que corresponde a 19 mg/100 g de cogumelos frescos. Esse teor médio é correspondente a 5,95% do RDA que foi estabelecida entre 270 a 300 mg, portanto esses cogumelos não são fonte desse mineral. Teores significativamente menores foram encontrados nas amostras de cogumelos chileno e italiano (Tabela 2). Esses valores encontrados estão em desacordo com aqueles encontrados por Seeger e Beckert (34) que ao estudarem o teor de Mg de 402 espécies de cogumelos silvestres observaram que este variou entre 3,9 a 46,40 mg/100g em peso fresco e que cerca de 75% das amostras continham de 8 a 18 mg/100g em peso fresco, valores estes na mesma ordem de magnitude que o presente em vegetais. Observaram também que o teor de Mg mostrou-se dependente da espécie e gênero mas, igualou-se ao conteúdo presente no solo ou foi menor. Nenhuma diferença foi encontrada entre o teor de magnésio de corpos de frutificação jovens ou velhos.

O teor de Ca entre as amostras de *Pleurotus* apresentou-se menor ou igual a 0,01g/100g em peso seco, e nos cogumelos chileno e italiano foi igual a 0,02g/100g em peso seco, diferença significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 2). Comparado a outros macro minerais é característico das espécies de *Pleurotus* e outros macrofungos apresentarem esse elemento em baixas concentrações (6,33).

A quantidade de Na encontrada nos cogumelos *Pleurotus* apresentou variação significativa de 52 a 380 mg/kg em peso seco ou 0,52 a 3,8mg/100g em peso fresco; o maior teor foi encontrado no cogumelo italiano e os menores teores naqueles chamados shimeji ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). Na literatura os valores de Na variaram de 85,8 a 780 mg/kg em peso seco ou

0,85 a 7,8 mg/100g em peso fresco em *Pleurotus* spp. cultivados em resíduos lignocelulósicos (5,8,16); quando cultivados em resíduos da indústria do papel variaram de 1390 a 1725 mg/kg em peso seco ou 13,90 a 17,25mg/100g em peso fresco (20).

Considerando-se a classificação da Portaria nº 27 (29) "alimentos que não contém sódio apresentam teores igual ou menor que 5 mg de Na/100 g de sólidos", as espécies avaliadas de *Pleurotus* são tidas portanto como alimento que não contém Na, bem como os cogumelos chileno e italiano avaliados. Há que, no entanto, conhecer-se a procedência/substrato de origem pois, aqueles cogumelos cultivados de resíduos da indústria do papel, embora ainda contenham pouco Na, passam a ser classificados como alimentos com «muito baixo teor de sódio» (máximo 40 mg de Na/100 g de sólido) assim como *Agaricus bisporus*, o champignon de Paris, segundo Bano e Rajarathnam (6) que tem em média 11,5 mg/100 g em peso fresco.

Segundo Krummel (35), os cogumelos avaliados classificam-se para efeito de rotulagem de alimentos como, «alimento sem sódio» (<5 mg/por porção padrão). Entre os temas para intervenção no controle da hipertensão, citados por Krummel (35), está a intervenção de pouco sódio/ muito potássio que recomenda aos pacientes a identificação de alimentos baixos em sódio e altos em potássio. Os cogumelos estudados, frescos ou secos, são alimentos que atendem essas exigências uma vez que são fontes de potássio. O potássio dietético e a pressão sanguínea estão inversamente relacionados, isto é, ingestão de alimentos com alto teor de potássio está associada à pressão sanguínea mais baixa (36).

