

ALAN

Volumen 49. N° 1. Marzo 1.999

A R C H I V O S

Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

L A T I N O A M E R I C A N O S

Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición

D E N U T R I C I O N



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

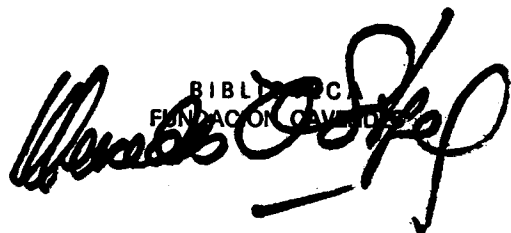
ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION está registrado en ASEREME e indizado en las siguientes Bases de Datos: LILACS/CD ROM; Food Science & Technology Abstracts; MEDLINE; Life Science Collection; Science Citation Index

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**
- **Roche** PRODUCTOS ROCHE, América Latina
- **Fundación POLAR**
- **Protein Technologies International**
Caracas, Venezuela
- **Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo.CANIA**
- **Alimentos LE BISCUIT C.A.**
- **PARMALAT de Venezuela**
- **BASF Venezolana S.A.**
- **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 49

MARZO 1999

Nº 1

Contenido

	Páginas
Editorial	A
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Estado nutricional de pacientes quirúrgicos sin aparente compromiso nutricional Liliana Zago, Adriana Weisstaub, Hernan Dupraz, María Fernanda Godoy, Fernando Gasali, Carlos Dirube, Nora H. Slobodianik, María Luz de Portela, Francisco Torino, María Esther Río.....	1
Estado nutricional del hierro de gestantes adolescentes, São Paulo, Brasil Elizabeth Fujimori, Ida María Vianna de Oliveira, Luz Marina Núñez de Cassana, Sophia Cornbluth Szarfarc.....	8
Bioquímica Nutricional	
Maduración temprana: factor de riesgo de sobrepeso y obesidad durante la pubertad? Mercedes López de Blanco, Isbelia de Espinoza, Coromoto Macías de Tomei, Lucila Blanco de Cedres.....	13
Derivados del aceite de palma con concentraciones diferentes de ácido palmítico y antioxidantes. Efectos sobre lípidos plasmáticos y agregación plaquetaria Tosca Scorza, Argelia Martucci, Ana T. Torrealba de Ron.....	20

Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (AGPI n-3) en la recuperación nutricional Inés Fernández, María José Novoa Bermúdez, Anabel Nora Pallaro, Nora Haydee Slobodianik.....	26
Encuestas de Alimentos	
Consumo de alimentos e ingesta de algunos nutrientes en la población de la Universidad Nacional de Luján, Argentina Ana Pacin, Elena Martínez, María Luz Pita Martín de Portela, María Susana Neira.....	31
Ciencia de Alimentos	
Estudio de la composición química, de dos especies vegetales silvestres en comparación con acelga Escudero N.L., Fernández S., Albarracín G., Lúquez G. N. de, Arellano L. M. de; Mucciarelli S.....	40
Efecto de la temperatura de concentración de pulpa de kiwi sobre el color, clorofila y ácido ascórbico Marco Schwartz M., Hugo Núñez K., Ana María Muñoz A.....	44
Influencia del tratamiento térmico y la fibra dietética en la calidad de la proteína de la alcachofa y su subproducto G. López, G. Ros, J. Ortuño, M.J. Periago, C. Martínez, F. Rincón.....	49
Uma experiência de construção de conhecimento com manipuladores de alimentos a partir da implantação da análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar Anete Araújo de Sousa, Raquel Küerten de Salles, Márcia Reis Felipe, Iraci Tosin.....	55
Tecnología de Alimentos	
Formulación y caracterización de un alimento suplementario para deportistas Valeria Cristina Del Castillo, Margarita Armada, Juan Carlos Gottifredi.....	61
Microbiología de Alimentos	
Incidencia de <i>Plesiomonas shigelloides</i> en tetrahíbridos de Tilapia (<i>Oreochromis</i> sp.) Clever Mendoza H., Pilar Hernández S.....	67
Termorresistência de bactéria psicrotrófica produtora de ácido isolada de leite Rita de Cássia Gonçalves Alfenas.....	72
Calidad microbiológica de las cremas de leche pasteurizadas elaboradas en Venezuela Lola Szwarcbort de Tamsut, Carmen Elena García.....	76
LatinFoods. Composición de Alimentos	
Calidad proteínica de tres cepas mexicanas de setas (<i>Pleurotus ostreatus</i>) Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanís Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L. García Díaz, Gerardo Martínez, Eleazar Barboza Corona.....	81
NOTAS.....	86
INFORMACION PARA LOS AUTORES.....	89

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 49

MARCH 1999

Nº 1

Contents

	Pages
Editorial	A
RESEARCH PAPERS	
Human Nutrition	
Nutritional status of surgical patients Liliana Zago, Adriana Weisstaub, Hernan Dupraz, María Fernanda Godoy, Fernando Gasali, Carlos Dirube, Nora H. Slobodianik, María Luz de Portela, Francisco Torino, Maria Esther Río	1
Iron nutritional status in pregnant adolescents, São Paulo, Brazil. Elizabeth Fujimori, Ida María Vianna de Oliveira, Luz Marina Núñez de Cassana, Sophia Cornbluth Szarfarc.....	8
Nutritional Biochemistry	
Early maturation: a risk factor of overweight and obesity during puberty? Mercedes López de Blanco, Isbelia de Espinoza, Coromoto Macías de Tomei, Lucila Blanco de Cedres	13
Palm oil derivatives with different concentration of palmitic acid and antioxidants. Effects upon plasmatic lipids and platelet aggregability Tosca Scorza, Argelia Martucci, Ana T. Torrealba de Ron	20
Importance of n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) in the nutritional recovery Inés Fernández, María José Novoa Bermúdez, Anabel Nora Pallaro, Nora Haydee Slobodianik	26

Food Surveys

Food consumption and intake of several nutrients of Luján University's population (Buenos Aires, Argentina)

Ana Pacin, Elena Martínez, María Luz Pita Martín de Portela, María Susana Neira..... 31

Food Science

A chemical composition comparative study between two wild vegetable species and chard

Escudero N.L., Fernández S., Albarracín G., Lúquez G. N. de, Arellano L. M. de; Mucciarelli S..... 40

Effect of concentration temperature of kiwifruit pulp on color, chlorophyll and ascorbic acid

Marco Schwartz M., Hugo Núñez K., Ana María Muñoz A..... 44

Protein quality of artichoke and artichoke by-product as affected by heat treatment and dietary fiber

G. López, G. Ros, J. Ortuño, M.J. Periago, C. Martínez, F. Rincón 49

Implantation of HACCP with food handlers in a hospital food service establishment

Anete Araújo de Sousa, Raquel Küerten de Salles, Márcia Reis Felipe, Iraci Tosin 55

Food Technology

A supplementary sportmen food formulation and characterization

Valeria Cristina Del Castillo, Margarita Armada, Juan Carlos Gottifredi 61

Food Microbiology

Incidence of *Plesiomonas shigelloides* in *Tilapia tetrahybrids* (*Oreochromis* sp.)

Clever Mendoza H., Pilar Hernández S..... 67

Thermoresistence of acid producing psychrotrophic bacteria isolated from milk

Rita de Cássia Gonçalves Alfenas 72

Microbiological quality of pasteurized milk creams manufactured in Venezuela

Lola Szwarcbort de Tamsut, Carmen Elena García..... 76

LatinFoods. Food Composition

Protein quality of Mexican *Pleurotus ostreatus* strains

Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanís Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L. García Díaz,
Gerardo Martínez, Eleazar Barboza Corona 81

NOTES..... 86

INFORMATION TO AUTHORS 89

Editorial

En Noviembre de 1997 en la ciudad de Lima Perú, 224 representantes de la industria molinera de trigo de América Latina, acordamos en representación de nuestras asociaciones gremiales Empresariales la “**Declaración de Lima sobre el combate de la anemia a través de la fortificación de las harinas de trigo y maíz con hierro y vitaminas**”. Es una proclama escrita en plena lucha por erradicar de nuestros pueblos los males de la anemia y la desnutrición. Digo que en plena lucha porque ya la habíamos iniciado en Venezuela desde 1991 cuando a propuesta del Instituto Nacional de Nutrición y de destacados científicos venezolanos, nos unimos voluntaria y entusiastamente los industriales de las harinas de trigo y de maíz, elaborando y poniendo en marcha una alianza estratégica de amplia, franca y sostenida participación, convertida en modelo de gestión que en poco tiempo dió extraordinarios impactos en la disminución de la anemia en niños y jóvenes según mediciones hechas públicas por los doctores Miguel Layrisse del IVIC y Hernán Méndez Castellano de Fundacredesa.

Por el impulso de estos resultados de resonancia mundial, recibimos visita en la Asociación Venezolana de Molinos de Trigo-ASOTRIGO, de delegados internacionales de UNICEF y Banco Mundial interesados en conocer los pormenores de lá participación efectiva del sector industrial en el Programa Venezuela.

De estos encuentros surgió de mi parte, en mi carácter de Presidente de la Asociación Latinoamericana de Industriales Molineros ALIM, la invitación a la próxima Asamblea Anual a efectuarse en Asunción-Paraguay para que expusieran su opinión sobre el Programa Venezuela y sus propósitos de expansión. En una sesión plenaria la gente de UNICEF y Banco Mundial explicaron sobre el éxito de Venezuela. Después de lo cual fueron invitados a una sesión privada con los líderes empresariales de la harina de trigo en la cual se precisaron acciones futuras concertadas.

Allí se demostró que la industria estaba ganada para la participación como soporte vehicular a través de nuestros productos pero era necesario que los gobiernos y los científicos resolvieran los asuntos legales que dieran garantía de tres puntos fundamentales:

1. Fórmulas de enriquecimiento concertadas.
2. Programa Nacional permanente, no político.
3. Evaluación por instituciones de alto nivel científico.

La Asamblea de ALIM en Lima, siguió a la Asunción, y ya más de la mitad de los países estaban desarrollando o por iniciar programas de Enriquecimiento, allí creímos oportuno fortalecer el compromiso para que los países no incorporados sintieran el resfuerzo del compromiso. Así surgió **La Declaración de Lima** que fue firmada en Octubre de 1998 en Cochabamba-Bolivia con motivo de la XXII Asamblea de ALIM, tiempo para el cual sólo Brasil y Argentina de Sur América y dos países de Centro América quedaban en deuda con sus pueblos.

No quiero sobrevalorar la participación de nuestra industria nacional y latinoamericana en la función social de combatir la anemia y la desnutrición, realmente me gustaría saber que muchos otros programas hayan tenido éxito como el de Enriquecimiento de Harinas de Venezuela, pero sin duda que el modelo que creamos es el que funciona, en contra de las imposiciones de gobiernos o funcionarios que no manejan la estrategia concertada que es difícil al inicio, pero que se convierte, en participación por convicción como fue el caso inicial de Venezuela felizmente proyectado al resto del continente.

La Declaración de Lima no sólo es el compromiso de lo que vamos a hacer, es el resultado de lo que fuimos capaces de hacer en favor de nuestra sociedad tan urgida de acciones concretas que resuelvan los injustos padecimientos y proyecten el bienestar de las generaciones por venir.

Alirio Pérez Román
Presidente

nutricional de pacientes que iban a ser sometidos a cirugías programadas de patologías leves, en los cuales no era presumible que la patología hubiera provocado un serio compromiso nutricional, se aplicó una metodología estandarizada que incluyó indicadores antropométricos y bioquímicos para aquellos nutrientes cuya presencia puede ser marginal en individuos o grupos poblacionales y cuya deficiencia podría comprometer la evolución del paciente: proteínas, vitamina A y carotenos, vitamina C, calcio y hierro.

MATERIALES Y METODOS

Descripción de la población estudiada

Se estudio una población total de 80 pacientes en el Hospital Churrucá de la ciudad de Buenos Aires, a fin de ser intervenidos quirúrgicamente. Dicho hospital pertenece al sistema de salud que cubre al personal de la Policía Federal Argentina y a su grupo familiar. Los pacientes eran 39 hombres y 41 mujeres, con un rango de edad comprendido entre 18 y 83 años. Las patologías estudiadas fueron 29 hernias y 51 litiasis vesicular simple; las primeras correspondieron a hernias de pared abdominal que no presentaban complicaciones propias de esa enfermedad tales como atascamiento o estrangulamiento visceral. Los pacientes con diagnóstico de litiasis vesicular simple no presentaban signos o síntomas de infección en curso o ictericia, como signo de complicaciones de su enfermedad. Por las características de las patologías estudiadas ningún paciente requirió internación preoperatoria prolongada ni hidratación previa a la cirugía.

Muestras

Las muestras fueron obtenidas dentro de las 24 hs. previas a la intervención quirúrgica; se tomaron muestras de sangre con el paciente en ayunas y muestras de orina a fin de determinar los parámetros bioquímicos seleccionados. Se trabajó sobre muestras de sangre entera, suero, plasma y orina basal, que es la micción que se obtiene luego de descartar la primera orina de la mañana manteniendo el individuo ayuno líquidos y sólidos hasta su correlación (4). Las muestras se procesaron inmediatamente o se congelaron a -20°C hasta su análisis.

Indicadores bioquímicos utilizados

El estado nutricional con respecto a vitamina A, carotenos y vitamina C se evaluó utilizando como indicadores los niveles plasmáticos. Como puntos de corte se utilizaron las cifras de 20 $\mu\text{g/dL}$ para vitamina A (5), 40 $\mu\text{g/dL}$ para carotenos (6) y 0,4 mg/dL para vitamina C plasmática (7).

El estado nutricional respecto del calcio se evaluó a través del índice calcio/creatinina en orina basal (8) y se tomó un índice de 0,07 como límite por debajo del cual existe inadecuación nutricional (9).

El hierro se evaluó a través de la batería de indicadores que incluye hematocrito, hemoglobina, hierro sérico, % de

saturación de transferrina y protoporfirina eritrocitaria libre. Los valores de referencia utilizados para hombre y mujeres respectivamente fueron: hematocrito ≥ 40 y $\geq 35\%$; hemoglobina $\geq 13,5$ y $\geq 12,0$ g/dL ; hierro sérico 50-150 $\mu\text{g/dL}$; porcentaje de saturación de transferrina $\geq 16\%$ y protoporfirina eritrocitaria libre ≤ 70 $\mu\text{g/dL}$ de glóbulos rojos (10).

El estado nutricional con respecto a proteínas se evaluó mediante el índice nitrógeno ureico/creatinina, que determinado en muestras de orina basal brinda información sobre la ingesta proteica prevalente. Como referencia, se utilizó el valor de 4,8 que corresponde a la cifra de ingesta recomendada por FAO/OMS para adultos de 0,75 g/kg/día corregida por una digestibilidad del 90% (11). Además, se determinaron los niveles séricos de proteínas totales y de albúmina, transferrina, ceruloplasmina, haptoglobina y α_2 -macroglobulina; en una subpoblación de 44 pacientes se determinaron los niveles de prealbúmina y proteína transportadora de retinol (RBP) (12). Los valores de referencia utilizados fueron los usualmente aceptados (13): proteínas totales 6-8 g/dL , albúmina $\geq 3,5$ g/dL , transferrina 200-400 mg/dL ; las restantes se compararon con los valores de referencia de nuestro laboratorio: ceruloplasmina 44 ± 8 mg/dL , haptoglobina 123 ± 52 mg/dL , α_2 -macroglobulina 177 ± 44 mg/dL (14), prealbúmina $33,1 \pm 6,4$ mg/dL (15) y RBP $5,6 \pm 1,4$ mg/dL (16).

Métodos empleados

La evaluación antropométrica de los pacientes se realizó mediante el BMI (Body Mass Index o índice de Quetelet): peso/talla² (17).

La vitamina A plasmática se determinó por HPLC según el método de Bieri (18); los carotenos por lectura espectrofotométrica a 450 nm luego de su extracción con éter de petróleo previa desproteinización con etanol; la vitamina C plasmática fue determinada por el método de Roe (19) sobre plasma estabilizado con ácido tricloroacético al 5%.

El calcio fue determinado en orina basal por espectrofotometría de absorción atómica usando cloruro de lantano como supresor de interferencias (20).

El hematocrito se determinó por micrométodo estándar, la hemoglobina por formación de cianometahemoglobina, y de hierro sérico y el porcentaje de saturación de transferrina mediante kits comerciales (Wiener Argentina). Las protoporfirinas se determinaron por el método fluorométrico de Piomelli y se expresaron en $\mu\text{g/dL}$ de eritrocitos (21).

La concentración de nitrógeno ureico en orina basal se determinó mediante el método de la ureasa y la de creatinina por el método de Jaffé utilizando kits comerciales (Wiener Argentina). Las proteínas séricas específicas se determinaron por inmunodifusión radial cuantitativa sobre placas (Diffuplate y Behringwerke) y las proteínas totales mediante la reacción de Biuret.

Para cada paciente se elaboró una ficha que incluía datos personales y clínicos.

Análisis estadístico

Para la realización del análisis estadístico se utilizó el programa de computación InStat. Los estudios de comparación de medias o de medianas muestrales se realizaron mediante el test de Students y el test no paramétrico de Mann-Whitney respectivamente.

RESULTADOS

Parámetros antropométricos

BMI: El 31,8% de los pacientes se halló del rango de normalidad (BMI 20,1-25,0). Sólo 1 paciente, que representa el 1,2% de la población, presentó bajo peso (BMI \leq 20,0), encontrándose en cambio un 51,7% de individuos con sobrepeso (BMI 25,1-30,0) y un 15,3% con franca obesidad (BMI \geq 30,1).

Parámetros bioquímicos

Los resultados de los parámetros bioquímicos determinados se muestran en las Tablas 1, 2 y 3. En términos generales los indicadores analizados no mostraron dependencia con variables tales como sexo, edad y patología, por lo que los resultados que se muestran en las tablas corresponden al total de la población estudiada; cuando se hallaron diferencias entre grupos, éstas se puntualizan en el texto oportunamente.

En la Tabla 1 pueden observarse los resultados generales con respecto a vitamina A, carotenos, vitamina C y calcio.

TABLA 1

Indicadores de estado nutricional con respecto a vitamina A, carotenos, vitamina C y calcio

Parámetros	X \pm DS	Valores bajos
Retinol plasmático (mg/dL)	36,8 \pm 15,7	15,9% ^a
Carotenos plasmáticos (mg/dL)	95,6 \pm 42,5	4,9% ^b
Vitamina C plasmática (mg/dL)	0,59 \pm 0,29	26,7% ^c
Calcio/creatinina en orina basal	0,08 \pm 0,06	45,0% ^d

Se presentan las X \pm DS y el % de individuos con valores inferiores a los puntos de corte utilizados: a<20 mg/dL; b<40 mg/dL; c<0,4 mg/dL; d<0,07

Vitamina A

De acuerdo a los rangos tradicionales aceptados (20-49 μ g/dL), los niveles de vitamina A plasmática fueron adecuados en el 61% de los individuos. Un 15% presentó valores bajos (10-19 μ g/dL) y un 1% valores francamente deficientes (<10 μ g/dL). Un 23% de la población presentó valores altos (\geq 50 μ g/dL) aunque cercanos al límite superior normal. No se hallaron diferencias con las variables estudiadas.

Carotenos

Estos fueron adecuados en el 84% de los casos (40-150 μ g/

dL); un 5% presentó valores bajos y un 11% valores altos. Las mujeres presentaron valores más altos que los hombres aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (103,8 \pm 45,4 vs 86,6 \pm 36,6 μ g/dL; p=0,0642).

Vitamina C

Se obtuvieron valores adecuados en el 73% de los pacientes (\geq 0,40 mg/dL), valores indicativos de deficiencia marginal en el 15% (0,20-0,39 mg/dL), y cifras que reflejan deficiencia franca en el 12% (<0,20 mg/dL). Los valores hallados en las mujeres fueron significativamente más altos que los de los hombres (0,69 \pm 0,28 vs. 0,50 \pm 0,26 mg/dL, p=0,0015). También se hallaron diferencias, aunque menores, entre los pacientes con hernia o con litiasis vesicular (0,52 \pm 0,26 vs. 0,69 \pm 0,44 mg/dL, p=0,0431).

Calcio

Se obtuvieron valores bajos en el 45% de los casos (calcio/creatinina <0,07). Los pacientes con litiasis vesicular presentaron valores significativamente más bajos que los hallados en aquellos con hernia (0,073 \pm 0,043 vs. 0,104 \pm 0,070 respectivamente; p=0,0120). No se obtuvieron diferencias por sexo ni edad.

Hierro

Los resultados de los indicadores de estado nutricional respecto del hierro se presentan en la Tabla 2. Dada las diferencias en los valores de referencia para algunos de los parámetros estudiados, los resultados se analizaron agrupando a los pacientes por sexo.

TABLA 2

Indicadores de estado nutricional con respecto al hierro

Parámetros	Hombres		Mujeres	
	X \pm DS	Valores inadecuados	X \pm DS	Valores inadecuados
Hematocrito (%)	44,8 \pm 3,6	4,4%	40,1 \pm 3,6	7,0%
Hemoglobina (g/dL)	15,3 \pm 1,6	6,7%	13,5 \pm 1,6	11,6%
Hierro sérico (mg/dL)	1,10 \pm 0,30	2,3%	0,93 \pm 0,38	7,1%
Saturación de transferrina (%)	35,2 \pm 14,0	5,3%	29,7 \pm 13,5	11,9%
Protoporfirina eritrocitaria libre (FEP) (mg/dL g.r.)	37,5 \pm 21,4	7,9%	48,8 \pm 25,7	16,7%

Se presentan las X \pm DS y el % de individuos con valores inadecuados. Los puntos de corte utilizados para varones y mujeres respectivamente fueron: Hto <40% y <35%; Hb <13,5 g/dL y <12,0 g/dL; %ST <16%; FEP >70 mg/dL g.r.

En la población de hombres se obtuvieron valores bajos de hematocrito en el 4,4%, de hemoglobina en el 6,7%, de hierro sérico en el 2,3%, de saturación de transferrina en el 5,3% y valores altos de protoporfirina eritrocitaria libre en el 7,9%; dos individuos presentaron por lo menos dos parámetros alterados, condición aceptada para considerar deficiencia de

hierro, y otros dos un parámetro alterado y otro en el límite de la normalidad. En cuanto a las mujeres, se detectó mayor cantidad de individuos en riesgo, obteniéndose valores inadecuados de hematocrito en el 7,0%, de hemoglobina en el 11,6%, de hierro sérico en el 7,1%, de saturación de transferrina en el 11,9% y de protoporfirina eritrocitaria libre en el 16,7%. En este grupo se presentaron valores compatibles con deficiencia en por lo menos dos parámetros, en siete pacientes.