Dos microelementos (Tabela 3), o Fe nas espécies de *Pleurotus* avaliados apresentou-se em média com teor de 133,85 mg/kg de peso seco ou 1,338 mg/100 g de peso fresco, valores que são encontrados na literatura (5, 8, 15, 16, 24, 37). Em relação à RDA (14 mg) conclui-se que a ingesta de 100 g fornece 9,56% desta. Portanto, embora esses cogumelos não possam ser considerados fonte de Fe, um estudo de Memuna & Chakrabarti<sup>(4)</sup> citados por Bano & Rajarathanam (6), mostrou que pelo menos parte desse elemento está na forma biodisponível através de reversão de anemia induzida em ratos quando alimentados com *Pleurotus* spp. como suplemento de dieta láctea. Todavia, generalizações não podem ser feitas pois o cogumelo chileno apresentou o maior teor em Fe - 573mg/kg em peso seco ou 5,73 mg de Fe/100 g de cogumelo fresco ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3), o que corresponde a 40,92% da RDA e, portanto poderia ser considerado como alimento com alto teor de Fe (> 30% RDA, segundo Portaria nº 27) (29).

O teor de Cu nas linhagens de *Pleurotus* avaliadas esteve em média ao redor de 2,43 mg/100 g de peso seco ou 0,243 mg/100 g de peso fresco, estando esse dado em acordo com a

4. Memuna H.; Chakrabarti CH. A study of iron in mushrooms. Indian J Nutr Diet, 1982;19: 203.

literatura, Tabela 3 (5, 15, 16, 20, 24, 37). A ingestão de 100 g desses cogumelos frescos atinge 15 a 8,0% considerando-se que a ESADDI varia de 1,5 a 3 mg (32), respectivamente.

De acordo com a OMS (30) os cogumelos *Pleurotus* e chileno podem ser considerados boas fontes de Cu pois, apresentam teores maiores que 2 mg/kg em peso fresco ou 0,2 mg/porção normalmente utilizada.

Os maiores teores de B foram encontrados nas linhagens de *Pleurotus ostreatoroseus*, média de 13 mg/kg em peso seco ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). Nos outros cogumelos, chileno, italiano e *Pleurotus* spp os teores encontrados foram iguais a 6 ou < 5 mg/kg (em peso seco) - dados esses que estão coerentes com os encontrados na literatura (8). Boas fontes de B são os alimentos de origem vegetal, especialmente frutas não cítricas; vegetais folhosos, nozes e leguminosas são fontes ricas; nozes e frutas secas geralmente fornecem de 15 a 30 mg/kg em peso fresco desse elemento. Os cogumelos avaliados fornecem cerca de 5 a 6 mg/kg (peso seco) de B, exceto as espécies de *Pleurotus ostreatoroseus* (11,61 a 15,22 mg/kg em peso seco) que apresentam quantidades, próximas aos alimentos considerados fonte.

A média de Mn nas espécies/linhagens de *Pleurotus* avaliadas foi de 12,43 mg/kg em peso seco que corresponde a 0,1234 mg de Mn/100 g de peso fresco, atingindo 2,48% da ESADDI (2 a 5 mg/dia)(32). O maior teor foi encontrado no cogumelo italiano e nas linhagens de *Pleurotus* chamadas de shimeji ( $P < 0,05$ ); o cogumelo chileno apresentou o menor teor ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). É característica dos macrofungos apresentarem-se com teores baixos e serem ainda mais baixos nas espécies de *Pleurotus* (15).

Entre os *Pleurotus* spp os teores de Al variaram entre valores < 10 a 69 mg/kg em peso seco, havendo diferenças entre eles significativas. Os maiores teores foram encontrados no cogumelo chileno (650 mg/kg) e no italiano (127mg/kg) ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3).

A OMS (30) sugere, provisoriamente, que a ingestão semanal tolerável de alumínio pode ser de aproximadamente 7 mg/kg de peso corpóreo - o que corresponde a 490 mg/semana para um indivíduo de 70 kg. Considerando-se esses valores, conclui-se que os cogumelos, mesmo o chileno que fornece 6,5 mg de Al/100 g de peso fresco, não representam risco para a saúde.

Na avaliação do teor de Zn, as linhagens de *Pleurotus* de coloração rosa apresentaram os maiores teores ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3). No entanto, não podem ser considerados fontes desse elemento mesmo sendo considerados bioacumuladores (5,20,22), pois contribuem aproximadamente com 12% da RDA cuja média é de 15 mg, dependendo da faixa etária.

Uma importante fonte de Zn é a carne vermelha magra (4,0 a 5,0 mg de Zn/100 g de peso fresco) e este encontra-se altamente biodisponível (Zn associado a aminoácidos e hidroxíácidos, substâncias de baixo peso molecular solúveis) e, esta fonte fornece 0,2-0,3 mg Zn/g proteína (30). Assim,

como os cogumelos *Pleurotus* avaliados fornecem, em média, 0,63 mg Zn/g de proteína (4), pode-se, após considerações acima, inferir que este elemento pode estar biodisponível devido à presença de aminoácidos e hidroxíácidos em sua composição (6). Um fato importante quanto ao Zn é que este parece exercer um efeito protetor com relação à toxidez do Cd desde que em concentrações adequadas (38,39). No entanto, como cogumelos fornecem baixa energia e são ricos em ácido fólico (6) essas questões devem ser estudadas.

Com relação aos metais cujos teores encontrados estiveram abaixo dos limites de detecção do método e equipamentos adotados neste trabalho, portanto não detectados (Tabela 4), algumas considerações podem ser feitas quanto à RDA, ESADDI e possíveis problemas de toxidez.

Em relação ao Ni, considerando-se o limite de detecção a ESADDI (< que 600 µg/dia) (32) e o limite como contaminante inorgânico pode-se concluir que os cogumelos não representam problemas quanto a este elemento.

Dados da literatura quanto ao teor de Cr em cogumelos do gênero *Pleurotus* variam de 0,0 a 1,18 mg/kg (peso seco) (5, 8, 15, 16, 20, 37). O limite de detecção do método adotado nesse trabalho foi de 1,245 mg/kg em peso seco. Portanto, valores abaixo não puderam ser detectados, o que significa que os cogumelos avaliados podem conter tal elemento.

A ESADDI do Cr, para adultos está entre 50 a 200 µg (32). Portanto pode-se concluir, considerando o limite de detecção, que os cogumelos não são tóxicos quanto ao Cr, exceto o cogumelo chileno que pode conter valores próximos a 15,66 µg de Cr/100 g de cogumelo fresco o que corresponde a cerca de 40% do limite mínimo para ESADDI.

Dados quanto ao teor de Co em cogumelos variam de 0,00 a 1,18 mg/kg em peso seco (5,15, 20). O limite do método empregado neste trabalho para o Co foi menor que 1,395 mg/kg em peso seco (Tabela 4), o que significa que as amostras de *Pleurotus* avaliadas podem conter esse elemento.

Em relação ao Cd, o limite do método neste trabalho foi menor que 1,095 mg/kg em peso seco. Em se tratando de um metal tóxico pode-se concluir que as amostras avaliadas não apresentam teores igual ou acima de 1,095 mg/kg em peso seco, o que representa cogumelos contendo médias menores que 10,95 µg/100 g de peso fresco. Considerando que o limite máximo tolerável é de 0,5 mg/semana ou aproximadamente 70 µg/dia (30) e que somente valores acima do limite de detecção representariam riscos para a saúde, pode-se inferir que as amostras avaliadas não representam problemas.

Quanto aos teores de Pb, o limite de detecção do método adotado foi menor que 16,4 mg/kg em peso seco, que representa cerca de menos que 0,164 mg Pb/100 g de cogumelos frescos. No entanto, como o limite máximo tolerado é de 3mg/semana ou 0,43 mg/dia, esse limite de detecção mostra que os cogumelos avaliados podem conter Pb e desta forma contribuir com cerca de 38% do limite máximo permitido.

Como consequência quando se avalia os teores máximos

permitidos para contaminantes inorgânicos e/ou aditivos incidentais em alimentos, relacionados à segurança quanto à toxicidade e considerando-se os limites de detecção nesse trabalho (Tabela 4), não se pode afirmar que os cogumelos avaliados estejam livres da contaminação por Pb e Cr. Trabalhos subsequentes devem considerar limites de detecção mais baixos para esses elementos, assim como a avaliação da presença de Hg.

### CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos nessa avaliação exploratória pode-se concluir que os cogumelos avaliados são boa fonte de potássio e cobre; os cogumelos conhecidos como hiratake e shimeji são também boa fonte de fósforo; o cogumelo italiano apresentou-se como alimento com alto teor de ferro, contudo essa afirmação depende de maiores estudos embasados numa amostragem maior, na identificação da espécie/linhagem e na biodisponibilidade do elemento.

Os cogumelos avaliados podem ser classificados como alimentos que «não contém sódio» e podem ser indicados como um alimento ou condimento no realce do sabor para pacientes com hipertensão ou outras doenças cardíacas, onde há restrição de sódio.

Com relação aos metais tóxicos recomenda-se que trabalhos subsequentes investiguem a presença de chumbo e cromo pois, os limites de detecção do método analítico adotado neste trabalho estiveram acima do limite máximo permitido como contaminante inorgânico para esses elementos. Recomenda-se a monitoração do mercúrio, não avaliado nesse trabalho.

### AGRADECIMENTOS

À Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo pelo suporte financeiro.

### REFERÊNCIAS

- Chang ST. Worldwide specialty mushrooms production. *The Mushroom J*, 1995; 543: 20.
- Eira AF, Minhoni MTA. Manual de cultivo do "hiratake" e "shimeji" (*Pleurotus* spp.). Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997.
- Rajaratnam S, Bano Z. *Pleurotus* mushrooms: Part III: biotransformations of natural lignocellulosic wastes; commercial applications and implications. *CRC Crit. Rev. in Food Sci and Nutr*, 1989;28(1):31-113.
- Crisan EV, Sands A. Nutritional value. In: Chang ST, Hayes WA, editors. *The biology and cultivation of edible mushrooms*. New York: Academic Press, 1978;137-68.
- Bano Z, Nagaraja KV, Vibhakar S, Kapur OP. Mineral and heavy metal contents in the sporophores of *Pleurotus* species. *Mushrooms Newsl for the Trop*, 1981;2(2):3-7.
- Bano Z, Rajaratnam S. *Pleurotus mushrooms*. Part II: chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation, and role as human food. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr*, 1988;27(2):87-158.
- Favero N, Bressa G, Costa P. Response of *Pleurotus ostreatus* to cadmium exposure. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 1990;20(1):1-6.
- Vetter J. Data on arsenic and cadmium contents of some common mushrooms. *Toxicon*, 1994;32(1):11-15.
- Pallotti G, Bencivenga B, Vegliante A. Contenuto in mercurio totale di funghi selvatici e coltivati. *Industrie Alimentari*, 1976;12:57-60.
- Zurera-Cosano G, Rincon-Leon F, Pozo-Lora R. Lead and cadmium content of some edible mushrooms. *J Food Qual*, 1987;10: 311-317.
- Zurera-Cosano G, Rincon-Leon F, Moreno-Rojas R, Salmeron-Egea J, Pozo-Lora R. Mercury content in different species of mushrooms grown in Spain. *J Food Protect*, 1988;51(3):205-207.
- Stijve t, Bourqui B. Arsenic in edible mushrooms. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 1991;87(10):307-310.
- Kalac P, Burda J, Stasková I. Concentration of lead, cadmium, mercury and copper in mushrooms in the vicinity of a lead smelter. *The Sci. of the Total Environment*, 1991;105: 109-119.
- Kalac P, Niznanska M, Bevilacqua D, Staskova I. Concentrations of mercury, copper, cadmium and lead in fruiting bodies of edible mushrooms in the vicinity of a mercury smelter and a copper smelter. *Sci. of Total Environment*, 1996;177 (155,1-3):251-8.
- Vetter J. Mineral element content of edible and poisonous macrofungi. *Acta Alimentaria*, 1990;19(1):27-40.
- Strmisková G, Strmiska F, Dubravicky J. Mineral composition of oyster mushroom. *Nahrung*, 1992;36(2):210-212.
- Borella P, Caselgrandi E, Fabio G, Gilbertoni C. Risk of intake for cadmium and lead with consumption of fresh mushrooms on sale. *Ig Mod* 1994;101(3):323-331.
- Haldmann M, Bajo C, Haller T, Venner T, Zimmerli B. Occurrence of arsenic, lead, cadmium, mercury and selenium in cultivated mushrooms. *Mitterlungen aus dem Gebiete der Lebensmittelunterserchung und hygiene*, 1995;86(5):463-484.
- Latiff LA, Daran ABM, Mohamed AB. Relative distribution of minerals in the pileus and stalk of some select edible mushrooms. *Food Chem.*, 1996;56(2):115-121.
- Mueller JC, Gawley JR, Lanz T, Hayes WA. Mineral and heavy metal content of *Pleurotus sajor-caju* grown on cellulosic residues from bleached kraft pulp mill. *Mushrooms Newsl Trop*, 1985;5(3):9-16.
- Jain SK, Gujral GS, Vasudevan P, Jha n K. Uptake of heavy metals by *Azolla pinata* and their translocation into fruit bodies of *Pleurotus sajor-caju*. *J Ferment Bioeng*, 1989;68(1):64-67.
- Sturion GL. Utilização da folha de bananeira como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp) (dissertação de Mestrado). Piracicaba (SP):Universidade de São Paulo, 1994.
- Racz L, Papp L, Fodor P. Migration analysis of elements from compost and casing material to the fruit bodies in cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Acta Alimentaria*, 1995;24(2):160-66.
- Sturion GL, Oetterer M. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.) originados em diferentes substratos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 1995;15(2): 189-193.