Cuando se compararon los niveles de aquellos parámetros que tienen el mismo valor de referencia para toda la población con respecto a las variables sexo, edad y patología, se obtuvieron diferencias significativas entre hombres y mujeres en los niveles de protoporfirinas eritrocitaria libre ($p=0,0387$) y de hierro sérico ($p=0,0234$); las diferencias obtenidas en saturación de transferrina no llegaron a ser significativas. No se obtuvieron diferencias por edad ni por patología en ninguno de los parámetros estudiados.

Proteínas

Los resultados se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3

Indicadores de estado nutricional con respecto a proteínas

Parámetros	X±DS	Valores bajos
Relación N ureico/creatinina	7,9±2,9	12,5% ^a
Proteínas totales (g/dL)	6,4±0,8	25,9% ^b
Albumina (g/dL)	3,1±0,8	71,6% ^c
Prealbumina (mg/dL)	26,0±9,5	52,3% ^d
Transferrina (mg/dL)	270±73,5	15,9% ^e
Ceruloplasmina (mg/dL)	51,0±17,4	13,4% ^f
RBP (mg/dL)	4,3±1,8	50,0% ^g
Haptoglobina (mg/dL)	154±71,1	7,5% ^h
α ₂ -macroglobulina (mg/dL)	175±63,4	24,7% ⁱ

Se presentan las X±DS y el porcentaje de individuos con valores inferiores a los puntos de corte utilizados: a <4,8; b <6,0 g/dL; c <3,5 g/dL; d <26 mg/dL; e <200 mg/dL; f <36 mg/dL; g <4,2 mg/dL; h <71 mg/dL; i <133 mg/dL. Las cifras d,f,g,h,i representan un desvío estándar por debajo de la media de los valores de referencia de nuestro laboratorio.

El índice nitrógeno ureico/creatinina fue adecuado en el 87,5% de los casos y no mostró diferencias significativas con las variables estudiadas.

Con respecto a las proteínas específicas determinadas, la albumina sérica fue baja en general ya que el 71,6% de los pacientes presentó valores inferiores a 3,5 g/dL. Los valores bajos se distribuyeron homogéneamente en la población, no mostrando dependencia con las variables estudiadas.

La prealbumina arrojó valores significativamente más bajos que los de referencia ($p<0,0001$), con un 52% de individuos por debajo del punto de corte. Se obtuvieron diferencias significativas entre pacientes con hernia y con litiasis vesicular (29,9±8,2 vs. 22,8±9,3 mg/dL respectiva-

mente, $p=0,0110$); los valores bajos se presentaron en el 30% de los pacientes con hernia y en el 70% de los pacientes con litiasis vesicular.

La transferrina presentó valores en general adecuados, con un 15,9% de población por debajo de 200 mg/dL y no mostró dependencia con las variables estudiadas.

La ceruloplasmina presentó diferencias altamente significativas, obteniéndose valores más altos que los de referencia en los pacientes quirúrgicos ($p=0,0021$). Se obtuvieron además, importantes diferencias entre hombres y mujeres (43,3±11,4 vs. 58,0±18,9 mg/dL respectivamente; $p<0,0001$), no hallándose diferencias por edad ni patología.

Respecto de los niveles séricos de RBP, la media muestral fue significativamente más baja que la de referencia ($p=0,0096$) y los valores bajos, que en total representaron un 50%, fueron más frecuentes en los pacientes con litiasis vesicular (67%) que en los pacientes con hernia (30%); (3,8±1,7 vs. 4,9±1,7 mg/dL, $p=0,0385$).

La haptoglobina presentó valores significativamente más altos que los de referencia ($p=0,0049$) sin mostrar dependencia con las variables estudiadas.

Los resultados de α₂-macroglobulina arrojaron una media muestral muy similar a la de referencia aunque el 24,7% de los valores fueron inferiores al punto de corte. No se hallaron diferencias por sexo, edad o patología.

DISCUSION

La prevalencia de deficiencia nutricional en pacientes quirúrgicos ha sido bien documentada no sólo en los países donde la malnutrición es un problema prevalente sino también en Estados Unidos y otros países desarrollados (1,22).

La presencia de malnutrición en adultos es habitualmente evaluada por parámetros antropométricos, fundamentalmente peso corporal bajo, diferentes formas de expresión, algunas veces combinado con test de laboratorio y apreciaciones clínicas realizadas sin que el diagnóstico del estado nutricional sea el objetivo específico (22).

En este estudio la adecuación energética se estableció sobre la base del peso corporal expresado como BMI. La población estudiada no presentó deterioro del mismo sino que por el contrario se observó una franca tendencia al sobrepeso y aún a la obesidad. Este elemento de juicio es utilizado en la práctica como de descarte, partiendo de la hipótesis de que si el peso se halla conservado no es dado esperar deficiencias nutricionales; ello no fue confirmado por nuestros resultados, ya que peso dentro de rangos normales, o aún sobrepeso, no garantizaron un buen estado nutricional general.

En cuanto a las proteínas, los resultados obtenidos a través del índice nitrógeno ureico/creatinina indican que la ingesta proteica fue, en general, adecuada. Es de destacar que el escaso número de pacientes que presentó valores bajos de este indicador, presentó a su vez deficiencia de otros de los nutrientes estudiados; de los diez pacientes con deficiente ingesta proteica

nueve presentaban deficiencia de calcio, cinco también de hierro, tres de vitamina A y tres de vitamina C. Este resultado es coherente con lo esperado para poblaciones como la estudiada, cuyos hábitos alimentarios son los característicos de la Argentina, en las que una baja ingesta de proteínas es usualmente consecuencia de una baja ingestión de alimentos en general.

De las proteínas séricas específicas estudiadas, la albúmina fue la que presentó mayor deterioro hallándose baja en el 72% de los pacientes; además, el 43% se encontró por debajo de 2,8 g/dL, cifra que la bibliografía cita como límite por debajo del cual se incrementa el riesgo quirúrgico (13). También se vieron muy afectadas prealbúmina y RBP con aproximadamente un 50% de pacientes con valores bajos. El descenso de la albúmina, ampliamente documentado en el paciente quirúrgico (23-25), podría obedecer a causas no estrictamente nutricionales; esta proteína, cuya vida media es de 14-20 días, sólo debería hallarse disminuida después de un período de deficiencia proteica suficiente para haberse visto reflejada en el índice nitrógeno ureico/creatinina, como así también en proteínas específicas de menor vida media, lo cual no se verificó. Además, está documentado que el estrés provoca un desplazamiento de la albúmina intravascular al espacio extravascular que da por resultado una caída transitoria de los niveles séricos (13). Por el contrario, los valores bajos de RBP y prealbúmina, cuyas vidas medias son muy cortas, 12 y 48 hs. respectivamente, podrían responder a la situación de internación y pérdida de apetito que a menudo la acompaña; también está demostrado que son altamente dependientes del estrés (13).

Los valores de transferrina, α_2 -macroglobulina, ceruloplasmina, haptoglobina no mostraron deterioro; por el contrario éstas dos últimas presentaron valores superiores a los de referencia. Debe tenerse en cuenta que la síntesis de varias de estas proteínas dependen a su vez de la presencia de otros nutrientes; tal es el caso de transferrina y hierro, ceruloplasmina y cobre, RBP y vitamina A. En este último caso se verificó en este trabajo que los valores de RBP muy bajos, inferiores a dos desvíos estándar por debajo de la media de referencia, sólo se encontraron en pacientes cuyos niveles de vitamina A plasmática era inferiores a 20 μ g/dL.

Con respecto al estado nutricional de vitamina A la población se halla en el límite de lo aceptable, con casi un 16% de individuos con valores bajos; está estipulado que cuando el 15% de una población presenta valores plasmáticos bajos o el 5% se encuentra con valores deficientes, existe un problema de salud pública en dicha población (5).

En cuanto a los carotenos, si bien no son considerados como vitamina, cierto tipos de carotenos con un anillo de β -ionona son capaces de transformarse en vitamina A en el organismo. Actualmente se les da además una gran importancia por su participación en los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo, función que comparte con la vitamina C. El estado nutricional de la población es adecuado y la tendencia a que las mujeres presenten niveles plasmáticos más altos que

los hombres coincide con lo hallado por otros autores, que describen que los carotenos séricos son altamente dependientes de la ingesta, pero a iguales ingesta las mujeres alcanzan valores más altos que los hombres (6).

El estado nutricional de la población respecto de la vitamina C presentó una prevalencia de déficit del 27%. Con respecto a las diferencias halladas entre hombres y mujeres, éstas podrían atribuirse a diferencias en la dieta consumida; sin embargo, existen evidencias de que las mujeres alcanzan niveles plasmáticos sistemáticamente más altos que los hombres con la misma ingesta de vitamina C y que ello ocurre a diferentes niveles de ingesta, aún en individuos que consumen suplementos (7). Garry y col. consideran que ello responde a diferencias entre los requerimientos de hombres y mujeres y que debería ser tenido en cuenta a la hora de fijar cifras de ingesta recomendadas (26). En nuestra población no podemos atribuir la diferencias obtenidas a una u otra causa dado que no conocemos las ingesta de vitamina C de los pacientes, pero corresponde destacar que las diferencias halladas fueron altamente significativas ($p=0,0015$).

La participación de las vitaminas A y C en la regeneración de los tejidos y en los procesos de cicatrización alerta sobre las implicancias que estas deficiencias podrían acarrear al paciente. Tal vez es importante destacar que ambas deficiencias coincidieron en un escaso número de pacientes. En cuanto al calcio, la alta prevalencia de deficiencia hallada en este estudio coincide con la tendencia general observada en otras poblaciones del país (27).

Con respecto al hierro, el estado nutricional de la población es en general aceptable. Los resultados obtenidos muestran un gradiente de detección de individuos en riesgo acorde a la sensibilidad del parámetro utilizado. Las mujeres presentan aproximadamente el doble de valores compatibles con deficiencia que los hombres, lo que es habitual ya que constituyen un grupo vulnerable.

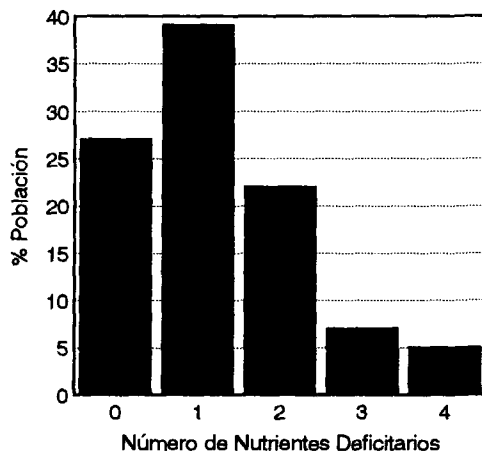
De los trece parámetros estudiados ninguno mostró diferencias por edad cuando se agrupó a los pacientes en mayores y menores de 45 años. Sólo un escaso número de indicadores mostró diferencias por sexo: ceruloplasmina, vitamina C, hierro y carotenos, que han sido discutidos anteriormente. Con respecto a la patología sólo se obtuvieron diferencias entre los pacientes con hernia y con litiasis vesicular en calcio, vitamina C, prealbúmina y RBP. En los dos primeros casos las modificaciones podrían obedecer a las recomendaciones médicas dietéticas apropiadas; la disminución de prealbúmina y RBP en la litiasis vesicular podría sugerir un compromiso en la síntesis hepática, aunque ello no permitiría explicar que el resto de las proteínas no se vieran afectadas. El análisis conjunto de estas variables pone de manifiesto que en la población estudiada la edad, el sexo y la patología no afectaron en forma relevante el estado nutricional.

Cuando se analizó cada uno de los nutrientes por separado los resultados obtenidos apoyaron la hipótesis de que la población sometida a este tipo de cirugía no tenía razones para

un severo compromiso nutricional. Sin embargo, cuando se analiza por paciente, el análisis global del perfil bioquímico nutricional previo a la intervención quirúrgica arrojó los resultados que se esquematizan en la Figura 1. En ella se muestra el porcentaje de población según el número de nutrientes deficitarios identificados: proteínas, calcio, hierro, vitamina A, carotenos, vitamina C.

FIGURA 1

Distribución de la población según el número de nutrientes deficitarios identificados



Se presenta el porcentaje de población según el número de nutrientes deficitarios identificados mediante indicadores bioquímicos de estado nutricional con respecto a proteínas, vitamina A, carotenos, vitamina C, calcio y hierro.

La deficiencia proteica se estableció en base a la información proporcionada por el índice nitrógeno ureico/creatinina. La primera barra corresponde a los pacientes que no revelaron deficiencia de ningún nutriente (27%); a partir de allí se observa un gradiente que va desde el 39% de la población con una única deficiencia específica hasta el 5% con cuatro nutrientes deficitarios. Merece destacarse que si a los nutrientes deficitarios identificados mostrados en la figura se suman las proteínas séricas específicas alteradas, sólo unos pocos casos (7%) revelaron un perfil bioquímico nutricional óptimo con todos los parámetros estudiados dentro de los valores de referencia.

En consecuencia, debemos concluir que en esta población de aparente bajo riesgo y sin deterioro de peso se hallaron deficiencias específicas de nutrientes cuya importancia en la evolución postquirúrgica no puede ser descartada.

Este trabajo, cuyo objetivo fue realizar un diagnóstico de situación del estado nutricional del paciente de bajo riesgo, continuará con el estudio de la relación entre los resultados obtenidos en el mismo y la presencia o ausencia de complicaciones quirúrgicas, a fin de seleccionar aquellos parámetros

que por guardar mayor correlación con la evolución postquirúrgica pudiera ser incluidos en una rutina preoperatoria.

REFERENCIAS

1. Campos ACL & Meguid MM. A critical appraisal of the usefulness of perioperative nutritional support. *Am J Clin Nutr* 1992;55:117-130.
2. Bando H, Dib E, Fioscca S, Szymula C. Frecuencia de complicaciones postoperatorias según el estado de nutrición. *Noveno Congreso Argentino de Nutrición*, 1986, Abs 25.
3. Martino FE, Martino G, Alal A, Martino D. Validación del índice de pronóstico nutricional en cirugía geriátrica. *Rev Nutr Clin* 1992;1:126-128.
4. Arroyave G, Jansen AAJ, Torrico M. Razón nitrógeno ureico/creatinina como indicador del nivel de ingesta proteica. I. Efecto de la ingesta de agua sobre la excreción basal de urea y creatinina de niños con estados nutricionales deferentes. *Arch Latinoam Nutr* 1966;15:203.
5. Underwood B. Methods for assessment of vitamin A status. *J Nutr* 1990;120:1459-1463.
6. Bendich A, Olson JA. Biological actions of carotenoids. *FASEB J* 1989;3:1927-1932.
7. Jacob RA. Assessment of human vitamin C status. *J Nutr* 1990;120:1480-1485.
8. Portela ML, Río ME, Zeni S. Utilización de la relación calcio/creatinina urinaria como indicador del estado nutricional con respecto al calcio. *Arch Latinoam Nutr* 1983;33:633-641.
9. Portela ML, Calandri C, Zeni S, Río ME. Valores normales de la relación calcio/creatinina en mujeres adultas. *Medicina Abs* 171, 1985;45:379-380.
10. Dallman PR. Iron. In: Present knowledge in nutrition. 6th edition, International Life Sciences Institute, Nutrition Foundation, Washington DC. 1990;241-253.
11. Closa SJ, Cosarinsky RC, Río ME. Urea nitrogen/creatinine ratio: nomograms to select values for safe levels of protein intake. *Nut Rep Int* 1984;30:919-927.
12. Slobodianik NH. Proteínas plasmáticas específicas: su utilidad en estudios de nutrición. *Rev Soc Arg Nutr* 1993;4:37-40.
13. Gibson RS. Assessment of protein status. In: Principles of Nutritional Assessment. Oxford University Press, New York 1990;307-348.
14. Feliu MS, Slobodianik NH. Valores de referencia de fracciones séricas específicas en adultos. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 1993;27:519-526.
15. Fernández Inés, Slobodianik NH. Determinación de valores normales de fracciones séricas lábiles, de utilidad en estudios de nutrición. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 1990;24:337-343.
16. Weisstaub A, Feliu MS, Slobodianik NH. Valores de referencia de proteína transportadora de vitamina A (RBP), en adultos. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 1994;28:447-448.
17. Gibson RS. Anthropometric assessment of growth. In: Principles of Nutritional Assessment. Oxford University Press, New York. 1990;163-186.
18. Bieri JG, Tolliver TJ, Catignani GL. Simultaneous determination of α -tocopherol and retinol in plasma or red cells by high pressure liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* 1979;32:2143-2149.

19. Roe JH, Kuether CA. The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid. *J Biol Chem* 1943;147:399-403.
20. Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. Perkin Elmer Corporation. Norwalk CT, 1971.
21. Piomelli S, Young P, Gay G. A micromethod for free erythrocyte porphyrins: the FEP test. *J Lab Clin Med* 1973;81:932-940.
22. Tucker HN, Miguel SG. Cost containment through nutrition intervention. *Nutr Rev* 1996;54:111-121.
23. Buzby GP, Mullen JL, Matthews DC, Hobbs CL, Rosato EF. Prognostic nutritional index in gastrointestinal surgery. *Am J Surg* 1980;139:160-167.
24. Buzby GP, Williford WO, Peterson OL, Crosby LO, Page CP, Reinhardt GF, Mullen JL. A randomized clinical trial of total parenteral nutrition in malnourished surgical patients: the rationale and impact of previous clinical trials and pilot study on protocol desing. *Am J Clin Nutr* 1988;47:357-365.
25. Halliday AW, Benjamin IS, Blumgart LH. Nutritional risk factors in major hepatobiliary surgery. *JPEN* 1988;12:43-48.
26. Garry PJ, Goodwin JS, Hunt WC, Gilbert BA. Nutritional status in a healthy elderly population: vitamin C. *Am J Clin Nutr* 1982;36:332-339.
27. Zeni SN, Portela ML. Estado nutricional con respecto al calcio en la Argentina. *Arch Latinoamer Nutr* 1988;38:209-218.

Recibido: 12-06-1997

Aceptado: 28-01-1999

Estado nutricional del hierro de gestantes adolescentes, São Paulo, Brasil

Elizabeth Fujimori, Ida María Vianna de Oliveira, Luz Marina Núñez de Cassana, Sophia Cornbluth Szarfarc

Departamento de Enfermería en Salud Colectiva y Departamento de Nutrición de la Universidad de São Paulo, Brasil

RESUMEN. La frecuencia de anemia, deficiencia de hierro y reserva orgánica de hierro fueron evaluadas en 155 adolescentes de condiciones socioeconómicas precarias, atendidas en su prenatal en una maternidad de beneficencia de la ciudad de São Paulo, Brasil. Según criterio OMS (Hb < 11 g/dL), 14,2% de las ellas fueron anémicas. Por porcentaje de saturación de transferrina y la concentración de zinc protoporfirina, fueron hierro deficientes 45,8% y 42,6% respectivamente. La reserva orgánica de hierro foi insuficiente (ferritina sérica < 12 µg/L) para el 48,4% de las adolescentes. Los resultados revelaran que el estado nutricional de hierro de las adolescentes son característicos de un grupo sin reserva de hierro pregestacional. No obstante esta baja frecuencia de anémicas, la elevada proporción de hierrodeficientes y hierrodepletadas sugiere la práctica del control de deficiencia de hierro, así como la suplementación medicamentosa como rutina de pre natal gestantes adolescentes.

Palabras clave: Embarazada adolescente, anemia, hierro, deficiencia de hierro, reserva de hierro.

SUMMARY. Iron nutritional status in pregnant adolescents, São Paulo, Brazil. The frequency of anemia, iron deficiency and iron body stores was assessed in 155 pregnant teenagers of low socioeconomic status in a prenatal care unit of a beneficent hospital in São Paulo, Brazil. By the criterion of the World Health Organization (Hb < 12 g/dL) 14,2% of the pregnant adolescents had anemia. The iron deficiency diagnostic by saturation of transferrin < 16% and zinc protoporphyrin concentration > 60 (mol/mol heme were 45,8 and 42,6%, respectively. The iron body store (serum ferritin < 12 µg/L) was depleted for 48,4% of adolescents. It is concluded that the iron nutritional status of these adolescents were characteristics of the pregravidic inadequate iron store. Despite low percentage of the anemia, the high frequency of iron deficiency and depleted iron stores suggest a practical procedure to detect iron deficiency and the use of iron supplementation in teenagers.

Key words: Adolescent pregnancy, anemia, iron, iron nutritional deficiency, body iron stores.

INTRODUCCION

Aunque los múltiples factores biológicos y sociales interfieran en la calidad de la gravidez y consecuentemente en el resultado de la gestación, el estado nutricional de la adolescente grávida constituye un determinante fundamental en la salud del binomio madre-hijo (1,2). En relación al mineral hierro, el crecimiento acelerado y las pérdidas menstruales que se inician irregularmente en la adolescencia, demandan mayor necesidad orgánica del mineral (3). Si sumamos a esto la elevada necesidad de hierro para el enfrentamiento de la gestación, aumenta aún más los requerimientos diarios, los cuales difícilmente pueden ser suprimidos únicamente a través de la alimentación diaria (4). Así, en la adolescente grávida, a la necesidad ya aumentada por la demanda del crecimiento del organismo joven, se suma la necesidad de hierro relacionada al proceso gestacional, factores que combinados aumentan la probabilidad de riesgo para la instalación de un cuadro de deficiencia de hierro, siendo aún mayor si no cuenta con depósitos de reserva (1,5).

La anemia es perjudicial tanto para la gestante como para su hijo, ésta ha sido asociada con el mayor riesgo de morbimortalidad materno-fetal (4). Una gestante anémica, además

de la necesidad de mayor esfuerzo cardíaco para mantener el aporte adecuado de oxígeno a la placenta y células fetales, tiene menor capacidad de trabajo físico y mental, se cansa fácilmente, presenta mayor riesgo a las infecciones y una menor tolerancia a la pérdida de sangre en el parto, (1,6-9). En relación al recién nacido, cuando los niveles de hemoglobina maternos son bajos, hay una disminución del abastecimiento de oxígeno que favorece la hipoxia fetal, hecho asociado a la mayor insidencia de óbitos neonatales y perinatales, pérdidas fetales, prematuridad y bajo peso al nacer (7,9,10).

Sin embargo, la mayoría de los estudios solamente evalúan la ocurrencia de anemia (11-16), y son muy pocos los que abordan la deficiencia de hierro en gestantes adolescentes (5,17,18). Teniendo esto en consideración y todo lo anteriormente señalado, el presente caracterizó la situación nutricional del hierro de un grupo de adolescentes embarazadas, utilizando diversos parámetros hematológicos.

MATERIAL Y METODO

Sujetos: El estudio se realizó en 155 adolescentes embarazadas de 13 a 19 años de edad que hicieron su pre-natal en una maternidad de beneficencia de la ciudad de São Paulo, Brasil,

de julio a octubre de 1993. Las características socioeconómicas y biológicas (19) y nutricionales (20) fueron previamente descritas. La Tabla 1 muestra algunas de las características generales importantes.