25. Bononi VL, Capelari M, Maziero R, Trufem SFB. Cultivo de cogumelos comestíveis. São Paulo: Icone Editora, 1995.
26. Silva DJ. Análise de alimentos; métodos químicos e biológicos. Viçosa:Imprensa Universitária Federal de Viçosa, 1981.
27. Zonta EP, Machado AA. Sanest - Sistema de Análise Estatística. Piracicaba:Departamento de Matemática e Estatística, ESALQ-UP.
28. Gomes FP. Curso de estatística experimental. 12a ed., Piracicaba:Nobel, 1987.
29. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Portaria no 27; 1998 jan 13; Diário Oficial da União 1998 jan 16. Regulamento Técnico referente à informação nutricional complementar. In: ABIAD - Associação Brasileira da Indústria de Alimentos Dietéticos. Compêndio de Legislação sobre Alimentos para fins especiais e outros alimentos. São Paulo:ABIAD, 1998;115-122.
30. Organização Mundial DA Saúde; Tradução Andréa Favano. Elementos traço na nutrição e saúde humanas. São Paulo: Ed. Roca, 1998.
31. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Decreto no 55871, 1965 março 26. In: Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos. Compêndio de Legislação de Alimentos. rev.4, São Paulo:ABIA, 1989;v1/a:3.1-3.7.
32. Czajka-narins D. Minerais. In: Mahan LK, Escott-Stump S. Tradução Andrea Favano. Krause; alimentos, nutrição e dietoterapia. 9a ed., São Paulo: Roca. 1998;123-166.
33. Chang ST, Miles PG. The nutritional attributes and medicinal value of edible mushrooms. In: CHANG ST, MILES PG, editors. Edible mushrooms and cultivation. Boca Raton: CRC Press Inc. 1989; 27-38.
34. Seeger R, Beckert M. Magnesium in höeren pilzen. Z. Lebensm. Unters-Forsch., 1979;168:264-81.
35. Krummel D. Cuidado nacional na insuficiência e transplante cardíaco. In: Mahan LK, Escott-Stump S. Tradução Andrea Favano. Krause; alimentos, nutrição e dietoterapia. 9th rev. ed. São Paulo: Roca. 1998;753-766.
36. Krummel D. Nutrição na hipertensão. In: Mahan LK, Escott-Stump S. Tradução Andrea Favano. Krause; alimentos, nutrição e dietoterapia. 9th rev. ed. São Paulo: Roca. 1998;569-582.
37. Procida G, Pertoldi-Marletta G. Trace elements in cultivated and spontaneous edible mushrooms. Rivista di Scienza dell'Allimentazione, 1995;24(4):535-542.
38. Mitra AK, Purkayastha RP, Chatterjee NB, Bhattacharyya B. Uptake and tissue distribution of cadmium in albino rat after exposure to cadmium-contaminated edible mushroom and its effect on blood. Curr Sci. 1995; 68(10):1050-53.
39. I sasa MET, Masoud TA, Para MCM. Relación Cd/Zn en especies de hongos comestibles y su incidencia toxicológica. Anal. Bromatol, 1981; XXXIII(1):149-154.

Recibido: 05-03-1999

Aceptado: 27-09-1999

## NOTAS

### **The Fourth International Conference on Dietary Assessment Methods - September 17-20, 2000 Tucson, Arizona U.S.A.**

A challenge for the new millennium: Promoting the appropriate use of dietary assessment tools for all.

This conference will provide critical information for current and potential users of dietary assessment methods and dietary data who work in research settings and clinical and public health programs. It will also provide cutting edge information for researchers who work on developing new dietary assessment methods and who compare and evaluate dietary assessment tools. The conference will consist of workshops, round table discussions, plenary sessions, concurrent sessions and poster sessions for the presentation and discussion of scientific information. A series of social and cultural events will allow conference participants to exchange ideas and to stimulate collaborative projects.

Sheraton El Conquistador Resort, Tucson, Arizona. Call for Abstracts due May 1, 2000. For more information contact the conference website at: <http://ahsc.arizona.edu/apc/conferences/dietmethods.htm> or by writing Douglas Taren, Dietary Methods Conference, University of Arizona Prevention Center, P.O. Box 245163, Tucson, Arizona 85719, USA; email-dietconf@u.arizona.edu.

### **El XII Congreso Latinoamericano de Nutrición. XII-CLAN-2000**

Hemos recibido de la Junta Directiva de la SLAN, una primera comunicación con fecha 01 de Febrero de 2000, parte de cuyo contenido nos complace divulgar en estas Notas.

#### **Ejes temáticos**

- El paradigma de la nueva malnutrición en América Latina: Obesidad-Retraso Crónico de Crecimiento-Desnutrición Oculta.
- La Tercera Edad como un problema nutricional emergente.
- El pensamiento nutricional detrás de los programas asistenciales y preventivos.
- Factores de Riesgo nutricionalmente modificables.
- Hacia una nueva nutrición clínica en América Latina.
- La vida intrauterina y los primeros años: determinantes de la salud, crecimiento y calidad de vida.
- De qué y cómo se alimentará América Latina en el 2020.

**Lugar:** Buenos Aires Sheraton Hotel & Convention Center. Avenida Leandro N. Alem 1153, Buenos Aires-Argentina.

**Fecha:** 12 al 16 de Noviembre de 2000.

**Idioma oficial:** Los idiomas oficiales del Congreso son el castellano y el portugués. Las Sesiones Plenarias, Conferencias, Simposios Centrales y Simposios satélites tendrán traducción simultánea al castellano.

**Exposición comercial:** Una exhibición comercial de la industria alimentaria y farmacéutica, equipamiento técnico más libros y revistas científicas atinentes al tema del Congreso funcionará en la sede del mismo.

**Credenciales:** Serán exigidas para asistir a todas las sesiones, exposición comercial y actividades sociales.

Las empresas interesada en recibir información de la exposición deben contactarse, con la debida antelación, directamente con la Secretaría de la SLAN2000.