TABLA 1
Características socioeconómicas

Características	n (%)
Ingreso per cápita (SMV)*	
sin ingreso	21(17,2)
0,1 - 0,99	35(28,7)
1,0 - 1,99	42(34,4)
2,0 y más	24(19,7)
Situación conyugal	
conviviente	81(52,3)
soltera	12(7,7)
casada	62(40,0)
Escolaridad	
analfabeta	1(0,6)
1 - 4	21(13,6)
5 - 7	101(65,2)
8 y más	32(20,6)

*SMV = Salario Mínimo Vital (US\$ 88,20)

TABLA 2
Características biológicas

Características	x±s
Edad (años)	17,2±1,44
Estatura (cm)	157±6,29
Peso pre-gestacional (kg)	53,9±7,90
Edad menarquia (años)	12,6±1,51
Edad gestacional en entrevista (semanas)	15,1±1,90
Edad gestacional en entrevista (semanas)	23,6±9,72

Mediciones bioquímicas: Para caracterizar el estado nutricional de hierro de las adolescentes, se obtuvo una muestra de sangre venosa según recomendaciones de INACG (1985) (21). Así, fueron realizados los siguientes dosajes hematológicos: ferritina sérica (FS) por la técnica inmunoradiométrica (22), zinc protoporfirina (ZPP) en hematofluorómetro (23), hierro sérico (FeS) y la capacidad de ligación del hierro (TIBC) por el método calorimétrico, usando kit específico (24,25) y el nivel de concentración de hemoglobina (Hb) por el método calorimétrico de la cianometahemoglobina.

Definiciones: Se evaluó, según INACG (21), los tres estadios nutricionales de hierro. La deplección férrica fue detectada por la ferritina sérica (SF) inferior a 12µg/L (26). El segundo estadio, la eritropoieses ferropriva o deficiencia de hierro latente fue caracterizada por la saturación de transferrina (ST), calculada a partir de la relación FeS/TIBC x 100, con

niveles críticos a menos de 16% de saturación (27) y zinc protoporfirina (ZPP) mayor que 60µmol/mol de heme (23). Utilízose además, separadamente, los valores de hierro sérico (FeS) menor que 50µg/dl (28) y capacidad de ligación del hierro (TIBC) mayor que 360µg/dl (29). La anemia, el último estadio de la deficiencia de hierro fue caracterizada por los niveles de concentración de hemoglobina (Hb) inferior a 11 g/dL como fuera propuesto por la OMS (28) para embarazadas.

Análisis estadísticos: Los valores de FS y ZPP fueron convertidos en logaritmos para análisis estadísticos y los resultados fueron reconvertidos en antilogaritmos para la obtención de la unidad original (30). La mayoría de los resultados son presentados en promedios (x) y desviación standard (s), pero los resultados de FS y ZPP son presentados en promedios geométricos (xG) y error standard (es). Para comparar los promedios entre los grupos se usó el teste t Student, análisis de varianza y la chi-cuadrado con la prueba de Yates corregido calculados usando el software EpiInfo Versión 5.031, con un nivel de significancia de por lo menos 95%.

RESULTADOS

Los promedios de los parámetros hematológicos que caracterizan el estado nutricional del hierro de las adolescentes embarazadas, según trimestre gestacional, se muestran en la Tabla 3. Se puede observar que los promedios de FS, porcentaje de ST, FeS y Hb descienden significativamente durante la gestación, de la misma forma que la concentración de ZPP y TIBC aumentan, conducta que indica que el agotamiento de la reserva de hierro, la deficiencia de hierro y/o anemia ferropriva tienden a acentuarse durante el proceso gestacional de las adolescentes. Las estadísticas mostraron diferencias significativas del primer al segundo trimestre para FS, TIBC y Hb, mientras que del segundo al tercer trimestre la diferencia fue significativa para todos los parámetros hematológicos estudiados a excepción de la FS.

La Tabla 4 muestra la proporción de embarazadas según los estadios de deficiencia de hierro por trimestre gestacional. Así 25% de adolescentes iniciaron su gestación ferodepletadas, situación que se torna más grave en el transcurso del proceso gestacional, pasando a afectar a casi 2/3 de las gestantes en el tercer trimestre. Cerca de la mitad del total de las gestantes presentaron deficiencia de hierro según los valores hematológicos utilizados en este estudio (ST y ZPP), verificándose que la proporción de adolescentes ferodeficientes en el tercer trimestre fue significativamente mayor en relación al primer e segundo trimestres. No obstante, de detectarse proporciones muy divergentes, para el FeS y el TIBC estos también se agravaron, con diferencias significativas en todos los trimestres. La proporción de adolescentes anémicas aumentó de 6,2% en el primer trimestre para 16,4% en el tercer trimestre.

TABLA 3
Valores hematológicos del estado nutricional de hierro, según trimestre gestacional

Trimestre gestacional	FS ² (µg/dl)*	ZPP ² (µmol/mol heme)*	Transferrina (%)	FeS (µg/dl)	TIBC (µg/dl)	Hb (g/dl)
1er	47,0±5,2	53,6±1,45	24,1±12,0	83,8±43,0	349,8±38,4	13,2±1,4
2do	18,6±4,8 ^a	56,9±1,44	19,7±10,2	75,5±36,3	395,8±52,8 ^a	12,4±1,3 ^a
3er	11,7±3,8 ^a	69,8±1,44 ^{a,b}	15,0±11,9 ^{a,b}	63,3±44,7 ^{a,b}	452,5±60,3 ^{a,b}	11,9±1,2 ^{a,b}

1. Promedio ± error estándar.

2. Promedio geométrico ± error estándar.

a p < 0,05 comparado al primer trimestre

b p < 0,05 comparado al segundo trimestre

TABLA 4
Porcentaje de adolescentes con valores anormales de los parámetros hematológicos de hierro, según trimestre gestacional

Trimestre gestacional	FS ² n (%)	ZPP ² n (%)	Transferrina n (%)	FeS n (%)	TIBC n (%)	Hb n (%)
1er	8(25,0)	9(28,1)	6(18,8)	3(9,4)	12(37,5)	2(6,2)
2do	30(48,4) ^a	21(33,9)	24(38,7)	17(27,4) ^a	46(74,2) ^a	10(16,1)
3er	37(60,6) ^a	36(59,0) ^{a,b}	41(67,2) ^{a,b}	28(45,9) ^{a,b}	56(91,8) ^{a,b}	10(16,4)
TOTAL	75(48,4)	66(42,6)	71(45,8)	48(31,0)	114(73,5)	22(14,2)

a p < 0,05 comparado al primer trimestre

b p < 0,05 comparado al segundo trimestre

DISCUSION

Considerando la importancia del uso de múltiples indicadores para evaluar el estado nutricional del hierro en el organismo, especialmente en gestantes adolescentes, en el presente estudio, la deficiencia de hierro fue evaluado en sus tres etapas: depleción de los depósitos de hierro, eritropoyesis ferropriva o deficiencia de hierro latente y anemia ferropriva (32).

La deplección férrica caracterizada por el agotamiento de las reservas de hierro con mantenimiento de la eritropoyesis y sin ninguna manifestación clínica constituye el estadio diagnosticado por la FS. La FS es una proteína de alto peso molecular encontrada principalmente en el citoplasma de las células del sistema retículoendotelial, su concentración es directamente proporcional al hierro circundante en sangre, así, su descenso indica a la vez que el hierro orgánico total también esta disminuido. Según el punto de corte adoptado (FS < 12µg/L), la proporción de adolescentes con deplección férrica en el primer trimestre gestacional (25,0%) fue superior al observado por Hertrampf et al (18), en embarazadas adolescentes al inicio de la gestación cuando utilizó punto de corte FS < 10µg/L pero inferior utilizando FS < 20µg/L. También, la deplección férrica aumentó en el transcurso de la gestación, afectando a 60,6% de la población en el tercer trimestre,

proporción menor de los 78,0% verificados por Gadowsky et al (5) en adolescentes canadienses evaluadas en el último mes de gestación, confirmando una vez más que el feto y la necesidad de la expansión de la volemia, además del crecimiento del útero y anexos parásitan el organismo materno en relación al hierro, haciendo que la necesidad gravídica del mineral sea en parte suprimida a costas de la depleción de la reserva de la madre (33).

La segunda etapa, eritropoyesis ferropriva o deficiencia de hierro latente, surge a partir del momento en que las reservas de hierro están agotadas (34). En esta fase el nivel de hierro sérico, y el porcentaje de ST tienden a caer, mientras las tasas de TIBC y ZPP aumentan, indicando ya sufrimiento en la síntesis de glóbulos rojos por falta del mineral en la médula ósea. Analizando aisladamente, los niveles de FeS y TIBC, estos presentaron el mismo comportamiento verificado por Romslo et al (35) y Lamparelli et al (36) en gestantes adultas no suplementadas. Si se considera la gran variación fisiológica que muestran estos parámetros durante la gestación, el porcentaje de ST sería de mayor utilidad en el diagnóstico de la deficiencia de hierro conjuntamente con ZPP (32). En el presente estudio el diagnóstico concomitante de la ST Y ZPP muestran que una proporción relativamente elevada de adolescentes se tornan ferro deficientes, notándose un cuadro de deficiencia progresiva, a medida que la gestación avanza. No

obstante no tener estudios de esta magnitud con adolescentes, resultados en gestantes adultas son similares a nuestros datos (35-38).

Según criterio de la OMS ($Hb < 11$ g/dL), 14,2% de las adolescentes presentaron anemia ferropriva. En Brasil, los pocos estudios puntuales realizados (13,14,17,39) muestran frecuencias muy variadas. Guerra (14) verificó proporción similar de anemia en gestantes adolescentes de primera consulta pre-natal. Szarfarc (39), a su vez, encontró 36,6% de prevalencia de anemia entre embarazadas menores de 20 años atendidas en los servicios básicos de salud de 15 localidades del Estado de São Paulo, con variación que van de 2,7 a 80,5%. También Nogueira (17) relata proporción de 35,0% de anemia en adolescentes al inicio de la gestación, atendidas en una maternidad pública de la Región más desfavorecida de Brasil. Batista F^o et al (13) revisando los estudios que evalúan la ocurrencia de anemia en gestantes adolescentes en Brasil infieren prevalencias en torno de 35,0%, a pesar de las considerables variaciones encontradas en los diferentes estudios. Dichos autores señalan que tales variaciones puedan deberse a problemas de muestreo de población, muestra de material biológico o de técnica laboratorial. Además de estas consideraciones, se debe mencionar que muchos de los estudios no señalan la edad gestacional en que fue realizado el examen laboratorial, dato que afecta substancialmente la ocurrencia de anemia, dificultando las comparaciones.

No obstante la baja proporción de anemia encontrada en el presente estudio, se evidencia que su instalación se suscita a medida que transcurre la gestación y la prevalencia aumenta considerablemente del primer al segundo trimestre en más de dos veces. Sin embargo, debe considerarse también la elevada proporción de adolescentes ferodepletadas (48,4%) y ferro deficientes (44,2%). No obstante que la concentración de Hb es un indicador que responde rápidamente a los cambios de la reserva de hierro, su evolución en el proceso gestacional depende mucho de la reserva de hierro pre-gestacional de la mujer (40).

CONCLUSIONES

Los valores de los parámetros laboratoriales estudiados en los diferentes trimestres gestacionales revelan que el estado nutricional de hierro de la muestra de gestantes adolescentes son inadecuados, valores característicos de un grupo sin reserva de hierro pre-gestacional. Si se considera que, idealmente toda mujer debiera llegar al embarazo con sus depósitos de hierro repletos y en adelante seguir solamente con un manejo profiláctico, para este grupo se hace necesario suplementación medicamentosa con hierro durante todo el embarazo.

A partir del conocimiento de los valores de los diferentes dosajes hematológicos se resalta también la necesidad de incluir en la rutina del prenatal general y de adolescentes en especial, además de la determinación de la concentración de

hemoglobina, otros parámetros laboratoriales como nivel de ferritina sérica y porcentaje de saturación de la transferrina para el diagnóstico del estado nutricional del hierro.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico - CNPq (n° 400788/91-8) por el financiamiento concedido y la colaboración técnica de Alessandra Rocha Lima, Bolsista de Iniciación Científica del Programa Institucional de Bolsas de Iniciación Científica del Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico-PIBIC/CNPq.

REFERENCIAS

1. Worthington-Roberts B & Endres J. Nutrition management of adolescent pregnancy: the technical support paper. *J Am Diet Assoc* 1989;89:105-9.
2. Position of the American Dietetic Association: nutrition management of adolescent pregnancy. *J Am Diet Assoc* 1989;89:10.
3. Dallman PR, Siimes MA, Stekel A. Iron deficiency in infancy and childhood. *Am J Clin Nutr* 1980;33:86-118.
4. World Health Organization. *Prevention and management of severe anemia in pregnancy: report of technical working group*. Geneva. WHO/MHS/SMP 1991.
5. Gadowsky SL, Gale K, Wolfe AS, Jory J, Gibson R, O'Connor DL. Biochemical folate, B12, and iron status of a group of pregnant adolescents accessed through the public health system in Ontario, Canada. *J Adolesc Health* 1995; 16:465-74.
6. McFee JG. Anemia: a high-risk complication of pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1973;16:153-71.
7. Klebanoff M, Shiono P, Selby J, Trachtenberg A, Graubard B. Anemia and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:59-63.
8. Scholl TO, Hediger ML, Fischer RL, Shearer JW. Anemia vs iron deficiency: increased risk of preterm delivery in a prospective study. *Am J Clin Nutr* 1992; 55:985-8.
9. Largaia M, San Pedro M, Lujan. Mortalidad fetal y mortalidad neonatal según patología asociada. *Rev Hosp Inf Ramón Sardá* 1993; 12:40-2.
10. Agarwal K, Agarwal D, Mishra K. Impact of anaemia prophylaxis in pregnancy on maternal haemoglobin, serum ferritin & birth weight. *Ind J Med Res* 1991;94: 277-80.
11. Cabral ACV, Peixoto RML, Miranda SP, Vieira E. Gravidez e adolescência. *J Bras Gynecol* 1985; 95:251-3.
12. Mathias L, Nestarez JE, Kanas M, Neme B. Gravidez na adolescência. IV - Idade limite de risco reproductivo entre adolescentes. *J Bras Gynecol* 1985; 95:141-3.
13. Batista F^o M, Esquivel, IM, Ribeiro, FSN. Anemia em adolescentes gestantes no Brasil. In: *Coletânea sobre Saúde reproductiva do adolescente brasileiro*. Brasília, 1988. p.121-6.
14. Guerra EM. Prevalência de anemia em gestantes de primeira consulta em Centros de Saúde do Estado no Subdistrito de Paz do Butantã, Município de São Paulo. [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1989.

15. Lopez A, Schor N, Siqueira AA. Gravidez na adolescência: estudo comparativo. *Rev Saúde Públ* 1989;23:473-7.
16. Szarfarc SC, Stefanini ML, Lerner B. Anemia nutricional no Brasil. *Cad Nutr* 1995;9:5-24.
17. Nogueira NN. Estudo comparativo sobre os efeitos da suplementação com ferro (diferentes concentrações), ácido fólico e zinco no estado nutricional de adolescentes grávidas e seus conceitos. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1997.
18. Herframpf E, Olivares M, Letelier A, Castillo C. Situación de la nutrición de hierro en la embarazada adolescente al inicio de la gestación. *Rev Med Chile* 1994; 122:1372-77.
19. Fujimori E, Oliveira IMV, Nuñez de Cassana LM, Szarfarc SC. Estado nutricional de gestantes adolescentes em São Paulo, Brasil. *Arch Latinoamer Nutr* 1997;97:305-10.
20. Fujimori E, Oliveira IMV, Lima AR, Nuñez de Cassana LM, Szarfarc SC. Perfil socioeconômicos y biológicos de embarazadas adolescentes de una maternidad de beneficencia em São Paulo, Brasil. *Cuad Med Soc* 1997;38:97-102.
21. International Nutritional Anemia Consultative Group. Measurements of iron status. Washington, D.C. Nutrition Foundation 1985.
22. Addison GM, Beamish MR, Hales CN, Hodkins M, Jacobs A, Llewellyn P. An immunoradiometric assay for ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. *J Clin Pathol* 1972;25:326-9.
23. Manual automatic ZP hematofluorometer model 206 serial number A-834. Lakewood, AVIV Bimedical Inc. 1988.
24. Peters T, Giovannello TJ, Apt L, Ross JF. A new method for the determination of serum iron binding capacity. I. *J Lab Clin Med* 1956^a;48:274-9.
25. Peters T, Giovannello TJ, Apt L, Ross JF. A simple improved method for the determination of serum iron. II. *J Lab Clin Med* 1956^b;48:280-8.
26. Fenton V, Cavill Y, Fisher J. Iron stores in pregnancy. *Brit J Haematol* 1977;37: 145-9.
27. De Leeuw NKM, Loweinstein L, Hsieh Y. Iron deficiency and hydremia in normal pregnancy. *Medicine* 1966; 45:291-315.
28. Organización Mundial de la Salud. Anemias nutricionales Ginebra 1968 (OMS- Serie Informes Técnicos, 580).
29. Szarfarc SC. Anemia ferropriva em parturientes e recém-nascidos. *Rev Saúde Públ* 1974;8:369-74.
30. Cook JD, Lipischitz DA, Miles LEM, Finch CA. Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects. *Am J Clin Nutr* 1974;27:681-7.
31. Dean A, Dean J, Burton A, Diker R. Epi Info, versión 5: A Word processing and statistics program for epidemiology on micro computer. Atlanta, CDC, 1990.
32. Beard, JL. Iron deficiency: assessment during pregnancy and its importance in pregnant adolescents. *Am J Clin Nutr* 1994;59 (suppl.):502S-10S.
33. Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Chor-San K, Fischer RL. Maternal growth during pregnancy and the competition for nutrients. *Am J Clin Nutr* 1994; 60:183-8.
34. Bothwell TH & Charlton RW. Iron deficiency in women. Washington. International Nutritional Anemia Consultive Group (INACG), Nutrition Foundation, 1981.
35. Romslo I, Haram K, Sagen N, Augensen K. Iron requirement in normal pregnancy as assessed by serum ferritin serum transferrin saturation and erythrocyte protoporphyrin determinations. *Br J Obstet Gynaecol* 1983;90:101-7.
36. Lamparelli RDV, Bothwell TH, MacPhail AP, Van der Westhuyzen J, Baynes RD, MacFarlane BJ. Nutritional anaemia in pregnant coloured women in Johannesburg. *South Afr Med J* 1988;73:477-81.
37. Szarfarc SC, Siqueira AAF, Martins IS. Avaliação da concentração de ferro orgânico em uma população de grávidas. *Rev Saúde Públ* 1983;17:200-7.
38. Schiffman RB, Thomasson JE, Evers JM. Red blood cell zinc protoporphyrin testing for iron-deficiency anemia in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157: 304-7.
39. Szarfarc SC. Prevalência de anemias nutricionais entre gestantes matriculadas em Centros de Saúde do Estado de São Paulo. [Tese de Livre Docência]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 1983.
40. Kaufer M & Casanueva E. Relation of prepregnancy serum ferritin levels to hemoglobin levels throughout pregnancy. *Eur J Clin Nutr* 1990;44:709-15.

Recibido: 19-02-1998

Aceptado: 07-09-1998

Maduración temprana: factor de riesgo de sobrepeso y obesidad durante la pubertad?

Mercedes López de Blanco, Isbelia de Espinoza, Coromoto Macías de Tomei, Lucila Blanco de Cedres

Fundación Cavendes - Fundacredesa-Universidad Central de Venezuela.

RESUMEN. En el Estudio Longitudinal de Caracas: 147 varones y 111 niñas entre 8 y 16 años, clasificados como de maduración temprana (Te), promedio (\bar{X}) y tardía (Td), fueron evaluados en un contexto de riesgo de sobrepeso y obesidad. Las diferencias entre los grupos de maduración en: Índice de Masa Corporal (IMC), Pliegue Tricipital (PTR) y Pliegue Subescapular (PSE), Área Muscular (AM) y Área Grasa (AG), se analizaron mediante un análisis ANOVA para muestras repetidas. Un gradiente significativo $Te > \bar{X} > Td$, se encontró en todas las variables en las niñas entre los 8 y los 16 años y en los varones del grupo de 8 a 11 años. Las medidas que reflejan grasa (PTR, PSE y AG) en los varones, no presentaron un gradiente definido a partir de los 12 años, mientras que el AM sí presentó diferencias según el «tempo» de maduración en los tres grupos y el IMC entre tempranos y tardíos. En el IMC, el gradiente $Te > \bar{X} > Td$ fue significativo hasta los 11 años. Los niños de maduración temprana de los dos sexos presentan un riesgo significativo de sobrepeso y las niñas tempranas un riesgo de obesidad durante todo el seguimiento, mientras que, en los varones, el riesgo de obesidad se encontró hasta los 11 años solamente.

Palabras clave: Maduración, sobrepeso, obesidad, índice de masa corporal, adiposidad.

SUMMARY. Early maturation: a risk factor of overweight and obesity during puberty? In the Caracas Longitudinal Study, 147 boys and 111 girls - 8 to 16 years of age - who had been classified as early, average and late maturers, were analyzed in the context of risk of overweight and obesity. Differences in Body Mass Index (BMI), Arm Circumference (AC), Triceps and Subscapular Skinfolts (TRSK, SSSK) were assessed with an analysis of variance. A significant gradient early > average > late was found girls in all variables throughout follow-up and in AC in boys between 8 and 15 years of age and in BMI until age 11, although early maturers were significantly heavier at all ages. Skinfolts, in boys, presented this significant gradient up to age 11, while in girls it was found in TRSK between ages 8 and 15 and in SSSK between ages 11 and 15. Further analysis of sum of skinfolts, Arm Muscle Area (AMA) and Arm Fat Area (AFA) resulted in significant maturity gradients in girls for all the variables while, in boys, AMA presented this gradient up to age 15, whereas no gradients in and AFA were found from age 12 onwards. Early maturers of both sexes are at risk of overweight; girls are at risk of obesity throughout puberty and boys at prepuberty and early puberty only.

Key words: Maturation, overweight, obesity, body mass index, adiposity.

INTRODUCCION

La identificación de características biológicas durante el crecimiento que sirven de «señales de alerta», es de primordial importancia para la prevención del sobrepeso, de la obesidad y de las Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT) en el adulto.

En el Estudio Longitudinal de Caracas, los varones y niñas clasificados como de maduración temprana resultaron más altos y más pesados que los promedio y éstos, a su vez, más altos y más pesados que los de maduración tardía, con diferencias estadísticamente significativas durante la pubertad (1), comportamiento similar al de otras poblaciones estudiadas longitudinalmente. A partir de los estudios longitudinales pioneros de Tanner y su grupo en niños ingleses (2), este hallazgo se ha reportado en otras poblaciones europeas tales como la Belga (3) escandinava (4) y norteamericana (5). Esto podría reflejar solamente diferencias en «tempo», ya que los maduradores tempranos comienzan su brote puberal primero,

seguido por los promedio y finalmente por los tardíos y - según algunos autores, al final del crecimiento - son similares. Cabe preguntarse: son realmente «similares» los maduradores tempranos, promedio y tardíos?

El objetivo de este trabajo fue el de analizar las diferencias entre los jóvenes de maduración temprana, de maduración promedio y de maduración tardía, en algunas variables antropométricas de composición corporal y determinar si existen características particulares en los maduradores tempranos que constituyen un factor de riesgo de sobrepeso y obesidad.

MATERIAL Y METODOS

La muestra seleccionada para este análisis forma parte de un estudio semilongitudinal: Estudio Longitudinal del Área Metropolitana de Caracas (1) realizado entre 1976 y 1982 en niños y jóvenes de los estratos altos de Caracas, según el método Graffar - Méndez Castellano (6), de los grupos que

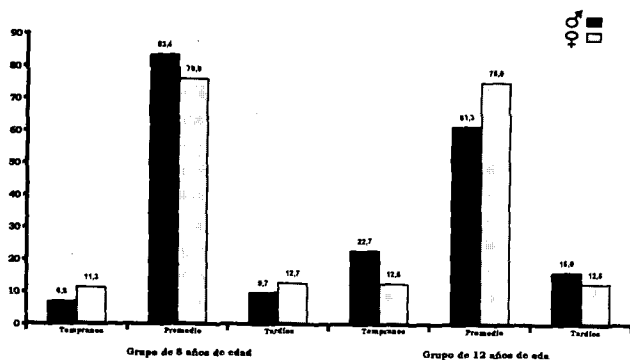
iniciaron el estudio a los 8 y 12 años de edad y que presentaban por lo menos cuatro determinaciones sucesivas de las variables a estudiar. La muestra quedó integrada por 258 sujetos: 147 varones y 111 niñas.

La caracterización del «tempo» o ritmo de maduración y la formación de los tres grupos de maduración, se hizo en base a los eventos biológicos: Pico de Velocidad Máximo (PVM) y Edad de Arranque o Inicio del brote puberal (EA), derivados de la curva de velocidad de la variable talla para cada sujeto, utilizando como puntos de corte los percentiles 10 y 90 (7). De la muestra seleccionada, 190 clasificaron como de maduración promedio (73,65%), 35 como de maduración temprana (13,56%) y 33 como de maduración tardía (12,79%).

Dentro del grupo que inició el estudio a los 8 años de edad, 72 pertenecían al sexo masculino: (50,35%) y 71 al sexo femenino: (49,65%). En el grupo que inició el estudio a los 12 años de edad, 75 eran varones (65,22%) y 40 eran niñas: (34,78%). En el primer grupo de varones, 83,33% clasificaron como maduradores promedio, 6,94% como maduradores tempranos y 9,73% como maduradores tardíos. Dentro del segundo grupo, 61,33% clasificaron como promedio, 22,67% como tempranos y 16% como tardíos. Del grupo de niñas que inició el estudio a los 8 años, el 76,06% clasificó como de maduración promedio, 11,27% como de maduración temprana y 12,68% como de maduración tardía. En el segundo grupo, el 75% de las niñas clasificó como promedio, 12,50% como tempranas y 12,50% como tardías. La mayor variabilidad se encontró en los varones que iniciaron el estudio a los 12 años: 23% de maduradores tempranos y 16% tardíos. Las niñas de ambos grupos mostraron una variabilidad mas o menos similar (Figura 1).

FIGURA 1

Distribución según el ritmo de maduración, por sexo y edad de inicio del seguimiento



Las variables Pliegue Tricipital (PTR), Pliegue Subescapular (PSE) y Circunferencia del Brazo (CB), fueron tomadas por dos técnicos antropometristas, debidamente entrenados y estandarizados por R.H. Whitehouse del Instituto de Salud Infantil de Londres, siguiendo las recomendaciones del Programa Biológico Internacional (8). El error de medición fue de 0,2 cm para la circunferencia del brazo y 0,4 mm

para los pliegues, el cual se encontró dentro de lo esperado (9). Utilizando la Circunferencia de Brazo (CB) y el Pliegue Tricipital (PTR) se usaron las siguientes fórmulas para calcular el Area Muscular (AM): $AM = [CB - (\pi \cdot PTR)]^2 / 4 \cdot \pi$ y el Area Grasa (AG): $AG = PTR \cdot CB / 2 - (\pi \cdot PTR^2 / 4)$ (10); y con las variables Peso (P) y Talla (T) se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC), mediante la formula P/T^2 (11).

Se calcularon los estadísticos básicos según grupo de edad, sexo y «tempo» de maduración para las variables simples (PTR, PSE, CB) y para las variables derivadas: Índice de Masa Corporal (IMC), Area Grasa (AG) y Area Muscular (AM). Las diferencias entre los sexos y los grupos de maduración se estudiaron mediante un análisis de varianza para un diseño con muestras repetidas. Se consideró el análisis de los residuos para investigar los supuestos del modelo ANOVA: homocedasticidad, normalidad y presencia de puntos atípicos. Si los residuos mostraban que el modelo no era apropiado, se realizó una transformación logarítmica de los datos (12,13).

Se ubicaron las medias de las variables simples y derivadas en la distribución centilar de las referencias nacionales: Proyecto Venezuela (14) y Estudio Transversal de Caracas (15).

RESULTADOS Y DISCUSION

Diferencias entre los sexos: dimorfismo sexual

El comportamiento del tejido graso fue el esperado: valores promedio significativamente más altos en las niñas a todas las edades, a excepción de los 11 años para ambos pliegues, 8 años para el pliegue tricipital y el área grasa y 10 años para el pliegue subescapular, en donde, a pesar de ser más altos en las niñas, no resultaron estadísticamente significativos (Figuras 2 y 3). El mayor acumulo de grasa en las niñas se encontró a los 12 años, comportamiento similar al del Proyecto Venezuela (16). El dimorfismo sexual en los pliegues resultó similar a lo reportado por otros autores: un aumento del PSE en la pubertad en los dos sexos y una disminución del PTR en los varones, lo que conlleva a que la relación de grasa centrípeta sea mayor en estos (16-18).

FIGURA 2

Dimorfismo Sexual de los pliegues tricipital y subescapular por grupo de edad

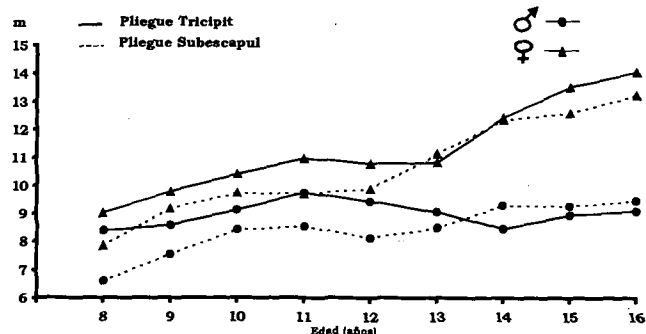
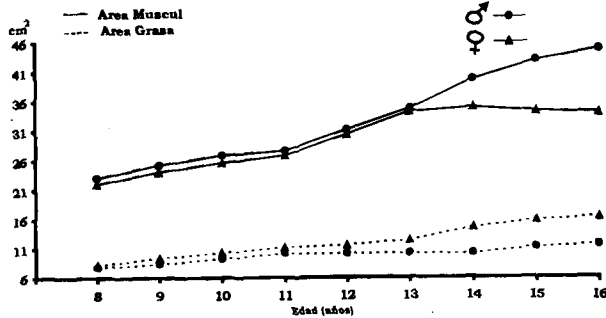


FIGURA 3
Dimorfismo Sexual del área muscular y área grasa por grupo de edad



El comportamiento del tejido muscular fue el esperado: valores más altos en los varones a todas las edades, pero con diferencias estadísticamente significativas solo a partir de los 14 años (Figura 3); este resultado es similar a lo encontrado en el Proyecto Venezuela (18).

Es de hacer notar que, aún cuando el AG se encuentra en ambos sexos en percentiles normales según la referencia nacional, el AM se ubica en los varones y niñas en percentiles altos (15). A los 12, 13 y 14 años, la alta muscularidad refleja la maduración temprana del venezolano, especialmente en las niñas y podría representar un factor de riesgo de sobrepeso en los adultos. A los 15 años de edad el dimorfismo sexual encontrado en esta muestra fue de: 5 mm en PTR, 3,8 mm en PSE, 10,7 cm² en AM y 4,7 cm² en AG; menor en los pliegues y en el área grasa a lo encontrado en el Proyecto Venezuela en los mismos estratos sociales (14) y a lo reportado en los norteamericanos estudiados en el NHANES I y NHANES II (10); menor en PTR y similar en PSE y AG a lo encontrado en los estratos altos de Caracas (19) y menor en PTR y similar en PSE a lo reportado en los ingleses (20). Con relación al AM, se encontró un dimorfismo sexual similar a la del Proyecto Venezuela en los estratos altos (14) y más bajo a lo reportado en el Estudio Transversal de Caracas (15) y en los norteamericanos (10).

Diferencias entre los Grupos de Maduración

Indice de masa corporal

En los varones que iniciaron el estudio a los 8 años de edad y en todas las niñas, se encontró un gradiente en el IMC: los maduradores tempranos resultaron mas corpulentos que los promedio y estos a su vez más corpulentos que los tardíos; este gradiente fué significativo entre los varones de maduración temprana y los de maduración tardía y, en las niñas, entre los tres grupos de maduración a todas las edades (Tabla 1).

TABLA 1
Medias del Índice de Masa Corporal según el ritmo de maduración: tempranos, promedio y tardíos por grupo de edad y sexo

Edad (años)	8	9	10	11	12	13	14	15
VARONES								
TE (I)	n 5	→			17	→		
	\bar{X} 19,40	20,47	21,09	21,55	20,88	21,03	21,95	22,72
	σ 3,39	3,54	3,35	3,72	3,15	2,92	2,73	3,07
\bar{X} (II)	n 60	→			46	→		
	\bar{X} 16,71	17,29	17,90	18,10	18,36	19,01	19,75	20,44
	σ 2,02	2,29	2,54	2,81	2,14	2,12	2,20	2,29
TA (III)	n 7	→			12	→		
	\bar{X} 15,26	16,12	16,32	16,44	18,40	19,19	20,01	20,12
	σ 1,40	2,11	2,18	2,64	3,13	3,78	3,53	3,46
F=5,066 - p=0 (***) F=5,65 - p=0 (***)								
I-II, 2,69* 3,18* 3,19* 3,46* 1,92* 2,02* 2,20* 2,28*								
II-III, 1,45 1,17 1,58 1,66 -0,04 -0,17 -0,27 0,32								
I-III, 4,14* 4,35* 4,77* 5,12* 1,88* 1,84* 1,93* 2,59*								
NIÑAS								
TE (I)	n 8	→			5	→		
	\bar{X} 17,63	18,38	19,13	19,90	22,67	23,59	23,96	23,68
	σ 1,80	2,20	2,64	2,30	3,20	3,28	2,62	2,71
\bar{X} (II)	n 54	→			30	→		
	\bar{X} 16,42	17,15	17,45	17,96	18,72	19,33	20,13	20,47
	σ 1,90	2,30	2,16	2,46	2,61	2,63	2,70	2,63
TA (III)	n 9	→			5	→		
	\bar{X} 14,78	15,03	15,50	15,40	15,66	16,10	17,24	17,68
	σ 1,60	1,69	1,60	1,32	1,77	2,13	2,33	2,38
F=6,18 - p=0 (***) F=7,26 - p=0 (***)								
I-II, 1,21* 1,23* 1,68* 1,94* 3,95* 4,27* 3,82* 3,21*								
II-III, 1,65* 2,12* 1,95* 2,56* 3,06* 3,23* 2,89* 2,79*								
I-III, 2,86* 3,35* 3,63* 4,49* 7,01* 7,50* 6,71* 6,00*								

(*) < p 0,05 (**) < p 0,01 (***) < p 0,001

TE (I) = Temprano; \bar{X} (II) = Promedio; TA (III) = Tardío

El IMC en los varones de maduración temprana que iniciaron el estudio a los 8 años, se encuentra entre los percentiles 90-97 de la referencia nacional y, después de los 12 años, entre los percentiles 75-90; en las niñas tempranas que iniciaron el estudio a los 8 años, el IMC se sitúa alrededor del percentil 75 y, después de los 12 años, por encima del percentil 90 (21). Este resultado es importante ya que diversos autores han señalado la alta correlación que existe entre los estadios de maduración y el IMC (22), y que su relación con el patrón de grasa podría establecerse durante la pubertad (23). Además, asociado con sobrepeso y valores de esteroides adrenales, es un buen predictor de riesgo de Diabetes Mellitus tipo II e hipertensión arterial en mujeres (24,25). Igualmente se ha reportado una buena correlación entre un IMC alto, el incremento de la relación LDL/HDL-C y el aumento de la testosterona plasmática (26) así como con la morboletalidad de ECNT (27,28).

Pliegues tricipital y subescapular

En los varones que iniciaron el estudio a los 8 años de edad y en todas las niñas, se encontró un gradiente según el “tempo” de maduración: los maduradores tempranos presentaron pliegues más altos que los promedio y estos a su vez más altos que los tardíos. Este gradiente resultó significativo entre los tres grupos de maduración para el PTR en los varones que iniciaron el estudio a los 8 años, y en las niñas del grupo que inició el estudio a los 12 años. En los varones entre los 12 y 15 años, no se encontraron diferencias significativas, y en las niñas del primer grupo resultó significativo entre las maduradoras tempranas y las tardías a todas las edades. Las diferencias en el PSE resultaron estadísticamente significativas entre los varones tempranos y los tardíos en el grupo que inició el estudio a los 8 años y en las niñas entre los tres grupos de maduración a todas las edades. Las mayores diferencias para el PTR se encontraron entre los tempranos y tardíos entre los 8 y 11 años en los varones y, a partir de los 12 años en las niñas; para el PSE, a los 10 y 11 años en los varones y a partir de los 12 años en las niñas (Tablas 2 y 3).

TABLA 2

Medias del Pliegue Tricipital según el ritmo de maduración: tempranos, promedio y tardíos por grupo de edad y sexo

Edad (años)	8	9	10	11	12	13	14	15
VARONES								
TE (I)	n 5	→			17	→		
	\bar{X} 12,86	13,56	14,52	14,96	9,39	8,56	8,42	9,07
	σ 3,63	4,54	5,51	5,96	2,47	2,80	1,93	2,63
\bar{X} (II)	n 60	→			46	→		
	\bar{X} 8,18	8,42	8,96	9,61	9,30	9,06	8,12	8,71
	σ 2,65	2,98	3,47	3,86	2,55	2,76	2,85	3,48
TA (III)	n 7	→			12	→		
	\bar{X} 6,77	6,20	6,54	6,99	9,92	9,72	9,69	9,59
	σ 2,01	2,37	2,84	3,46	4,03	4,74	4,04	4,39
NIÑAS								
TE (I)	n 8	→			5	→		
	\bar{X} 10,94	10,99	11,81	13,53	13,30	13,76	15,34	15,86
	σ 2,70	3,11	3,33	3,52	3,36	2,70	3,10	3,77
\bar{X} (II)	n 54	→			30	→		
	\bar{X} 9,00	10,01	10,61	10,98	10,87	10,75	12,62	13,83
	σ 2,67	3,14	3,50	3,83	3,30	3,25	4,67	4,31
TA (III)	n 9	→			5	→		
	\bar{X} 7,22	7,22	7,84	8,57	7,72	8,24	8,36	9,28
	σ 1,47	1,85	2,33	2,12	1,13	1,72	2,24	4,32
F=5,5 - p=0 (***) F=1,10 - p=0,36								
I-II	4,68*	5,14*	5,56*	5,35*	0,09	-0,50	0,31	0,36
II-III	1,41	2,22*	2,41*	2,62*	-0,61	-0,65	-1,57	-0,88
I-III	6,09*	7,36*	7,98*	7,97*	-0,52	-1,15	-1,27	-0,52
F=4,81 - p=0 (***) F=5,011 - p=0 (***)								
I-III	1,93	0,97	1,20	2,54	2,43*	3,01*	2,72*	2,03*
II-III	1,78	2,79*	2,77*	2,41	3,15*	2,51	4,26*	4,55*
I-III	3,72*	3,77*	3,97*	4,96*	5,58*	5,52*	6,98*	6,58*

(*) < p 0,05 (**) < p 0,01 (***) < p 0,001
TE (I) = Temprano; \bar{X} (II) = Promedio; TA (III) = Tardío

TABLA 3

Medias del Pliegue Subescapular según el ritmo de maduración: tempranos, promedio y tardíos por grupo de edad y sexo

Edad (años)	8	9	10	11	12	13	14	15
VARONES								
TE (I)	n 5	→			17	→		
	\bar{X} 10,62	13,32	14,88	15,06	8,36	8,41	9,65	10,58
	σ 6,26	7,34	7,80	8,91	2,93	2,23	2,72	3,75
\bar{X} (II)	n 60	→			46	→		
	\bar{X} 6,47	7,32	8,16	8,27	7,73	8,21	8,78	8,64
	σ 2,84	3,50	4,34	4,89	2,71	2,94	3,67	3,60
TA (III)	n 7	→			12	→		
	\bar{X} 4,74	5,31	5,77	5,94	9,21	9,61	10,67	9,78
	σ 1,15	1,93	2,94	3,73	5,47	5,72	6,43	6,38
F=5,53 - p=0 (***) F=1,34 - p=0,20								
I-II	4,15*	6,00*	6,72*	6,79*	0,63	0,19	0,87*	1,94*
II-III	1,732,00	2,39*	2,33*	-1,48	-1,40	-1,89	-1,14	
I-III	5,88*	8,00*	9,11*	9,12*	-0,84	-1,20	-1,01	0,78
NIÑAS								
TE (I)	n 8	→			5	→		
	\bar{X} 9,76	10,83	11,55	12,99	14,56	16,54	18,98	17,98
	σ 3,46	4,96	5,19	6,56	5,02	4,71	4,23	4,43
\bar{X} (II)	n 54	→			30	→		
	\bar{X} 7,88	9,37	9,99	9,87	9,58	10,76	12,00	12,57
	σ 3,78	4,67	5,16	5,21	3,90	4,07	4,62	4,06
TA (III)	n 9	→			5	→		
	\bar{X} 5,90	6,49	6,43	5,77	6,96	7,92	7,76	7,36
	σ 1,25	1,65	0,99	1,42	2,27	2,09	2,67	2,43
F=3,74 - p=0,0001 (***) F=7,85 - p=0 (***)								
I-III	1,88*	1,45*	1,56*	3,12*	4,98*	5,78*	6,98*	5,41*
II-III	1,98*	2,88*	3,56*	4,11*	2,62*	2,84*	4,24*	5,21*
I-III	3,86*	4,34*	5,12*	7,22*	7,60*	8,62*	11,22*	10,62*

(*) < p 0,05 (**) < p 0,01 (***) < p 0,001
TE (I) = Temprano; \bar{X} (II) = Promedio; TA (III) = Tardío

En los varones tempranos del primer grupo, el PSE se encuentra entre los percentiles 90-97 de la referencia nacional y, a partir de los 12 años, entre los percentiles 50-75; mientras que el PTR en el primer grupo se encuentra entre los percentiles 75-90 aunque, a partir de los 12 años, corresponde a la mediana. En las niñas, a todas las edades, el PSE se ubica entre los percentiles 75-90 de la referencia nacional y el PTR alrededor de la mediana (15). El mayor acumulo de grasa central evidenciado por una tendencia hacia percentiles altos del pliegue subescapular, ha sido reportado previamente en esta misma muestra (29), en los estratos altos del Proyecto Venezuela (30) y en otros grupos poblacionales venezolanos (31,32).

La asociación entre la maduración temprana y un aumento de la grasa corporal ha sido señalado por otros autores (17-33); los pliegues cutáneos y el contenido de grasa corporal guardan una buena correlación en niños (34), reportándose además,

que el PSE usado como aproximación al patrón de grasa central, presenta una alta correlación con el riesgo de hipertensión arterial (25) y con la intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia e hiperlipidemia en adultos (35) y en niños (36).

Area muscular

Tanto los varones como las niñas en todos los grupos de edad estudiados, presentaron un gradiente del área muscular según el «tempo» de maduración: los maduradores tempranos resultaron más musculosos que los promedio y estos a su vez más que los tardíos. Este gradiente resultó significativo en todas las niñas y en los varones a los 8 años y a todas las edades en el grupo que inició el estudio a los 12 años. Las mayores diferencias entre los maduradores tempranos y tardíos se encontró a partir de los 12 años (Figuras 4 y 5).

FIGURA 4

Medias del Area Muscular en los varones según el ritmo de maduración por grupo de edad

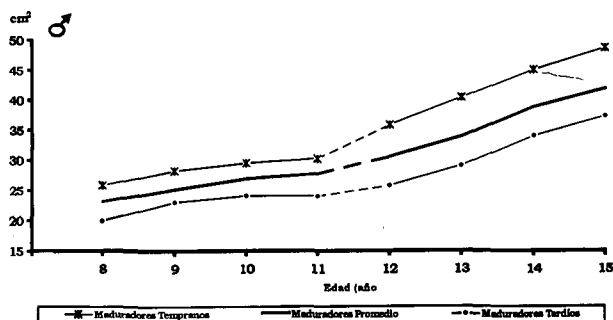
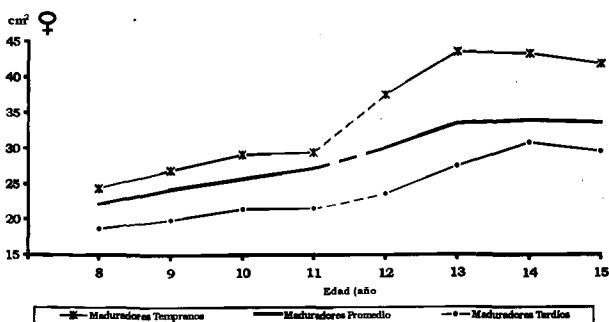


FIGURA 5

Medias del Area Muscular en las niñas según el ritmo de maduración por grupo de edad



El AM en el grupo tanto de varones como de niñas de maduración temprana que iniciaron el estudio a los 8 años, se encuentra entre los percentiles 90 y 97 de la referencia utilizada (19); en los varones del grupo que inició el seguimiento a los 12 años, por debajo del percentil 90 y en las niñas de este grupo, por encima del percentil 97. El aumento de muscularidad que acompaña a los maduradores tempranos ha sido señalado con anterioridad en otros estudios (37,38).