#### **Dirección de la organización del Congreso**

*Secretaría General:* para consultas referentes a inscripción, presentación de trabajos libres, turismo, programa científico o exposición comercial, dirigirse a: 12vo. Congreso Latinoamericano de Nutrición

*Dirección:* Bernardo de Irigoyen 240 (1072) Buenos Aires.  
*Tel:* 334-1545/345-6011; e-mail: cesni@datamarkets.com.ar

### **XII CLAN 2000**

Con el fin de elaborar una "Propuesta de Evaluación Antropométrica en América Latina" para ser colocada en la [www.slan2000.com](http://www.slan2000.com) y discutida en una sesión especial del XII Congreso Latinoamericano de Nutrición a celebrarse en Buenos Aires, Argentina bajo la coordinación de la Dra. Mercedes López de Blanco, se está realizando una encuesta sobre indicadores, valores de referencia y puntos de corte utilizado en América Latina para la evaluación antropométrica de individuos, así como de poblaciones. A tal efecto se ha conformado un equipo de trabajo con las siguientes agrupaciones: Embarazadas, RN, Lactantes, Preescolares, Escolares, Adolescentes y Adultos.

En caso de que pueda aportar información al respecto, puede ponerse en contacto con el grupo de trabajo de Venezuela para el SLAN 2000.

**Coordinación general:** Dr. Mercedes López de Blanco;  
e-mail: j0018324-1@cantv.net

**Embarazadas, RN, lactantes:** Dra. Gladys Henríquez;  
e-mail: gladyshp@telcel.net.ve, caniacs@reacciun.ve

**Preescolares, escolares:** Lic. Rebeca Lares;  
e-mail: sisvan@cantv.net

**Adolescentes:** Dra. Coromoto Macias de Tomei;  
e-mail: bobtomei@telcel.net.ve

**Adultos:** Dra. Yolanda Hernández de Valera;  
e-mail: heryolan@cantv.net

Se aclara que la información aportada será utilizada únicamente para fines de esta investigación.

## NUEVOS LIBROS

**The management of eating disorders and obesity.**

Editado por David J. Goldstein, MD, PhD.

Humana Press. 999 Riverview, Suite 208, Totowa, New Jersey 07512. Estados Unidos. Cubierta dura. ISBN: 0-896-03407-0. U.S. \$ 99.50; 367 páginas.

El texto entrega 23 Capítulos distribuidos en 4 grandes áreas: Bulimia Nerviosa, Anorexia Nerviosa, Obesidad y Tratamiento.

**Index Nominum 2000. International Drug Directory.** 17th.

Edition. Edited by Swiss Pharmaceutical Society. Hard cover. 1931 pags.

Medpharm GmbH Scientific Publishers 2000 Birkenwaldst. 44, D-70 191 Stuttgart.

Table of contents: General Statements. Therapeutic Category. ATC Classification. Abbreviations and Symbols. Country Codes. Drug Monographs. Index Brand Names, Drugs, Synonyms. Index Drugs/ATC Codes. Manufacturers.

**Cuestiones de inocuidad de los alimentos asociadas con los productos de la acuicultura.** OMS, Serie de Informes Técnicos. 883-63 páginas. 1999.

Informe de un Grupo de Editores Mixto FAO/RCAAP/OMS. Ginebra.

**A guide to carotenoid analysis in food.** Delia B. Rodríguez

- Amaya. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil. 1999-64 pag.

ILSI Press. International Life Sciences Institute. 1126 Sixteenth Street, N.W. Washington, D.C. 20036-4810. U.S.A.

## CARTAS AL EDITOR

Caracas, 21 de Enero de 2000

Dr. José Félix Chávez  
Editor General  
Archivos Latinoamericanos de Nutrición  
Presente.

Me dirijo a usted en la oportunidad de comunicarle, que por un error involuntario, se omitió el nombre de uno de los coautores del artículo titulado "**Fatty acid composition of beef, pork, and poultry cuts, and some of their processed products**", el cual apareció publicado en el N° 4, volumen 48, año 1998 de Archivos Latinoamericanos de Nutrición.

Los coautores del mencionado artículo son: Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny Carrillo de Padilla, Alicia Mariela Rincón y Eduardo Martín G.

Mucho le sabré agradecer se sirva insertar esta nota en alguno de los números subsiguientes.