A pesar de que los varones son más musculosos que las niñas, como señalamos anteriormente al analizar el dimorfismo

sexual, las niñas de maduración temprana tienen un AM ubicada en los percentiles más altos de la referencia (19); en ambos sexos se presentan valores que constituyen «señales de alerta» importantes a ser consideradas en el período subclínico de la malnutrición por exceso (30). Esta alta muscularidad puede constituir un factor de riesgo para el sobrepeso, la enfermedad coronaria (39) y según algunos autores constituye un factor de riesgo en la etiología del cáncer (40).

Area grasa

En los varones que iniciaron el estudio a los 8 años de edad y a todas las edades en las niñas, se encontró un gradiente estadísticamente significativo en el área grasa según el «tempo» de maduración: los maduradores tempranos más grasosos que los promedio y estos a su vez más que los tardíos. En el grupo de varones que iniciaron el estudio a los 12 años, no está bien definido este gradiente; a los 14 años los maduradores tardíos resultaron con una AG mas alta que los promedio y los tempranos, sin embargo las diferencias encontradas no resultaron estadísticamente significativas (Figuras 6 y 7). Al analizar en este grupo el Índice de Centripetalidad ($PSE / PSE + PTR \times 100$), se encontró una mayor centripetalidad en varones y niñas de maduración temprana con relación a los tardíos a todas las edades, aunque estas diferencias resultaron significativas solamente a los 15 años en los varones y a los 11 y 15 años en las niñas (41).

FIGURA 6

Medias del Area Grasa en los varones según el ritmo de maduración por grupo de edad

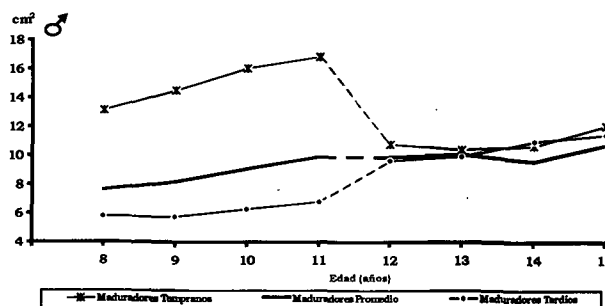
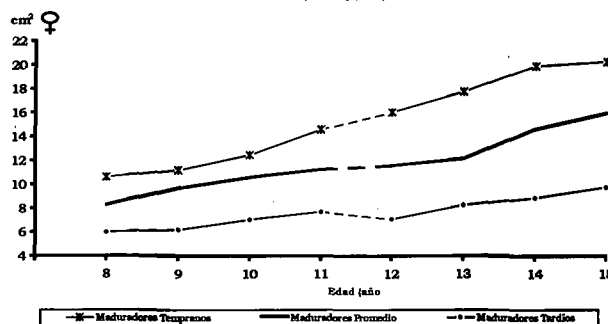


FIGURA 7

Medias del Area Grasa en las niñas según el ritmo de maduración por grupo de edad



El AG de los varones de maduración temprana que iniciaron el estudio a los 8 años de edad y de las niñas a partir de los 13 años, se encuentra entre los percentiles 75 y 90 de la referencia (19). Al comparar la sumatoria de los pliegues SE y TR con la referencia norteamericana (10), se encontró en los varones a los 8, 9 y 10 años una media muy sobre la norma y en los que iniciaron el estudio a los 12 años, aún cuando las medias se situaron en canales de normalidad, a partir de los 13 años, se observa un cambio de canal hacia percentiles superiores. De forma similar, en las niñas entre los 12 y 14 años hay una tendencia a ubicarse en los percentiles superiores, lo que sugiere un mayor acumulo de grasa central.

La alta adiposidad en los maduradores tempranos ha sido descrito por otros autores (42,43), reportándose - además - que ya desde la preadolescencia las niñas de maduración temprana tienen valores superiores en las variables que miden grasa (44) y que la menarquia temprana que acompaña a la maduración adelantada está asociada con un aumento en la adiposidad (45). Por otro lado, el índice de centripetalidad es considerado como un buen predictor de grasa central y si este patrón persiste hasta la edad adulta existe un riesgo elevado de padecer algunas de las enfermedades crónicas no transmisibles del adulto (24,30,35,46,47); sin embargo aún surgen muchas interrogantes si la distribución de grasa corporal en el adulto se establece desde la niñez (48). El adelanto en la maduración que presentan algunos niños obesos, parece tener mas relación con la distribución de grasa que con la obesidad en si (26,38,42,43). Existe una clara relación entre el «tempo» de maduración, la centripetalidad y la producción de hormonas. Además, en las mujeres que de niñas han tenido sobrepeso a expensas de aumento de la adiposidad, se describe un mayor riesgo de cáncer de mama (49).

CONCLUSIONES

1. El dimorfismo sexual resultó dentro de lo esperado: los varones presentaron una muscularidad mayor que las niñas durante todo el crecimiento y estas últimas, una mayor adiposidad que los varones.
2. Un gradiente temprano > promedio > tardío fue encontrado en las niñas en todas las variables estudiadas y a todas las edades, así como en el grupo de varones que inició el estudio a los 8 años. En los varones que iniciaron el estudio a los 12 años, se encontró este gradiente de maduración en el área muscular, así como diferencias consistentes en el tiempo entre los maduradores tempranos y tardíos en el IMC; por el contrario, en las variables que miden grasa, este gradiente estuvo ausente.
3. Los cambios en las variables talla, peso y en las variables de composición corporal se asocian más a la edad biológica que a la edad cronológica, por lo cual es importante elaborar estándares que consideran el ritmo de maduración o «tempo».
4. Se puede concluir que la maduración temprana es un factor de riesgo de sobrepeso en ambos sexos y que las niñas tempranas están a riesgo de obesidad durante toda la pubertad, mientras que los varones tempranos están a riesgo de obesidad en la etapa prepuberal y puberal temprana solamente.

REFERENCIAS

1. López de Blanco M, Izaguirre de Espinoza I, Macías de Tomei C, Cevallos JL, Bosch V, Saab Verardy L, Fossi M, Angulo Rodríguez N, Mijares A, Méndez de Mijares M. Estudio Longitudinal del Area Metropolitana de Caracas. Informe Final. CONICIT. Caracas. (Mimeo), 1995.
2. Tanner JM, Whitehouse RH, Marubini E, Resele LF. The adolescent growth spurt of boys and girls of the Harpenden Growth Study. *Ann Hum Biol* 1976; 3:109-126.
3. Hauspie RC, Wachholder A. Clinical standards for growth velocity in height of Belgian boys and girls, aged 2 to 18 years. *Int J Anthropol* 1986;1: 339-348.
4. Hägg U, Taranger J. Height and height velocity in early, average and late maturers followed to the age of 25: A prospective longitudinal study of Swedish urban children from birth to adulthood. *Ann Hum Biol* 1991;18: 47-56.
5. Tanner JM, Davies PSW. Clinical longitudinal standards for height and height velocity for North American children. *J Ped* 1985;107: 317-329.
6. Méndez Castellano H, Méndez MC de. Sociedad y Estratificación. Método Graffar - Méndez Castellano. (Caracas: Fundacredesa), 1994.
7. López-Blanco M, Izaguirre-Espinoza I, Macías-Tomei C, Saab-Verardy L. Differences in growth in early, average and late maturers of the Caracas Mixed Longitudinal Study. *Auxology'94. Humanbiol. Budapest* 1994;25:341-348.
8. Weiner JS, Lourie SA. *Human Biology: A Guide to Field Methods*. IBP Handbook Oxford: Blackwell Scientific Publications: 1969; 9.
9. Zerfas AJ. *Anthropometric Procedures Nepal*. (Mimeo), 1975.
10. Frisancho AR. New norms of Upper Limb in Muscle Areas for Assessment of Nutritional Status. *Am J Clin Nutr*. 1981;34:2540-45.
11. Comas J. *Manual de antropología física*. Ciudad de México, México: Fondo de Cultura Económica: 1957:698.
12. Neter J, Wasserman W. *Applied Linear Statistical Models*. In: D Richard (ed.): Irwin, Inc., 1974.
13. Mardia KV, Kent JT, Bibby JM. *Multivariate Analyses*. Academic Press, Inc., 1979.
14. Méndez Castellano H y col. *Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humanos de la República de Venezuela: Proyecto Venezuela. Tomo II*. Caracas: Escuela Técnica Popular "Don Bosco", 1995.
15. Méndez Catellano H, López Contreras-Blanco M, Landaeta-Jiménez M, González-Tineo A, Pereira I. Estudio Transversal de Caracas. *Arch Venez Puer Ped* 1986; 49:11-115.
16. Landaeta-Jiménez M, López-Blanco M, Méndez Castellano H. Área muscular y grasa. Valores de referencia en niños y adolescentes. *Proyecto Venezuela. An Ven Nutr* 7: 59-64.
17. Johnston FE. Developmental aspects of fat patterning. In: M

- Hernández and J Argente (eds.): Human Growth. Basic and Clinical Aspects. Elsevier Science Publications. 1992;217-243.
18. Prado C, Acevedo P, Cuesta R, Gómez-Lobo P. Somatic variations during the puberal stage. A two year longitudinal study in young people born in Madrid, Spain. *Auxology* '94. *Humanbiol. Budapest* 1994; 25: 221-229.
 19. Landaeta-Jiménez M, López-Blanco M, Méndez Castellano H, Colmenares R. Area Muscular y Area Grasa. Estudio Transversal de Caracas. *Arch Venez Puer Ped* 1989; 52(3-4):97-106.
 20. Tanner JM, Whitehouse RH, Takaishi M. Revised standards for triceps and subscapular skinfolds in British children. *Arch Dis Child* 1975; 50: 142-145.
 21. López-Blanco M, Landaeta-Jiménez M, Colmenares R, Méndez Castellano H. Índice de Masa Corporal (Peso kg/m²). *Arch Venez Puer Ped* 1988; 51(1-2):10-17.
 22. Daniels SR, Rhoury PR, Morrison JA. The utility of body mass index as a measure of body fatness in children and adolescents: differences by race and gender. *Pediatrics* 1997; 99(6): 804-807.
 23. Casey UA, Dwyer JT, Berkey CS et al. The distribution of body fat from childhood to adulthood in a longitudinal study population. *Ann Hum Biol* 1994; 21(1): 39-55.
 24. Muller WH, Joos SK, Hanis CL et al. The Diabetes Alert Study: growth fatness and fat patterning, adolescence through adulthood in mexican-americans. *Am J Phys Anthropol* 1984; 64: 389-399.
 25. Blair J, Habicht JP, Sims EAH et al. Evidence for an increased risk of hypertension with centrally located body fat and the effect of race and sex on this risk. *Am J Epidem* 1984; 119: 526-540.
 26. Siervogel RM, Baumgartner RN, Roche AF et al. Maturity and its relationship to plasma lipid and lipoprotein levels in adolescent. The Fels Longitudinal Study. *Am J Hum Biol* 1989; 1: 217-226.
 27. Van Itallie TB. Topography of body fat: relationship to risk of cardiovascular and other diseases. In: T Lohman, A Roche and R Martorell (eds.): *Anthropometric Standardization Reference Manual*. Human Kinetics Books. Illinois: 1989; 143-149.
 28. Himes JH, Dietz WH. Guidelines for overweight in adolescent preventive services: recommendations from an expert committee. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:307-316.
 29. Proyecto Victoria. Proyecto Victoria. Informe de Avance. Fundación CAVENDES. (Mimeo), 1995.
 30. López de Blanco M, Landaeta de Jiménez M, Sifontes Y, Evans R, Machín T. Situación alimentaria y nutricional de Venezuela. *Nutrición, Base del Desarrollo*. Fascículo N° 2. Ediciones Cavendes: 1996; 52-59.
 31. Pérez B. Determinación de la adiposidad y su patrón de distribución entre los atletas latinoamericanos. Caracas, Venezuela Editorial FACES/UCV 35-62 (Series Antropológicas 1), 1985.
 32. Vázquez de Ramírez M, Méndez de Pérez B. Patrón de distribución de la adiposidad en varones de tres etnias venezolanas. *An Ven Nutr* 1991; 4: 45-51.
 33. Bell W. Fat freemass and maturational status of active boys during puberty. *Auxology* '94. *Humanbiol. Budapest* 1994; 25: 499-503.
 34. Harsha DW, Frerichs RR, Berenson GS. Densitometry and anthropometry of black and white children. *Hum Biol* 1978; 50: 261-280.
 35. Kissebach HH, Vydelingum Nm Murray R et al. Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrin Metals* 1982; 54: 254-260.
 36. Lejido A, Sarria A, Bueno M et al. Relationship of body fat distribution to metabolic complications in obese prepubertal girls. *CJ Pediat* 1987; 26 (6): 310-315.
 37. Frisancho AR and Housh CH. The relationship of maturity rate to body size and body proportions in children and adults. *Hum Biol* 1988; 66: 759-770.
 38. Malina RM, Skrabanek MF, Little BB. Growth and maturity status of black and white children classified by obese by different criteria. *Am J Hum Biol* 1989; 1: 193-199.
 39. Rissanen V. Coronary and aortic atherosclerosis in relation to body-build factors. *An Clin Research* 1975; 7: 402-411.
 40. Miller AB, Kelly A, Choi NW et al. A study of diet and breast cancer. *Am J Epidem* 1978; 107: 499-509.
 41. López de Blanco M, Izaguirre de Espinoza I, Macías de Tomei C, Moya de Sifontes Z, Mendoza JM, Fernández A. Informe de Avance 1996-1997. Proyecto Victoria. Fundación CAVENDES. 1997. (Mimeo).
 42. Garn SN, La Velle M, Rosemberg KR et al. Maturational timing as an factor in female fatness and obesity. *Am J Clin Nutr* 1986; 43: 879-883.
 43. Huanjiu XI, Roche A, Baumgartner R. Association of adipose tissue distribution with relative skeletal age in boys the Fels Longitudinal Study. *Am J Hum Biol* 1989; 1: 589-596
 44. Sharma K, Talwar I, Sharma N. Age at menarche in relation to adult body size and physique. *Ann Hum Biol* 1988; 15(6): 431-434.
 45. Tanner JM. *Growth at adolescence*. 2nd ed. Oxford. Blackwell, 1962.
 46. Evelèth PB. Crecimiento, maduración y riesgo de enfermedades crónicas. En: La familia y el niño iberoamericano y del Caribe. Méndez Castellano H (ed). Caracas. Exlibris 1987; 637-662.
 47. Eveleth PB. Child growth, nutrition and chronic disease risk in adults. *Arch Lat Nutr* 1995; 45(1-S): 220-222.
 48. Johnston FE. Sex differences in fat patterning in children and youth. In: *Fat Distribution During Growth and Later Health Outcomes*. C. Bouchard and FE Johnston (eds). New York: Alan R Liss 1988; 85-102.
 49. Micozzi MS, Schatzkin AG. International correlation of anthropometric variables and adolescent growth patterns with breast cancer incidence. *Am J Phys Anthropol* 1985; 66: 206-207 (abstract).

Recibido: 26-03-1998

Aceptado: 23-10-1998

Derivados del aceite de palma con concentraciones diferentes de ácido palmítico y antioxidantes. Efectos sobre lípidos plasmáticos y agregación plaquetaria

Tosca Scorza, Argelia Martucci, Ana T. Torrealba de Ron

Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela, Caracas.

RESUMEN. Se evaluó en conejos el efecto de dietas enriquecidas con colesterol (0.1%), diferentes concentraciones de ácido palmítico (16:0) y de vitaminas antioxidantes, sobre lípidos plasmáticos y agregación plaquetaria. Los animales se distribuyeron en tres grupos: I. Conejarina (conej.) + colesterol (col) 0.1%; II: Conej. + col. 0.1% + aceite de palma semipurificado 10% (16:0=39.8%; retinol 7.3 ug/dL y alfa-tocoferol 157,6 ug/dL); III: Conej. + col. 0.1% + aceite crudo de palma 10% (16:0=45.3, retinol 96.4 µg/dL y alfa-tocoferol 322.8 ug/dL). Se practicaron determinaciones mensuales de lípidos plasmáticos (métodos enzimáticos) y a los 10 meses agregación plaquetaria con ADP, y determinaciones plasmáticas de vitaminas C, retinol, y alfa-tocoferol. El colesterol total y la LDLc aumentaron significativamente en todos los grupos. No encontramos variación significativa entre ellos. La agregación plaquetaria fue menor en animales que recibieron dietas enriquecidas con aceite de palma (grupo II y III) ($P=0.002$ y 0.001). Las concentraciones plasmáticas de retinol y alfa-tocoferol no variaron significativamente. La vitamina C disminuyó en grupo I con respecto a grupos II y III ($P<0.005$ <0.02). Se concluye que la administración de aceite de palma crudo o semipurificado en conejos hipercolesterolémicos, disminuye la agregación plaquetaria sin modificar significativamente la concentración de lípidos plasmáticos.

Palabras clave: Hipercolesterolemia, aceite de palma, antioxidantes, agregación plaquetaria.

SUMMARY. Palm oil derivatives with different concentration of palmitic acid and antioxidants. Effects upon plasmatic lipids and platelet aggregability. It was evaluated the effect of diet rich with cholesterol (0.1%) and different concentration of palmitic acid (16:0) and antioxidants (vitamin C, α -tocopherol and retinol) upon plasmatic lipids and platelet aggregability in rabbits. The animals were distributed in three groups: I. Standard chow meal (Rp Conejarina) + cholesterol (chol) 0.1%; II. Standard chow meal + chol 0.1% + semipurified palm oil 10% (16:0 = 39.8%, oleic acid 48.7%, linoleic acid 11.4%, retinol 7.3ug/dL, α tocopherol 157.6ug/dL); III. Standard chow meal + chol 0.1% + crude palm oil 10% (16:0=45.3%, oleic acid 46.3%, linoleic acid 7.9%, retinol 96.4ug/dL, α tocopherol 322.8ug/dL). Monthly determination of plasmatic lipids were done (Enzymatic methods) and at ten months platelet aggregability with ADP, plasmatic vitamin C, retinol and, α tocopherol determination were done. Total plasmatic cholesterol (TC) and LDLc increased significantly in the three groups of animals. Significant differences between groups were not found. Platelet aggregability was lower in the animals fed with palmitic acid rich diet (groups II and III) ($P = 0.002$ and 0.001). Retinol, α tocopherol plasmatic concentrations revealed no significant differences. Vitamin C in the groups I was lower than groups II and III ($P < 0.05$ <0.02). In this study hypercholesterolemic rabbits fed with rich diets (crude and semipurified) had lower platelet aggregability without changes in plasmatic lipids concentrations.

Key words: Hypercholesterolemic, palm oil, antioxidants, platelet aggregability.

INTRODUCCION

Entre los múltiples factores involucrados en el desarrollo del proceso aterosclerótico, dos elementos claves juegan gran importancia: primero una alteración en el perfil lipídico plasmático representado por un incremento en la concentración de colesterol plasmático total, LDLc, o de los triglicéridos, y segundo un cambio en la función plaquetaria hacia un estado de hiperagregabilidad. Estos dos factores pueden ser producidos por modificaciones en los constituyentes lipídicos de la dieta.

Desde las publicaciones pioneras de Keys y Hegsted, se estableció una relación lineal entre el contenido de grasa

saturada de la dieta y la colesterolemia (1,2). En humanos y primates no humanos, se ha encontrado que los ácidos grasos saturados laúrico (12:0) y mirístico (14:0) son más colesterolémicos que el ácido palmítico (16:0) (3-5). Igualmente se ha demostrado que el estado colesterolémico previo a la administración del ácido graso saturado 16:0, es el factor que determina la tendencia al aumento del colesterol plasmático (6,7). Por otra parte, ha sido demostrado experimentalmente, que la sola administración de colesterol, produce un aumento en la concentración de LDLc (8,9) el cual es magnificado cuando también se administran ácidos grasos saturados 12:0, 14:0 ó 16:0; (8-12). La administración de colesterol, o su aumento en el plasma, modifica el receptor para la LDLc.

Otros estudios han demostrado que los ácidos grasos 12:0 y 14:0 producen hipercolesterolemia por reducción directa de la actividad del receptor de las LDL, aún en ausencia de colesterol en la dieta (8,11). En nuestro laboratorio, la utilización de dietas ricas en colesterol con contenido diferente de 16:0 y ácido linoléico (18:2) no produjo diferencias significativas sobre la concentración de colesterol plasmático (13), como se comprende no está claro el efecto que tiene la presencia de 16:0 en la dieta.

Pacientes con aterosclerosis clínica también presentan aumento de marcadores moleculares plasmáticos, que reflejan mayor actividad coagulante, plaquetaria y endotelial (14) lo cual evidencia que otros factores son importantes en el desarrollo de la enfermedad.

La hiperactividad plaquetaria ha sido descrita tanto en animales de experimentación (15) como en humanos (16). En humanos con hiperlipemia IIa, las plaquetas tienen mayor sensibilidad a los efectos de varios agregantes (16). Dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados omega 3, producen menor agregación plaquetaria (17) mientras que grasas preferentemente saturadas la aumentan (18). En animales, algunos estudios demuestran que las grasas preferentemente saturadas producen disminución de la agregación (19). Por lo tanto, la dieta consumida no solamente modifica la concentración de colesterol plasmático sino también la reactividad plaquetaria.

Un aspecto muy importante a considerar en la etiopatogenia de la aterosclerosis, es la formación de LDLc modificada por procesos oxidativos. Desde los estudios iniciales de Goldstein y Brown (20,21), se acepta que la tasa de aclaramiento de la LDL del plasma, se realiza a través de dos mecanismos: un mecanismo saturable, mediado por el receptor BE, y otro mecanismo no saturable realizado por el receptor recolector (Scavenger receptor) (21,22). El receptor BE aclara la LDL nativa o natural y el recolector aclara la LDL que ha sufrido modificaciones bioquímicas o enzimáticas (20-25).

Numerosos trabajos de investigación han demostrado que la captación por los macrófagos de la LDL modificada, es la responsable de la formación de las células espumosas, las cuales a su vez se agrupan en la estría grasa. Por lo tanto es importante conocer los factores que hacen que la LDL sea susceptible a sufrir modificación oxidativa. Esta susceptibilidad depende: por una parte del grado de peroxidación de los ácidos grasos que la constituyen (24,27) y por otra del contenido de antioxidantes transportado por la molécula de LDL (26-30). Debido a que la LDL tiene un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, principalmente 18:2, ácido araquidónico (20:4) y docosa hexahenoico (22:6), es una molécula altamente susceptible al proceso oxidativo.

En vista de la influencia de la reactividad plaquetaria y la oxidación de la LDL en el desarrollo de la lesión aterosclerótica, se planificó evaluar el efecto de la administración prolongada de dietas enriquecidas con colesterol y aceites con diferentes concentraciones de ácido palmítico y de vitaminas antioxidantes, sobre las concentraciones de lípidos plasmáticos,

antioxidantes del plasma y agregación plaquetaria en conejos, factores directamente relacionados con el desarrollo del proceso aterosclerótico.

MATERIALES Y METODOS

Animal Experimental: Se utilizaron 27 conejos Nueva Zelanda de 2,5-3 kg de peso corporal, distribuidos en tres grupos de acuerdo con la dieta administrada, la cual fue suplida durante un período de diez meses

Grupo I.- Alimentado con conejarina más colesterol 0.1% (p/p). La composición porcentual de la conejarina utilizada fue la siguiente: proteína 15%, grasa 3%, fibra 18%, elementos no nitrogenados 40%.

Grupo II: Alimentado con conejarina más colesterol 0.1% (p/p) más aceite de palma semipurificado 10%. El aceite de palma semipurificado contenía ácido palmítico 39.8%; ácido oleico 48.7%, ácido linoleico 11.4%, además retinol 7.3ug/dL y alfa-tocoferol 157,6 ug/dL.

Grupo III: Alimentado con conejarina, más colesterol 0.1% (p/p) más aceite crudo de palma 10%. En el aceite crudo de palma la concentración de ácido palmítico fue de 45.3%, ácido oleico: 46.3%, ácido linoleico 7.9%, retinol 96.4ug/dL y alfa-tocoferol 322.8 ug/dL.

Preparación de las dietas: Dieta suministrada al grupo I: Se muele la conejarina comercial y se le añade colesterol (p/p), se mezcla, se humedece, luego se re-estructura semejando su presentación original, se seca a 30°C. Se utilizó colesterol Grado A (Sigma Chemical Company, St Louis, Mo).

Dieta del grupo II: El aceite de palma semipurificado se calienta a 37°C, en baño de maría y se le añade el colesterol para alcanzar una concentración final definitiva de 0.1% (p/p). En un envase plástico transparente, se coloca la conejarina y se mezcla con el aceite a una concentración final de 10%.

Dieta del grupo III: Se procesa en igual forma que la del grupo II, utilizando aceite crudo de palma en lugar de aceite semipurificado.

El aceite crudo de palma fue obtenido de plantaciones del Estado Portuguesa, Venezuela. El aceite semipurificado fue preparado en nuestro laboratorio a partir del aceite crudo, mediante procesos de sedimentación en frío y filtración (31).

Se utilizó la T de Student para comparar los resultados de los grupos experimentales.

Determinaciones:

- Lípidos plasmáticos: Colesterol, triglicéridos y lipoproteínas plasmáticas se determinaron utilizando métodos enzimáticos. (Wiener enzymatic kit).
- Ácidos grasos en los aceites de las dietas se determinaron utilizando el método de Folch (32), cromatografía de capa fina (TLC) y HPLGC. (Laboratorio de lípidos, I.M.E.-U.C.V.).
- Agregación plaquetaria: Estos estudios se realizaron en plasma rico en plaquetas, utilizando como agente agregante

ADP, a dos concentraciones 5 y 10 μM . Se utilizó un agregómetro Crono-log de 2 canales.

- Retinol y alfa tocoferol: En el aceite añadido a las dietas y en el plasma de los animales se determinó por cromatografía líquida de alta eficiencia y fase reversa en un cromatógrafo H.P.50 (34).
- Vitamina C: Se determinó dentro de las primeras 2 horas de obtenida la muestra. Se utilizó el método de la 2,4 dinitrofenil - hidrazina (33).

RESULTADOS

En la Figura 1 se reflejan las concentraciones de colesterol plasmático total, determinadas mensualmente durante el período de estudio en cada grupo experimental. A partir del segundo mes hay un aumento marcado en todos los grupos, con respecto a sus valores basales. En la Tabla 1 están representadas las concentraciones promedio de colesterol total al inicio y al final del experimento. Cada grupo presentó un aumento significativo de dicha variable ($P < 0.05$). Sin embargo no hubo variación significativa entre los grupos al final del período experimental.

FIGURA 1

Colesterol plasmático total (mg/dL) en conejos sometidos a dietas enriquecidas con colesterol (—○—), colesterol más aceite semipurificado de palma (—◇—) y colesterol más aceite crudo de palma (—*—)

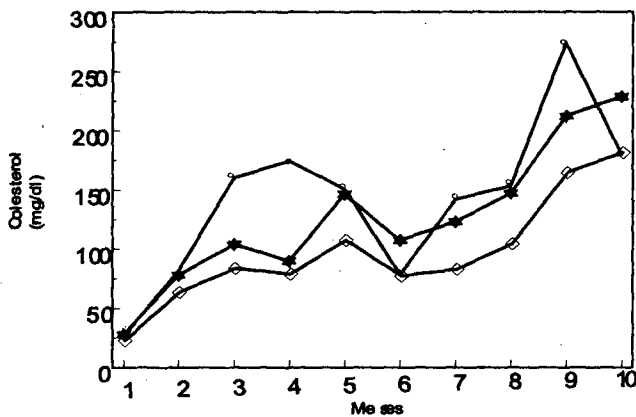


TABLA 1

Colesterol plasmático total

Grupo	Inicial	Final
I	26.6 ± 6.3	172 ± 52.5 (P = 0.022)
II	23.1 ± 2.4	181.33 ± 2.4 (P = 0.044)
III	28.0 ± 3.6	228.6 ± 50.7 (P = 0.007)

Concentración de colesterol plasmático total (mg/dL) al inicio y al final del período experimental $X \pm E.E.$

Las concentraciones de LDLc variaron en forma paralela al colesterol total (Figura 2 y Tabla 2).

Las concentraciones de triglicéridos oscilaron moderadamente en todos los grupos, durante los diez meses del estudio, sin variaciones importantes.

FIGURA 2

LDLc (mg/dL) en conejos sometidos a dietas enriquecidas con colesterol (—○—), colesterol más aceite semipurificado de palma (—◇—) y colesterol crudo de palma (—*—)

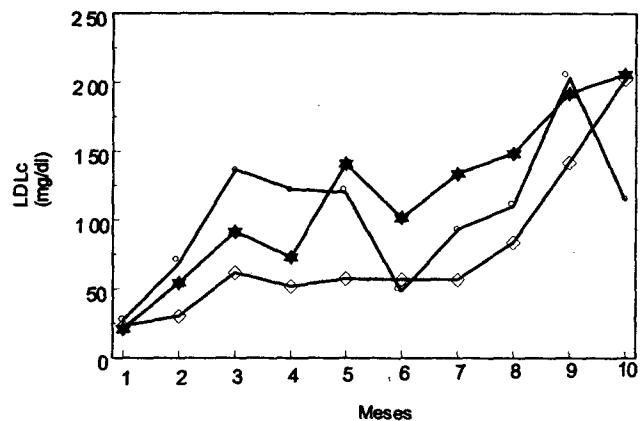


TABLA 2

LDLc plasmático

Grupo	Inicial	Final
I	27.4 ± 7.4	145.0 ± 53.6 (P = 0.046)
II	22.7 ± 2.4	144.8 ± 40.6 (P = 0.043)
III	20.9 ± 2.2	192.8 ± 52.3 (P = 0.043)

Concentración plasmática de LDLc (mg/dL) al inicio (I) y final (F) del período experimental $X \pm E.E.$

En la Tabla 3 se representan las concentraciones plasmáticas promedio de HDLc al principio y al final del estudio en los tres grupos de animales. Es importante resaltar que los grupos II y III los cuales recibieron aceite de palma más colesterol presentaron valores más elevados que en el grupo I, cuya dieta fue enriquecida solo con colesterol. La variación fue significativa entre los grupos I y II.

Las concentraciones promedio de retinol y alfa tocoferol en el plasma de los distintos grupos de conejos al final del período experimental están representadas en la Tabla 4. No se apreció cambio significativo, a pesar de las marcadas diferencias en las concentraciones de estas vitaminas en las grasas añadidas a las dietas experimentales (Tabla 5).

TABLA 3
HDLc plasmático

Grupo	Inicial	Final
I	24.9± 6.8	23.5 ± 3.9 (P = NS)
II	17.9± 1.6	34.6± 5.1 (P = 0.039)
III	19.7± 3.2	33.1± 3.9 (P = NS)

Concentración plasmática de HDLc (mg/dL) al inicio (I) y final (F) del período experimental X±E.E.

TABLA 4
Retinol y alfa-tocoferol plasmático

Grupo	Retinol	Alfa-tocoferol
I	126.3± 46.6	1.578.5± 1.036
II	123.9 ± 41.9	2.092.1± .275
III	139.3± 41.1	1.505.0± 853.5
	NS	NS

Concentración plasmática de retinol y alfa tocoferol (ug/dL) al final de período experimental (10 meses) X±E.E.

TABLA 5
Retinol y alfa-tocoferol en los aceites

Dieta	Retinol	Alfa-tocoferol
Grupo II (aceite de palma semipurificado 10%)	7.3	157.6
Grupo III (aceite crudo de palma 10%)	96.4	322.8

Concentración de retinol y alfa-tocoferol (ug/dL) en el aceite añadido a las dietas.

En la Figura 3 se observan las concentraciones de vitamina C, los valores fueron menores en el grupo I con respecto a los grupos II y III (P< 0.05).

En la Figura 4 podemos apreciar el porcentaje de agregación plaquetaria en los 3 grupos experimentales. Se utilizaron dos concentraciones diferentes de ADP. En este estudio, realizado al final del experimento, se aprecia una disminución significativa en el porcentaje de agregación (P<0.03) en los grupos II y III a las dosis de ADP utilizadas. Estos grupos recibieron aceite de palma más colesterol.

FIGURA 3

Concentración plasmática de vitamina C (mg/dL) en los tres grupos estudiados. X±D.S. (al final del período experimental: 10 meses)

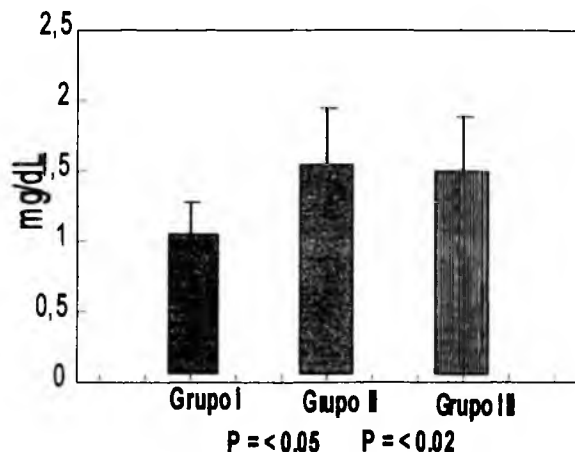
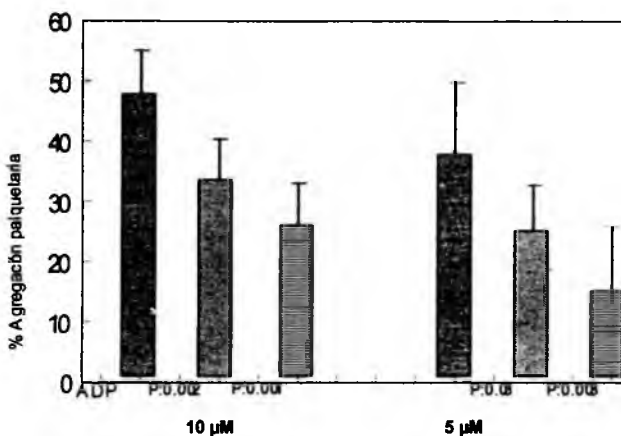


FIGURA 4

Porcentaje de agregación plaquetaria con ADP (10 y 5 µM) en grupo I (), grupo II () y grupo III (). X±DS



DISCUSION Y CONCLUSIONES

En nuestro estudio planificamos administrar con la dieta, además de una dosis constante de colesterol dos tipos de aceites extraídos de la palma Africana. Los aceites contienen diferentes concentraciones de ácidos grasos saturados, especialmente ácido palmítico y vitaminas antioxidantes: retinol y alfa-tocoferol.

A diferencia de otros estudios, donde la administración de 16:0, no indujo aumentos en la colesterolemia en animales experimentales, (3) y en humanos normocolesterolémicos (4,5); en este ensayo, las dietas administradas a los 3 grupos de animales, contenían 0,1% de colesterol, lo cual determinó un aumento significativo en su concentración plasmática, en todos los grupos, cuando se compararon los valores iniciales y finales.

Por otra parte, aunque no hubo diferencia significativa en los valores de colesterol entre los 3 grupos al final del experimento, las cifras ligeramente superiores en los grupos II y III, pudieran reflejar una tendencia a aumentar la colesterolemia, como consecuencia del sinergismo entre colesterol y el porcentaje de ácidos grasos saturados en la dieta, como ha sido reportado por otros autores (8,12).

La presencia de antioxidantes en la molécula de LDL es un factor que la protege de la oxidación (27-30) y la subsecuente modificación que facilita su captación por los receptores recolectores de los macrófagos (21-25). En nuestro diseño experimental el aceite crudo de palma añadido a la dieta contenía una concentración de retinol y alfa-tocoferol muy superior a la del aceite semipurificado, sin embargo, en el plasma de los dos grupos de animales que recibieron estos aceites, las concentraciones de las vitaminas no presentaron variaciones significativas, lo cual nos induce a pensar que las cantidades absolutas de estas sustancias en los pequeños volúmenes de grasa (10%) añadidos a las dietas, no alcanzaron concentraciones suficientes para ejercer efectos protectores. Un hallazgo para el cual no tenemos una explicación clara, es la menor concentración de vitamina C en el plasma de los animales que recibieron dietas enriquecidas con colesterol solo (grupo I) con respecto a los grupos II y III cuyas dietas contenían además del colesterol, el aceite de palma. Hemos pensado que un mayor consumo de la vitamina, pudiera corresponderse con el hallazgo encontrado. El aumento del colesterol plasmático produce un incremento en la oxidación de las LDL, lo cual pudiera inducir mayor utilización de vitaminas antioxidantes (E y C) (35).

La disminución significativa del porcentaje de agregación plaquetaria en los grupos II y III que recibieron dietas enriquecidas con aceite de palma en un hallazgo altamente significativo, dada la importancia preponderante que la hiper-reactividad plaquetaria tiene en el desarrollo del proceso arterosclerótico (14).

Es aceptado que el aumento del colesterol plasmático, incrementa el porcentaje de agregación plaquetaria (15,16). La presencia de un ácido graso saturado (16:0) en la dieta de estos animales pudiera explicar la disminución de la agregación encontrada al modificar la composición de los ácidos grasos de la membrana plaquetaria. Sin embargo, no podemos descartar la posible influencia de las sustancias antioxidantes, a pesar de que no tenemos evidencias directas de ello. Es importante resaltar que el grupo de animales con el menor porcentaje de agregación plaquetaria (grupo III) fue el que recibió la dieta con la mayor concentración de vitaminas antioxidantes.

Podemos concluir que en el diseño experimental utilizado, la adición de grasas saturadas con vitaminas antioxidantes a la dieta de conejos hipercolesterolémicos produjo una disminución en el porcentaje de agregación plaquetaria con ADP. Son necesarios más estudios para precisar el o los factores determinantes de este hallazgo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la valiosa colaboración prestada por las Licenciadas Angela Martínez y Amarillys Mago y a los señores: Carmen Rodríguez, Wagner González y Mariela Borges por la realización de este trabajo y al CDCH por su financiamiento en proyecto N° 09.389.98.

REFERENCIAS

1. Keys A, Anderson JT, Grande F. Serum cholesterol response to the diet. IV. Particular saturated fatty acids in the diet. *Metabolism*. 1965;154: 776-87.
2. Hegsted DH, Mc Grandy RB, Mygrs ML, Stare FJ. Quantitative effects of dietary fat on cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* 1965;17:281-295.
3. Hayes KC, Pronczuk A, Linsey S, Diersen-Schade D. Dietary saturated fatty acids (12:0, 14:0, 16:0) differ in their impact on plasma cholesterol and lipoproteins in nonhuman primates. *Am J Clin Nutr* 1991;53:491-498
4. Sundram K, Hassan AH, Siru OH, Hayes KC. Dietary palmitate lowers cholesterol relative to laurate and myristate in humans. *Arterios thromb*. 1991; 11:1614a.
5. Sundram K, Hayes KC, Siru OH. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipemic humans. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:841-6.
6. Khosla P, Hayes KC. Comparison between the effects of dietary saturated (16:0) monounsaturated (18:1), and polyunsaturated (18:2) fatty acids on plasma lipoprotein metabolism in cebus and rhesus monkeys fed cholesterol-free diets. *Am J Clin Nutr* 1992; 55:51-62.
7. KW Ng T, Hassan K, Lim JB, Lye MS, Ishak R. Nonhypercholesterolemic effects of a palm-oil diet in Malaysian volunteers. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 101S-20S.
8. Dietschy MJ, Woollett L, Spady KD. The interaction of dietary cholesterol and specific fatty acids in the regulation of LDL receptor activity and plasma LDL-cholesterol concentrations. *Ann NY Acad Sci* 1993; 676: 11-26.
9. Spady DK, Dietschy MJ. Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. *J Clin Invest* 1988; 81: 300-309.
10. Woollett AL, Spady KD, Dietschy MJ. Mechanisms by which saturated triacylglycerols elevate the plasma low density lipoprotein-cholesterol concentrations in hamsters. *J Clin Invest* 1989;84:119-128.
11. Spady KD, Woollett AL. Interaction of dietary saturated and polyunsaturated triglycerides in regulating the processes that determine plasma low density lipoprotein concentrations in the rat. *J Lipid Res* 1990;31:1809-1819.
12. Rudel LL, Haines JL, Sawyer JK. Effects on plasma lipoproteins of monounsaturated, saturated and polyunsaturated fatty acids in the diets of African green monkeys. *J Lipid Res* 1990; 31:1873-1882.
13. Torrealba AT, Scorza T, Hamana N, de Cuervo E. Efectos del aceite de palma crudo en la dieta en conejos. *Revista Facultad Medicina* 1996; 19: 63-67.

14. Ofusu FA. The relationships of platelets to arterial thrombosis and atherosclerosis. *Rec Adv in Blood Coagulac.* 1997; N° 7: 33-48.
15. Gross LP, Rand LM, Barrow VD, Packham AM. Platelet hypersensitivity in cholesterol - fed rabbits: enhancement of thromboxane A2 - dependent and thrombin- induced, thromboxane A2 - independent platelet responses. *Atherosclerosis* 1991; 88: 77-86.
16. Davi G, Averna M, Catalano I, Barbagallo C, Ganci A, Notarbartolo A et al. Increased thromboxane biosynthesis in type IIa hypercholesterolemia. *Circulation* 1992; 85: 1792-1798.
17. Houweling VCA, Hennissen MHAA, Verbeek-Schippers F, Simonsen T, Kester MDA, Hornstra G. Effect of a moderate fish intake on platelet aggregation in human platelet-rich plasma. *Thromb Haemost* 1988; 59: 507-513.
18. Jakubowski JA, Ardlie NG. Modification of human platelet function by a diet enriched in saturated and polyunsaturated fat. *Atherosclerosis* 1978; 31, 335-344.
19. Rand M, Hennissens AAHM, Hornstra G. Effects of dietary palm oil on arterial thrombosis, platelet responses and platelet membrane fluidity in rats. *Lipids* 1988; 23: 1019-1023.
20. Goldstein JL, Brown M.S. Atherosclerosis. The low density lipoprotein receptor hypothesis. *Metabolism* 1977; 26: 1257-1275.
21. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1979; 76: 333-337.
22. Esterbauer H, Wag G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Brit Med Bull* 1993; 49: 566-576.
23. Fogelman AM, Shechter I, Seager J, Hokon M, Child J, Edwards P. Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1980; 77: 2214-2218.
24. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew ET, Khoo JC, Witztum LJ. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-924.
25. Witztum LJ, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 1785-1792.
26. Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O, Koller E. Autooxidation of human low density lipoproteins: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res.* 1987; 28: 495-509.
27. Díaz NM, Frei B, Vita AJ, Keaney FJ. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med.* 1997; 337: 408-416.
28. Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Striegl G, Waag G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low density lipoprotein. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53: 314 S-321 S.
29. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jürgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Rad Biol Med* 1992; 13: 341-390.
30. Dieber-Rotheneder M, Puhl H, Walg H, Striegl G, Esterbauer H. Effect of oral supplementation with D-alpha-tocopherol on the vitamin E content of human low density lipoproteins and resistance to oxidation. *J Lipid Res* 1991; 32: 1325-1332.
31. Kreulen HP. Fractionation and Winterization of edible fats. *J Am Oil Chem Soc* 1976; 53: 393-396.
32. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biochem* 1957; 226: 497-509.
33. *Clinical Chemistry, Second Edi, CA Burtis, ER Ashwood:* 1986; 1311-1314.
34. Bieri JG, Tolliver TJ and Catignani GL. Simultaneous determination of alpha-tocopherol and retinol in plasma or red cell by high performance liquid chromatography. *Amer J Clin Nutr* 1979; 32: 2143-2149.
35. Duthie GG, Arthur JR. The antioxidant anomaly in the stress-susceptible pig. Effect of vitamin E supplementation. *Ann New York Acad Sci.* 1989; 570: 322-334.

Recibido: 13-05-1998

Aceptado: 18-01-1999

Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (AGPI n-3) en la recuperación nutricional

Inés Fernández, María José Novoa Bermúdez, Anabel Nora Pallaro, Nora Haydee Slobodianik

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Argentina

RESUMEN. La desnutrición proteica severa al destete compromete significativamente al timo -órgano de alta velocidad de recambio celular- provocando un frenado en la proliferación y maduración celular del mismo. La administración de dieta de recuperación a base de Caseína al 20 g/100 suplementada con 24 mg/día de AGPI n-3 durante 9 días, fue capaz de revertir dicho fenómeno; el efecto de estos nutrientes esenciales es dosis-dependiente. Los factores hemostáticos estudiados (QUICK y KPTT) así como los lípidos plasmáticos permanecieron sin variaciones, con excepción de la fracción LDL-Colesterol la cual presentó un ligero incremento coincidiendo con datos reportados por otros autores. La administración diaria de 24 mg de estos AGPI n-3 no provocó modificaciones en los niveles de peroxidación lipídica en el grupo experimental, hecho que podría explicarse por la acción protectora ejercida tanto por los antioxidantes naturales del organismo como por el aporte de vitamina E de la dieta.

Palabras clave: AGPI n-3, recuperación nutricional, timo, factores hemostáticos, lípidos plasmáticos, peroxidación hepática.

SUMMARY. Importance of n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) in the nutritional recovery. Severe protein deprivation at weaning, may cause a stop in cellular proliferation and absolute number of T cells W3/13 + in the thymus of growing rats. The administration of a 20 g/100 casein recovery diet supplemented with 24 mg of n-3 PUFA during 9 days, counteracted this effect suggesting for these essential nutrients a dose-dependent response. No changes were observed in hemostatic factors such as protrombine time (QUICK) and partial active tromboplastine time (KPTT). Even though total plasma lipids showed no changes, the LDL-cholesterol fraction presented a low increment in agreement with international data. Daily administration of this supplemented diet did not show an increase in hepatic lipid peroxidation in the experimental group, suggesting that natural antioxidants and vitamin E provided by the diet might be playing a protective role.