Sin otro particular, queda de usted,

Prof. Consuelo Araujo de Vizcarrondo  
Autor Principal

---

# Las Vitaminas A y C pueden ayudar a mejorar la absorción y aprovechamiento del hierro



Estudios científicos han demostrado el importante papel de las vitaminas A y C en el mejoramiento de los niveles de hemoglobina y ferritina sérica en niños y mujeres embarazadas anémicos.

La vitamina A mejora la oferta de hierro al tejido hematopoyético, posiblemente estimulando la movilización de hierro y aumentando el hierro plasmático y la saturación de transferrina. Otros estudios llevados a cabo en Venezuela han observado que el enriquecimiento con vitamina A aumenta la absorción de hierro en cereales como maíz, arroz y trigo, y aparentemente contrarresta los efectos inhibitorios del té y café al ser consumidos con las comidas.

En su papel de agente reductor, la vitamina C facilita la absorción de hierro del tracto gastrointestinal y favorece su movilización de las reservas. El hierro y el ascorbato forman un complejo que es más soluble en el ambiente alcalino del intestino delgado y como resultado, más fácilmente biodisponible. Los estudios sugieren que la vitamina C puede mejorar la absorción del hierro no hemínico, proteger contra el estrés oxidativo y contrarrestar los efectos de los agentes inhibidores de la absorción de hierro.



## Referencias

- Mejia LA. Role of vitamin A in iron deficiency anemia. En: Nutritional Anemias (S. J. Fomon and S. Zlotkin, editors). Nestle Nutrition Workshop Series, Vol. 30. Raven Press Ltd. New York, 1992.
- Stoltzfus RJ, Dreyfuss M, Shrestha JB, Khatry SK, Schulze K & West KP. Effect of maternal vitamin A or carotene supplementation on iron-deficiency anemia in Nepalese pregnant women, post-partum mothers, and infants. Report of the XVIII International Vitamin A Consultative Group Meeting, Cairo, Egypt, 1997: 86.
- Mejia LA, Hodges RE & Rucker RB. Role of vitamin A in the absorption, retention, and distribution of iron in the rat. J. Nutr. 1979; 109: 129-137.
- García-Casal MN, Layrisse M, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D, Ramirez J, Leets I & Tropper E. Vitamin A and B-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat, and corn by humans. J. Nutr. 1997; 128: 646-650.
- Layrisse M, García-Casal MN, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D, Ramirez J, Leets I & Tropper E. Vitamin A reduces the inhibition of iron absorption by phytates and polyphenols. Food and Nutrition Bulletin, 1998; 19: 3-5.
- Lynch SR & Cook JD. Interaction of vitamin C and iron. Ann. NY Acad. Sci. 1980; 355: 32-44.
- Hallberg L, Brune M & Rossander-Hulthen L. Is there a physiological role of vitamin C in iron absorption? Ann. NY Acad. Sci. 1987; 498: 324-332.
- Ajayi OA & Nnaji UR. Effect of ascorbic acid supplementation on hematological response and ascorbic acid status of young female adults. Ann. Nutr. Metab. 1990; 34: 32-36.
- Hunt JR, Mullen LM, Lykken GI, Gallagher SK & Nielsen FH. Ascorbic acid: Effect on ongoing iron absorption and status in iron-depleted young women. Am. J. Clin. Nutr. 1990; 51: 649-655.

**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...*

ESTE EJEMPLAR SE TERMINO DE IMPRIMIR  
EN LOS TALLERES DE EDITORIAL TEXTO  
AV. EL CORTIJO, QUINTA MARISA, N° 4  
LOS ROSALES - CARACAS - VENEZUELA  
TELEFONO: 632.97.17

**BIBLIOTECA  
FUNDACION CAVENDES**

DEPARTAMENTO DE AUXOLOGIA  
DIV. INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

# **ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN**

Suplemento Monográfico:

## **EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL DE LA POBLACIÓN CANARIA (1997-1998)**

Editor del suplemento:  
Prof. Luis Serra Majem

Con el patrocinio de:



**Servicio  
Canario de Salud**



**GOBIERNO DE CANARIAS  
CONSEJERIA DE SANIDAD  
Y CONSUMO**