Key words: n-3 PUFA, nutritional recovery, thymus, hemostatic factors, plasma lipids, hepatic peroxidation.

INTRODUCCION

En la última década, el interés suscitado por los Ácidos Grasos Poliinsaturados de la serie n-3 (AGPI n-3) y sus efectos sobre los distintos sistemas y tejidos del organismo, en presencia o ausencia de una patología de base, han originado innumerables investigaciones realizadas tanto en animales como en humanos. Algunos de ellos como el Acido Eicosapentaenoico (EPA), son precursores de eicosanoides biológicamente diferentes a los provenientes del Acido Araquidónico, lo cual contribuye a reafirmar las evidencias que demuestran que dichos ácidos reducen o inhiben los factores relacionados con los desórdenes inmunológicos e inflamatorios así como con el riesgo cardiovascular (1-3).

La inmunidad mediada por células se encuentra seriamente comprometida ante una deficiencia de ácidos grasos esenciales (4-8).

La mayoría de los estudios relacionados con las enfermedades cardiovasculares evalúan el efecto de los AGPI n-3 sobre el nivel de lípidos plasmáticos (triglicéridos, colesterol y sus fracciones), así como su incorporación a los fosfolípidos de las membranas celulares. Los estudios epidemiológicos

demonstraron que dietas suplementadas con estos ácidos disminuyen los niveles de triglicéridos y colesterol plasmáticos. Estos trabajos se caracterizan por diferir significativamente en las dosis utilizadas así como en el estado fisiopatológico de los pacientes en estudio (normo o hiperlipémicos). En todos ellos el objetivo perseguido consistió en reducir los trastornos propios de una situación de riesgo o evitar simplemente que ésta se manifieste (9-13).

Otros trabajos analizan el efecto de los AGPI n-3 sobre los procesos hemostáticos: tiempo de sangría, fibrinólisis, pruebas de coagulación; la agregación plaquetaria y el tiempo de sangría se encontraron disminuidos en la mayoría de los estudios (14-16).

El alto grado de insaturaciones, que caracteriza a estos nutrientes, los hace altamente susceptibles de sufrir procesos de oxidación generando radicales libres responsables del daño tisular. Este fenómeno puede ser evitado por la acción de antioxidantes provenientes de la dieta, tales como la Vitamina E y también por antioxidantes intracelulares (enzimáticos y no enzimáticos) que se comportan como mecanismos endógenos de defensa, tales como superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa entre otros (17-20).

Trabajos previos de nuestro grupo han demostrado que ratas de la Cepa Wistar con un cuadro de malnutrición proteica severo al destete, presentan atrofia tímica, caracterizada por un frenado en la proliferación y la población celular T total (21-23). La administración de una dieta de recuperación a base de caseína al 20 g/100 durante 9 días, no fue suficiente para revertir dicho fenómeno. El objetivo de este trabajo consiste en suplementar esa dieta con distintas cantidades de AGPI n-3 y seleccionar aquella a la cual este fenómeno se revierte, evaluándose si la misma es capaz de provocar modificaciones en el nivel de lípidos plasmáticos, en las pruebas de coagulación y si se produce un incremento en la peroxidación lipídica en hígado.

MATERIALES Y METODOS

Para cubrir el objetivo propuesto se diseñaron las siguientes experiencias.

Experiencia 1: Ratas de la Cepa Wistar (n=40) de colonia cerrada provenientes del Bioterio de la Cátedra de Nutrición, se destetaron a los 22 días y se sometieron a una dieta libre de proteínas hasta la pérdida del 25 g/100 de su peso inicial (Po) (cuadro de deficiencia proteica severa). Un grupo fue sacrificado (LP25) y el resto de los animales fue separado en 3 lotes a los cuales se les suministró durante nueve días una dieta de Caseína al 20 g/100 con (en cantidades variables) y sin el agregado de un suplemento de aceite de pescado (salmón) de origen comercial como única fuente de AGPI n-3 (30 g/100 de AGPI por cada gramo de aceite). El lote 1 recibió 39,3 mg/día (L1), el lote 2 recibió 77,8 mg/día (L2) de aceite, aportando 12 y 24 mg/día de AGPI n-3 respectivamente; el lote 3 recibió sólo Caseína al 20 g/100 (L).

Las dietas experimentales fueron isocalóricas y aportaron 4,05 Kcal/g siendo la única variable el contenido proteico (0 g/100 y 20 g/100) y completas en todos los otros nutrientes indispensables, según recomendaciones del American Institute of Nutrition (24) (Tabla 1).

Como control (C) se utilizaron ratas bien nutridas de igual edad alimentadas desde el destete con dieta Stock (Cargill, Proteínas: 24,7 g/100).

Durante todo el período experimental los animales se expusieron a un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (7.00 AM -7.00 PM); la temperatura del bioterio se mantuvo en 21 ± 1°C; el suministro de agua y dieta fue proporcionado "ad libitum". En los lotes L1, L2 y L, se determinó el consumo periódicamente y a partir de este dato se calculó la ingesta proteica y calórica diaria expresándose los resultados en función de la masa metabólicamente activa {P 0,75 = [(Po+Pf)/2] 0,75} (Tabla 2).

TABLA 1
Composición de las dietas experimentales

Componentes g/kg	LP25	L	L1	L2
colina	1,5	1,5	1,5	1,5
vitam. hidrosol.	2,5	2,5	2,5	2,5
proteínas	-	200	200	200
sales minerales	50,0	50,0	50,0	50,0
aceite de maíz	45,0	45,0	45,0	45,0
vitam. liposol. ^a	5,0	5,0	5,0	5,0
dextrina c.s.p.	1 kg	1 kg	1 kg	1 kg
AGPI n-3	-	-	12mg/día	24 mg/día

a) La mezcla de vitaminas liposolubles incorporada en la preparación de 5 g por kg de dieta provee:
Vit. A 400 mg/ 100 g de dieta.
Vit. E 10 mg/ 100 g de dieta.
Vit. D 200 mg/ 100 g de dieta.

TABLA 2
Consumo total de dieta, proteína total y energía de los grupos experimentales

Grupo	Consumo de dieta g/día	Proteína total g/día	Proteína total mg/día/P ^{0,75}	Energía kcal/día	Energía kcal/día/P ^{0,75}
L	7,9±0,7	1,6±0,1	80,7±2,2	29,9±2,3	1,5±0,1
L1	9,1±1,6	1,8±0,3	87,1±15,5	34,6±6,0	1,7±0,3
L2	8,0±1,6	1,6±0,3	75,9±10,3	30,9±5,9	1,5±0,2

Los resultados se expresan como X ±DE ; 6-10 ratas por grupo.

Al final de cada período experimental los animales se mantuvieron 3-4 horas en ayuno; luego fueron pesados y sacrificados. El timo fue extraído, pesado y colocado en una solución constituida por medio RPMI 1640 y Suero Bovino Fetal. Con él se prepararon suspensiones celulares monodispersas, trabajándose siempre a 4°C. Se realizó el recuento celular utilizando la cámara de Neubauer y se determinó la población celular T total usando el anticuerpo monoclonal W3/13 por la técnica de inmunofluorescencia indirecta, expresándose los resultados en celx10⁻⁷ /ml de suspensión (Tabla 3).

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando test de student.

TABLA 3
Peso corporal, peso timo, N° de timocitos y N° absoluto de células T W3/13⁺ de los grupos experimentales (L1, L2, L, LP25) y control (C)

Grupo	Peso corporal gr	Peso del timo mg	mg/Pf ^{0.75}	N° de Cel. 10 ⁻⁷ /org	N° ABS. de ^a Cel. W3/13 ⁺ 10 ⁻⁷ /ml susp.
LP25	28,9± 3,7	34,5± 24,7	2,8 ± 2,1	1,8± 0,7	0,09± 0,05
L	70,9± 7,5	226,9± 65,7	9,2± 2,2	23,7± 4,2 ^b	13,4± 2,1 ^b
L1	78,5± 1,5	297,6± 32,7	11,4± 1,6	20,0± 1,6 ^b	10,2± 2,2 ^b
L2	70,0± 2,6	270,0± 35,7	10,8± 1,8	43,7± 7,3	29,2± 0,3
C	137,1± 30,7	351,3± 60,8	8,9± 1,2	36,7± 3,8	32,1± 3,4

Los resultados se expresan como X ± DE ; 6-10 ratas por grupo.

a. fueron leídas entre 400-800 células.

b. (0,00005 < P < 0,0005) con respecto a C.

Resultados: No se observan diferencias significativas en el consumo de dieta, proteína total y energía entre los grupos L, L1 y L2 (Tabla 2).

Sólo el grupo que recibe la cantidad de 24 mg/día alcanza los valores de número de timocitos y células W3/13 + del control normal de igual edad. Este efecto no fue observado al suplementar con 12 mg/día de AGPI n-3 (Tabla 3).

Teniendo en cuenta estos resultados se selecciona la cantidad de 24 mg/día para la experiencia posterior partiendo del modelo experimental descrito en la experiencia 1.

Experiencia 2: En los lotes L y L2 se extrajo sangre por punción venosa y se extirpó el hígado entero. Se ensayaron las pruebas de coagulación: Tiempo de Protrombina (QUICK) y Tiempo de Tromboplastina Parcialmente Activado (KPTT), y se determinaron los lípidos plasmáticos (Colesterol total, Triglicéridos y HDL-Colesterol) aplicando métodos enzimáticos (Reactivos Wiener: Colestat Enzimático AA, Triglicéridos Color GPO/PAP AA y HDL Colesterol Monofase AA. Todas estas determinaciones se realizaron en una Equipo Automatizado: Ciba-Corning 550 Express). El nivel de la fracción de LDL-Colesterol se determinó por cálculo a partir de la ecuación de Friedwald:

LDL-Colesterol = Colesterol Total - (Triglicéridos/ 5+HDL-Colesterol)

El grado de peroxidación lipídica a nivel hepático se determinó aplicando dos técnicas indirectas de evaluación del fenómeno: i) TBARS: determinación fluorométrica de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, (25-26) y ii) T-BOOH: quimioluminiscencia iniciada con hidroperóxido de terbutilo, en el cual se evalúa el estado general del sistema para responder a un stress in vitro luego de ser sometido a un stress previo (27).

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando test de student (28-29).

Resultados: Se observó aumento en la fracción de LDL-Colesterol (p<0,005) al comparar L2 con L, no hallándose diferencias en los restantes lípidos plasmáticos y pruebas de coagulación (Tabla 4).

TABLA 4
Perfil de lípidos plasmáticos y pruebas de coagulación de los grupos experimentales (L2) y control (L)

Parámetros	Grupo L	Grupo L2
Colesterol total mg/100 mL	152,1±8,1	164,6±13,8
HDL-Colesterol mg/100 mL	87,7±9,2	83,3±14,9
LDL-Colesterol mg/100 mL	46,2±11,8	70,6±14,0 ^a
Triglicéridos mg/100 mL	79,3±24,1	76,7±17,4 ^a
Tiempo de QUICK %	90,0±14,1	95,6±10,1
KPTT seg	36,0±1,4	26,6±5,0

Los resultados se expresan como X ± DE ; 9-11 ratas por grupo.

a. (0,002 < p < 0,005) con respecto a L.

No se observan diferencias en TBARS ni en T-BOOH entre los grupos estudiados (Tabla 5). Es de interés destacar aquí que la información obtenida no difiere de los valores hallados para el grupo control alimentado con dieta stock (TBARS: 0,6±0,1; T-BOOH: 35,5±9,4).

TABLA 5
Análisis de la integridad del tejido hepático por TBARS y T-BOOH

Grupo	TBARS nmol/mg prot	T-BOOH 10 ³ cps/mg prot.
L	0,7±0,2	39,1±12,1
L2	0,8±0,2	36,5±10,7

Los resultados se expresan como X ± DE ; 9-11 ratas por grupo.

DISCUSION

La desnutrición proteica severa al destete provoca un frenado en la proliferación y la maduración celular del timo; este efecto no fue revertido por la administración de una dieta de Caseína al 20g/100 durante 9 días. Como terapia nutricional alternativa se ensayó la suplementación de dicha dieta con AGPI n-3 en diferentes cantidades. Los animales no experimentan modificaciones en sus hábitos alimentarios ni muestran rechazo de las dietas por el agregado de aceites de

pescado, presentando un consumo similar de dieta así como de proteína total y energía expresada en función de la masa metabólicamente activa. Sólo la administración de dicha dieta durante el mismo período experimental y suplementada con 24 mg/día de ácidos grasos poliinsaturados, es capaz de restablecer la proliferación y la población celular T total, sugiriendo que el efecto de estos nutrientes indispensables es dosis-dependiente.

El grupo que recibió el suplemento (L2) presenta valores de LDL-Colesterol superiores a los observados en el grupo sin suplementar (L), mientras que el resto de los parámetros lipídicos y las pruebas de coagulación no muestran modificaciones significativas a $p < 0,01$.

Los resultados obtenidos, por distintos investigadores, relacionados con el potencial efecto beneficioso de los aceites de pescado difieren según que los individuos estudiados sean clínicamente sanos y/o presenten una patología lipídica de base. En la mayoría de los trabajos, en hombres adultos saludables, se han observado disminuciones en los valores de los triglicéridos y las fracciones de VLDL, con incremento en los niveles de HDL2 y fundamentalmente de LDL (12-13). Las cantidades de AGPI n-3 utilizadas como suplementos en dichos trabajos oscilan entre los 2 y 7 gramos/día, lo cual representa aproximadamente, para un peso promedio de 70 kg, 0,029 a 0,100 mg por gramo de peso corporal. Nuestro trabajo experimental fue desarrollado en ratas, clínicamente sanas y normolipémicas, que luego de una desnutrición proteica severa al destete reciben una dieta de recuperación suplementada con 24 mg/día de AGPI n-3. Estos animales presentan un peso promedio de 50 g a lo largo del período experimental, lo cual equivale a una cantidad promedio de 0,480 mg por gramo de peso corporal. La diferencia en la misma (0,480 vs. 0,029-0,100) es de 16 a 5 veces mayor que la reportada en estudios en humanos, lo cual explicaría en nuestra experiencia que los niveles de triglicéridos plasmáticos no sólo no disminuyan sino que permanezcan sin modificaciones. El resto del perfil lipídico permaneció sin cambios, con excepción del LDL-Colesterol, el cual aumentó; este aumento podría explicarse en función de cambios en la afinidad del receptor de LDL por su ligando o alteraciones en la propia partícula de LDL de modo tal que no puede ser reconocida por su receptor. La potencial incorporación de estos AGPI n-3 tanto en las membranas celulares como en las lipoproteínas podría afectar la conformación y por consiguiente el comportamiento de la apolipoproteína B en la superficie de la LDL o del receptor para LDL en la superficie celular, tal como fue postulado por algunos autores (11). También es importante remarcar que durante el período de depleción proteica severo al que fueron sometidos los animales, previo a la administración de la dieta de recuperación, podrían afectarse los niveles de apolipoproteína B, lo cual podría contribuir a exacerbar las alteraciones en la interacción ligando receptor (30).

Los resultados demuestran que el agregado de 24 mg/día de AGPI n-3 no provoca cambios o alteraciones en el tejido

hepático -órgano de importancia en el metabolismo lipídico - . A nivel internacional y con el objeto de evitar daño oxidativo, se aconseja el agregado de vitamina E como dL-alfa-tocoferol, cuando se suplementa la dieta con ácidos grasos de la serie n-3. La cantidad establecida es 2,68 mg Vit. E/gr de DHA y 2,24 mg de Vit E/gr de EPA, respectivamente (17). Este agregado no fue realizado en nuestro trabajo por la necesidad de tener una única variable determinante de los cambios a nivel tímico. Si tenemos en cuenta el aporte original de vitamina E de la dieta experimental (cada gramo de dieta aporta 0,1 mg de dicha vitamina) y el suplemento de AGPI n-3, veremos que la relación propuesta es ampliamente superada; por cada 24 mg de EPA + DHA se deberían consumir 0,059 mg de vitamina E, ingiriéndose en realidad 0,8 mg (Tablas 1 y 2).

Esto nos permite postular la existencia de un potencial efecto protector antioxidante ejercido por la vitamina E dietaria en acción sinérgica con los antioxidantes intracelulares, evitando el daño hepático que podría provocar la incorporación de los AGPI n-3 en la dieta de recuperación nutricional. Por otra parte, es de interés destacar que la cantidad utilizada como suplemento, no provoca alteraciones en los parámetros bioquímicos evaluados siendo suficiente para revertir los efectos mencionados de la malnutrición proteica severa sobre el timo de ratas en período de crecimiento activo.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Sra. Lía C. de Calafat por su asistencia técnica en la elaboración de las dietas. Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Universidad de Buenos Aires.(FA-021 y TB-077)

REFERENCIAS

1. Sanders TAB. Marine oils: metabolic effect and role in human nutrition. Proc Nutr Soc 1993;52: 457-472.
2. Hwang D. Essential fatty acids and immune response. Faseb J 1989;3:2052-2061.
3. Locniskar M, Nauss K and Newberne PM. The effect of quality and quantity of dietary fat on the immune system. J Nutr 1983;113:951-961.
4. Gibney MJ and Hunter B. The effect of short and long term supplementation with fish oil on the incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids into cells of the immune system in healthy volunteers. Eur J Clin Nutr 1993;47:255-259.
5. Hinds A and Sanders TAB. The effect of increasing levels of dietary fish oil rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on lymphocyte phospholipid fatty acid composition and cell-mediated immunity in the mouse. Br J Nutr 1993;69:423-429.
6. Marshall LA and Johnston PV. The influence of dietary essential fatty acids on rat immunocompetent cell prostaglandin synthesis and mitogen-induced blastogenesis. J Nutr 1985;115:1572-1580.

7. Barone J, Herbert JR and Reddy MM. Dietary fat and natural-killer-cell activity. *Am J Clin Nutr* 1989;50:861-867.
8. Kelley DS, Branch LB and col. Dietary alfa-linolenic acid and immunocompetence in humans. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 40-46.
9. Von Lossonczy TO, Ruiter A, Bronsgeest-Schoute HC, Van Gent CM & Hermus RJJ. The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 1978;31:1340-1346.
10. Bronsgeest-Schoute HC, Van Gent CM, Luten JB & Ruiter A. The effect of various intakes of w3 fatty acids on blood lipid composition in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 1981;34:1752-1757.
11. Harris WS, Zucker ML and Dujovne CA. w-3 Fatty acids in hypertriglyceridemic patients: triglycerides vs methyl esters. *Am J Clin Nutr* 1988;48:992-997.
12. Kestin M, Clifton P, Belling GB and Nestel PJ. n-3 Fatty acids of marine origin lower systolic blood pressure and triglycerides but raise LDL cholesterol compared with n-3 and n-6 fatty acids from plants. *Am J Clin Nutr* 1990;51:1028-1034.
13. Fumeron F, Brigant L, Ollivier V, et al. n-3 Polyunsaturated fatty acids raise low-density lipoproteins, high-density lipoprotein 2, and plasminogen-activator inhibitor in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 1991;54:118-122.
14. Herold PM and Kinsella JE. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: a comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am J Clin Nutr* 1986;43:566-598.
15. Luostarinen R, Wallin R and Saldeen T. Dietary (n-3) fatty acids increase superoxide dismutase activity and decrease thromboxane production in the rat heart. *Nutr Res* 1997;17:163-175.
16. Houwelingen RV, Nordoy A, van der Beek E, Houtsmuller U, de Metz M and Hornstra M. Effect of a moderate fish intake on blood pressure, bleeding time, hematology, and chemistry in healthy males. *Am J Clin Nutr* 1987;46:424-436.
17. Allard JP, Kurian R, Aghdassi E, Muggli R & Royall D. Lipid peroxidation during n-3 fatty acid and vitamin E supplementation in humans. *Lipids* 1997;32(5):535-542.
18. Gonzalez ML, Gray JJ, Schemmel RA, Leroy Dugan Jr & Welsch C. Lipid peroxidation products are elevated in fish oil diets even in the presence of added antioxidants. *J Nutr* 1992;122:2190-2195.
19. Meydani M, Natiello F, Goldin B & col. Effect of long-term fish oil supplementation on vitamin E status and lipid peroxidation in women. *J Nutr* 1991;121:484-491.
20. Abbé MR, Trick KD & Beare-Rogers JL. Dietary (n-3) fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr* 1991;121:1331-1340.
21. Slobodianik NH, Pallaro AN, López MC, Roux ME, Río ME. Effect of short term protein refeeding on the thymus of growing rats after marginal and severe protein deficiency. *Nutr Res* 1989; 9 (8):921-929.
22. Slobodianik NH, Pallaro AN, Roux ME et al. Effect of marginal protein depletion on lymphoid organs of growing rats. *Nutr Rep Int* 1988; 7:91-97.
23. Roux ME, Río ME, Slobodianik NH, et al. Effect of severe protein deficiency on the expression of surface and intracellular markers of lymphoid organs in growing rats. *Com Biol* 1983;2:175-181.
24. Report of American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J Nutr* 1977;107:1340-1342.
25. Esterbauer H & Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth Enzymol* 1990;186:407-421.
26. Draper HH & Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth Enzymol* 1990;186:421-431.
27. González Flecha B, Llesuy S & Boveris A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver and muscle. *Free Radic Biol Med* 1991;10:93-100.
28. Schwartz D. *Methods statistiques. a l'usage des medecins et des biologistes. De. Medicales Flammarion. Paris :1963.*
29. Scheffé H. *The analysis of variance. New York. Wiley (Ed). 1959.*
30. Guiro AT & Shall MG. *Transthyretine et Apolipoproteines A et B au cours de la malnutrition proteino-energetique des enfants senegalais. En: Alimentation et nutrition dans les pays en developpement. Karthala-ACCT, Aupelf, Paris, 1991, p. 304-309.*

Recibido: 20-07-1998

Aceptado: 17-12-1998

Consumo de alimentos e ingesta de algunos nutrientes en la población de la Universidad Nacional de Luján, Argentina

Ana Pacin, Elena Martínez, María Luz Pita Martín de Portela, María Susana Neira

Universidad Nacional de Luján, Universidad de Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. Se llevó a cabo en la población de la Universidad Nacional de Luján una encuesta dietética de recordatorio de 24 hs. para evaluar: a) el consumo de alimentos y el aporte energético efectuado por el grupo de cereales, y b) la adecuación de la ingesta de proteínas, calcio, hierro, vitaminas A, B1, B2, C y niacina. La muestra (16% de la población y 4% en cada una de las estaciones del año) estuvo compuesta por: 189 varones (G1V) y 209 mujeres (G1M) de 18 a 24 años; y 189 varones (G2V) y 240 mujeres (G2M), entre 25 y 50 años. El aporte energético de los cereales (90% trigo) fue 32% en las mujeres jóvenes, entre el 40% y 48% en los otros tres grupos. El consumo promedio diario de carne vacuna osciló entre 90,5 y 128,7 g en las mujeres y fue superior a 140,0 g en los varones. El consumo de productos lácteos, así como el de frutas y verduras fue muy bajo en todo los grupos. La ingesta promedio de proteínas fue superior a 1,25 g/kg/día en el 50% de la población total. La ingesta de calcio fue inferior a la ingestas recomendadas en el 71% de G1M, 62% de G2M, 64% de G1V y 65% de G2V. Las ingestas promedio de hierro oscilaron entre 16,4 y 20,8 mg/día en las mujeres y 17,5 y 19,2 mg/día en los varones, siendo aportado por las carnes: G1M 16%, G2M 21%, G1V 34% y G2V 26% (lo que implica una biodisponibilidad elevada), y por las infusiones, fundamentalmente el mate (56% en G1M, 12% en G1V, 25% G2V y 29% G2M). La ingesta de vitamina A superó las ingestas recomendadas entre el 26% y el 41% en los diferentes grupos. La ingesta promedio de vitamina B1 representó el 89% de las ingestas recomendadas en los varones jóvenes y las superó en los demás grupos. La ingesta promedio de vitamina B2 superó las ingestas recomendadas en todos los grupos, con una gran disposición de valores. Este comportamiento se repitió en el caso de la vitamina C y la niacina. Los resultados expresados muestran un elevado consumo de proteínas, bajo consumo de lácteos, lo que trae aparejado una insuficiente ingesta de calcio y vitamina A, y bajo consumo de frutas, verduras y hortalizas. Además, desde el punto de vista toxicológico, el predominio del consumo de alimentos derivados del trigo alerta acerca de la necesidad de evaluar el riesgo de exposición a micotoxinas. La educación nutricional dirigida a modificar los hábitos alimentarios redundaría en un gran beneficio sobre el estado nutricional.

Palabras clave: Consumo de alimentos, ingesta diaria de nutrientes, hábitos alimentarios, adecuación nutricional.

SUMMARY. Food consumption and intake of several nutrients of Luján University's population (Buenos Aires, Argentina). A dietary survey was carried out at the National University of Luján (Argentina), with the objective of evaluating: a) food consumption and energy supply of cereals; b) the adequation of the intake of protein, calcium, iron, vitamins A, B1, B2, C and niacin, regarding the Recommended Dietary Allowances (RDA). A representative sample of 827 people (16% of the total population of 1991, equally distributed in the four seasons) was assessed with a 24 hour dietary recall. Sample was composed by: males: 189, aged 18-24 ys (G1M); 189, aged 25-50 ys (G2M); females: 209, aged 18-24 ys (G1F); 240, aged 25-50 ys (G2F). The results showed that cereals, 90% deriving from wheat products, supplied 32% of the total energy intake in G1F and between 40% and 48% in the other three groups. The mean daily intake of meat ranged between 90,5 g and 128,7 in females and over 140,0 g in males. Dairy products consumption was quite low, as well as fruits and vegetables in the whole of the population. Protein intake was over 1,25 g/d in 50% of the population. Calcium intake was below the RDA in a great percentage of the population, the mean percentage of adequation being: G1F, 71%; G2F, 62%; G1M, 64%; G2M, 65%. Iron mean daily intake was quite good, ranging between 16,4 and 20,8 mg in females and between 17,5 and 19,2 mg in males. The percentage of iron supplied by meat was: G1F, 16%; G2F, 21%; G1M, 34% and G2M, 26%; therefore iron bioavailability can be considered high. Besides, "mate", which is drunk between meals, supplied between 25% and 29% of the total iron intake in females and between 12% and 56% in males. Vitamin A intake was below the RDA in 74% to 58% of the population. The mean intake of vitamin B1 was 89% of the RDA in G1M and over RDA in the other three groups. Intake and percentage of adequation of vitamin B2, vitamin C and niacin presented a great range, but the mean values were over the RDA. The overall results showed: a) a high protein intake, providing red meat between 26% and 39%; b) low consumption of dairy products, with the consequence of a low calcium and vitamin A intake; c) low consumption of fruits and vegetables, being in relation to the low intake of fibre and carotenes; d) high consumption of cereals, mainly wheat products, that must be controlled from the toxicological point of view, due to the variable presence of mycotoxins. These results are in agreement with other dietary surveys carried out in previous years and are a consequence of some characteristic feeding habits of the Argentine population. They show that nutritional education is necessary for promoting changes in the latter, with the aim of reaching a better nutritional status.

Key words: Food consumption, nutrients daily intake, feeding habits, nutritional adequation.

INTRODUCCION

El conocimiento acerca de los hábitos alimentarios de un país tiene importancia no sólo desde el punto de vista nutricional, para calcular la ingesta de nutrientes, sino también desde el toxicológico, para poder evaluar el riesgo de exposición a sustancias tóxicas de diferentes orígenes (1,2).

En Argentina existe un gran vacío de encuestas nacionales de ingesta de alimentos y de evaluación del estado nutricional, así como de datos nacionales actualizados de composición de alimentos (3,4); en consecuencia, los datos existentes con respecto a la adecuación de la ingesta de nutrientes son muy escasos. La información disponible proviene del análisis de las hojas de balance de alimentos (5) o de encuestas llevadas a cabo en grupos de población determinados (6-9).

Por ello, el Ministerio de Salud y Acción Social adhirió a las resoluciones de la Conferencia Mundial sobre Nutrición y planteó en sus objetivos establecer un diagnóstico actualizado y completo de situación nutricional del país (3). En tanto no se lleve a cabo esa tarea es importante contar con estudios parciales, aunque sean acotados a algunas áreas geográficas y/o a grupos étnicos específicos.

En función de dichos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue realizar, en la población de la Universidad Nacional de Luján, una encuesta dietética de recordatorio de 24 hs., y evaluar: a) el consumo de alimentos y el aporte energético efectuado por el grupo de cereales; b) adecuación de la ingesta de proteínas, calcio, hierro, vitamina A, B1, B2, C y niacina.

MATERIALES Y METODOS

Población

La encuesta alimentaria se llevó a cabo en la Universidad Nacional de Luján (UNLU), Provincia de Buenos Aires, Argentina, situada a 60 km. al Oeste de la Capital Federal, cuya población abarcaba, en el momento de la encuesta (año 1991) 5.637 personas mayores de 18 años, entre estudiantes, docentes y no docentes (datos provenientes de los Registros de las Oficinas de Personal y de Alumnos).

Los individuos fueron elegidos al azar y encuestados de lunes a sábado, desde el 1 de noviembre de 1991 hasta el 31 de octubre de 1992. El número de individuos, calculado para considerar la muestra representativa, fue de 4% del total (10). Por ello, debido a las variaciones estacionales en el consumo de alimentos, se tomó una muestra de 4% en cada una de las estaciones del año, lo cual totalizó 16% de la población de la Universidad (n=901). Se descartaron 74 encuestas del total de la muestra, por no ajustarse a las pautas exigidas para su confiabilidad. La distribución de la población estudiada de acuerdo a sexo y edad se describe en la Tabla 1.

TABLA 1
Características de la población estudiada

	Mujeres		Varones	
	18-24	25-50	18-24	25-50
Edad (años)	18-24		25-50	
Grupo	G1M	G1V	G2M	G2V
Tamaño de muestra	209	189	240	189
Peso corporal (kg) ^a	58,9±8,7	70,3±9,9	62,5±9,9	73,9±10,3
Rango (kg)	(38-81)	(50-120)	(42-99)	(55-115)

a Media ± desvío estándar

Recolección de datos de consumo de alimentos

La recolección de datos se llevó a cabo mediante el método de recordatorio de 24 hs. del consumo de alimentos del día anterior. Para ello se diseñó un formulario de 10 planillas conteniendo 169 preguntas: las 20 primeras consignaron los datos personales, demográficos y socio-culturales; 147 registraron el consumo de alimentos y las dos últimas se refirieron al modo de consumirlos. El consumo de alimentos se registró mediante medidas caseras (tazas, cucharas u otras), y posteriormente, se calcularon los pesos correspondientes utilizando la equivalencias adecuadas en granos (11).

Análisis de los resultados

El cálculo de la ingesta de nutrientes se realizó, fundamentalmente, en base a los datos de las Tablas Alemanas de Composición de Alimentos (12); sin embargo, para algunos alimentos típicamente argentinos se utilizaron las Tablas Nacionales (13) y para otros que no figuraban en ninguna de las anteriores se utilizaron los datos recopilados por Conexa (14) o los registrados en los rótulos de alimentos procesados.

Mediante un programa de computación, desarrollado especialmente para tal fin, se calcularon los promedios diarios "per capita", el desvío estándar y los rangos del consumo de alimentos y los promedios, desvío standard y medianas de la ingesta de energía (Kcal), proteínas (g), calcio (mg), hierro (mg), vitaminas A (Eq. R), B1 (mg), B2 (mg), C (mg) y niacina (mg); asimismo, se evaluaron los porcentajes de adecuación de los nutrientes con respecto a las Ingestas Recomendadas (IR) por el National Research Council (NRC) (15). En el caso de energía las necesidades diarias se estimaron en base al Metabolismo Basal, calculado como función del peso corporal y a la actividad física, según los criterios de FAO/OMS/UNU (16).

RESULTADOS

Consumo de alimentos

En la Tabla 2 se muestran las cifras de consumo promedio diarias "per capita" (g ó ml/día), el desvío estándar y los rangos, de alimentos para los cuatro grupos de subpoblaciones estudiados. Se puede observar que en el grupo de cereales, los alimentos derivados del trigo presentaron el mayor consumo

TABLA 2
Consumo promedio diario de alimentos

Grupos (edad en años) Tamaño de muestra Alimento (gr ó ml/día)	Mujeres								Varones							
	G1 (18-24) n=209				G2 (25-50) n=240				G1 (18-24) n=189				G2 (25-50) n=189			
	Media ± DS	Rango	Media ± DS	Rango	Media ± DS	Rango	Media ± DS	Rango	Media ± DS	Rango	Media ± DS	Rango				
Pan blanco	47,4 ± 66,7	0,0 300,0	43,8 ± 61,2	0,0 360,0	110,3 ± 95,3	0,0 360,0	85,0 ± 89,2	0,0 300,0								
Galleticas saladas	33,4 ± 54,2	0,0 330,0	43,5 ± 64,2	0,0 450,0	56,1 ± 94,0	0,0 590,0	35,7 ± 59,9	0,0 340,0								
Pan de Viena	37,7 ± 66,6	0,0 224,0	12,7 ± 32,7	0,0 216,0	29,4 ± 65,9	0,0 432,0	23,9 ± 57,1	0,0 316,0								
Facturas	20,3 ± 49,8	0,0 400,0	11,6 ± 33,2	0,0 150,0	42,2 ± 68,6	0,0 400,0	21,5 ± 44,7	0,0 150,0								
Galleticas dulces	2,4 ± 18,4	0,0 200,0	27,9 ± 57,2	0,0 450,0	33,2 ± 66,1	0,0 250,0	16,9 ± 42,7	0,0 250,0								
Pastas	5,8 ± 36,3	0,0 280,0	48,4 ± 121,1	0,0 700,0	67,0 ± 137,5	0,0 460,0	56,9 ± 130,8	0,0 650,0								
Tapas	15,5 ± 50,0	0,0 288,0	18,9 ± 57,0	0,0 310,0	28,8 ± 83,3	0,0 480,0	31,4 ± 84,0	0,0 496,0								
Pizza	20,7 ± 68,6	0,0 400,0	25,3 ± 77,9	0,0 400,0	78,1 ± 147,7	0,0 400,0	51,3 ± 118,6	0,0 400,0								
Torta tipo bizcochuelo	11,9 ± 36,5	0,0 256,0	5,8 ± 24,0	0,0 200,0	11,9 ± 40,6	0,0 328,0	8,1 ± 28,8	0,0 200,0								
Pan de salvado	7,7 ± 25,5	0,0 160,0	4,6 ± 16,7	0,0 120,0	0,8 ± 5,7	0,0 40,0	6,2 ± 24,7	0,0 160,0								
Alfajores	3,9 ± 18,7	0,0 180,0	1,5 ± 10,8	0,0 120,0	11,6 ± 33,6	0,0 240,0	4,0 ± 15,0	0,0 60,0								
Tortas con frutas	2,1 ± 13,9	0,0 150,0	2,0 ± 11,8	0,0 100,0	2,6 ± 12,2	0,0 100,0	1,8 ± 11,8	0,0 100,0								
Arroz	8,2 ± 23,3	0,0 200,0	8,2 ± 21,4	0,0 90,0	13,4 ± 46,2	0,0 300,0	9,9 ± 26,9	0,0 200,0								
Polenta ^a	21,2 ± 80,0	0,0 400,0	11,4 ± 49,9	0,0 400,0	5,2 ± 31,9	0,0 200,0	22,8 ± 78,4	0,0 400,0								
Pan de centeno	3,5 ± 14,2	0,0 120,0	2,3 ± 11,2	0,0 80,0	3,1 ± 18,7	0,0 200,0	1,6 ± 11,4	0,0 120,0								
Avena	1,8 ± 11,6	0,0 100,0	0,8 ± 6,3	0,0 50,0	1,8 ± 10,7	0,0 100,0	1,0 ± 7,1	0,0 50,0								
Copos de maíz	21,6 ± 76,4	0,0 540,0	2,2 ± 19,8	0,0 180,0	2,8 ± 29,0	0,0 360,0	2,8 ± 22,3	0,0 180,0								
Maizena ^b	1,6 ± 12,7	0,0 160,0	0,2 ± 2,8	0,0 40,0	0,6 ± 6,1	0,0 80,0	0,2 ± 2,9	0,0 40,0								
Cereales de caja	0,5 ± 3,0	0,0 30,0	1,0 ± 8,0	0,0 75,0	0,6 ± 6,3	0,0 75,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0								
Carne de vaca	90,5 ± 90,7	0,0 358,0	128,7 ± 112,3	0,0 430,0	146,5 ± 126,8	0,0 598,0	176,7 ± 134,4	0,0 646,0								
Carne de pollo	14,9 ± 38,9	0,0 150,0	19,5 ± 40,2	0,0 150,0	23,8 ± 51,1	0,0 150,0	22,7 ± 47,9	0,0 150,0								
Fiambres	8,5 ± 26,1	0,0 150,0	2,6 ± 13,7	0,0 100,0	17,5 ± 40,5	0,0 150,0	5,4 ± 19,3	0,0 150,0								
Chorizos	8,3 ± 26,6	0,0 200,0	3,3 ± 15,9	0,0 80,0	7,9 ± 28,7	0,0 200,0	6,8 ± 25,0	0,0 200,0								
Salchichas de Viena	7,8 ± 31,2	0,0 300,0	5,8 ± 24,4	0,0 180,0	20,6 ± 59,2	0,0 300,0	6,1 ± 30,1	0,0 220,0								
Carne de cerdo	3,4 ± 13,6	0,0 100,0	6,5 ± 19,7	0,0 100,0	4,4 ± 19,0	0,0 100,0	6,7 ± 21,2	0,0 100,0								
Carne de pescado	3,1 ± 15,3	0,0 80,0	12,2 ± 33,2	0,0 140,0	4,2 ± 19,9	0,0 140,0	15,1 ± 40,0	0,0 140,0								
Otras carnes (Cordero)	3,3 ± 22,8	0,0 240,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0	1,9 ± 19,3	0,0 240,0	0,6 ± 8,6	0,0 120,0								
Quesos ^c	40,0 ± 47,4	0,0 242,0	25,8 ± 42,0	0,0 268,0	42,1 ± 72,9	0,0 386,0	27,7 ± 53,3	0,0 377,0								
Quesos tipo crema	29,4 ± 50,4	0,0 220,0	26,3 ± 43,4	0,0 350,0	39,4 ± 73,2	0,0 450,0	23,2 ± 48,1	0,0 350,0								
Leche fluida	74,8 ± 128,7	0,0 640,0	39,2 ± 75,4	0,0 400,0	127,3 ± 179,4	0,0 660,0	36,7 ± 108,5	0,0 600,0								
Manteca	7,5 ± 19,6	0,0 120,0	4,3 ± 12,4	0,0 55,0	14,0 ± 28,4	0,0 100,0	6,2 ± 19,0	0,0 110,0								
Dulce de leche	10,2 ± 20,1	0,0 100,0	3,7 ± 10,1	0,0 55,0	14,0 ± 28,4	0,0 100,0	6,2 ± 19,0	0,0 110,0								
Yogur	32,7 ± 77,5	0,0 300,0	24,5 ± 63,8	0,0 300,0	35,4 ± 89,8	0,0 400,0	16,1 ± 60,4	0,0 400,0								
Crema de leche	4,0 ± 15,7	0,0 100,0	1,4 ± 8,6	0,0 80,0	3,0 ± 13,1	0,0 100,0	2,1 ± 9,8	0,0 80,0								
Leche en polvo	3,1 ± 11,1	0,0 60,0	1,8 ± 8,3	0,0 60,0	3,1 ± 14,9	0,0 100,0	1,2 ± 8,8	0,0 100,0								
Huevos	18,1 ± 34,0	0,0 150,0	12,8 ± 24,9	0,0 100,0	16,3 ± 31,2	0,0 150,0	13,5 ± 27,5	0,0 150,0								
Tomate	14,7 ± 50,8	0,0 250,0	44,5 ± 75,7	0,0 250,0	38,0 ± 72,0	0,0 250,0	44,3 ± 74,1	0,0 250,0								
Lechuga	2,1 ± 17,5	0,0 150,0	25,5 ± 57,4	0,0 250,0	40,6 ± 80,7	0,0 300,0	23,0 ± 58,8	0,0 250,0								
Cebolla	4,0 ± 22,7	0,0 150,0	41,2 ± 50,1	0,0 304,0	27,1 ± 58,1	0,0 250,0	45,0 ± 59,6	0,0 304,0								
Papas	14,0 ± 52,5	0,0 300,0	138,1 ± 112,1	0,0 466,0	45,9 ± 91,3	0,0 300,0	132,6 ± 112,9	0,0 444,0								
Ajies	26,5 ± 42,8	0,0 168,0	55,4 ± 53,2	0,0 288,0	8,7 ± 28,8	0,0 150,0	72,9 ± 56,0	0,0 264,0								
Zanahorias	18,2 ± 57,1	0,0 300,0	30,6 ± 64,5	0,0 300,0	11,7 ± 48,3	0,0 300,0	21,8 ± 56,5	0,0 250,0								
Acelga	14,4 ± 50,7	0,0 430,0	14,1 ± 46,0	0,0 280,0	9,6 ± 37,9	0,0 210,0	20,8 ± 61,3	0,0 300,0								
Espinacas	0,7 ± 10,2	0,0 150,0	2,4 ± 19,0	0,0 150,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0	3,1 ± 21,4	0,0 150,0								
Brocoli	3,4 ± 22,5	0,0 150,0	1,6 ± 18,6	0,0 250,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0								
Zapallitos	25,4 ± 43,2	0,0 234,0	31,6 ± 52,7	0,0 250,0	7,9 ± 38,7	0,0 426,0	48,5 ± 55,3	0,0 250,0								
Manzana	26,1 ± 48,3	0,0 216,0	23,2 ± 47,0	0,0 312,0	12,7 ± 36,3	0,0 160,0	13,9 ± 42,8	0,0 240,0								
Naranja	5,2 ± 25,0	0,0 160,0	29,4 ± 58,1	0,0 240,0	27,1 ± 62,6	0,0 240,0	20,3 ± 53,7	0,0 240,0								
Bananas	1,5 ± 10,8	0,0 80,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0	12,1 ± 41,2	0,0 240,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0								
Mermeladas y dulces	1,2 ± 6,7	0,0 60,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0	2,3 ± 9,7	0,0 60,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0								
Dulce membrillo/batata	0,4 ± 3,8	0,0 40,0	0,2 ± 2,6	0,0 40,0	2,9 ± 12,6	0,0 120,0	0,0 ± 0,0	0,0 0,0								
Caramelo de frutas	6,1 ± 17,3	0,0 110,0	1,7 ± 5,2	0,0 40,0	3,2 ± 9,8	0,0 70,0	1,9 ± 6,1	0,0 30,0								
Chocolates	0,9 ± 6,0	0,0 40,0	5,1 ± 24,4	0,0 180,0	6,7 ± 25,3	0,0 180,0	2,6 ± 18,1	0,0 180,0								
Mantecol	6,8 ± 24,4	0,0 180,0	1,0 ± 10,8	0,0 120,0	1,0 ± 6,4	0,0 40,0	2,4 ± 17,9	0,0 180,0								
Mate/té/café con azúcar	182,0 ± 206,1	0,0 566,0	26,2 ± 68,5	0,0 450,0	166,2 ± 185,9	0,0 550,0	22,9 ± 73,9	0,0 450,0								
Gaseosas	33,2 ± 102,8	0,0 450,0	9,2 ± 50,9	0,0 450,0	184,4 ± 192,3	0,0 450,0	16,2 ± 80,1	0,0 450,0								
Mate/té/café amargos	114,0 ± 182,4	0,0 550,0	3,7 ± 35,7	0,0 450,0	73,4 ± 151,9	0,0 550,0	10,1 ± 53,2	0,0 450,0								
Cerveza	29,9 ± 99,5	0,0 540,0	5,9 ± 35,9	0,0 360,0	80,6 ± 181,2	0,0 540,0	4,7 ± 28,7	0,0 180,0								
Vinos blanco y tinto	21,4 ± 78,1	0,0 450,0	18,4 ± 59,4	0,0 450,0	36,7 ± 102,7	0,0 450,0	9,3 ± 47,5	0,0 450,0								
Jugos de fruta envasados	5,5 ± 31,8	0,0 300,0	8,4 ± 42,2	0,0 400,0	16,4 ± 74,4	0,0 400,0	10,6 ± 49,8	0,0 400,0								
Jugos de fruta para diluir	0,0 ± 0,0	0,0 0,0	10,2 ± 47,0	0,0 400,0	33,3 ± 94,8	0,0 400,0	10,1 ± 40,7	0,0 300,0								
Otras bebidas alcohólicas	13,8 ± 52,2	0,0 300,0	2,4 ± 19,9	0,0 150,0	16,4 ± 74,2	0,0 450,0	0,8 ± 10,8	0,0 150,0								

^a Harina de maíz

^b Almidón de maíz

^c Quesos de pasta dura y semidura

promedio. Entre ellos, figuran en primer término en todos los grupos, el pan blanco y las galletitas saladas, según el grupo, y en orden decreciente, pan de Viena, "facturas", galletitas dulces, pasta, "tapas" (para empanadas y pascualina) o pizza. Las cifras de consumo fueron generalmente superiores en varones con respecto a mujeres, y en los jóvenes con respecto a los adultos. El consumo de pan de salvado y otros cereales como arroz y maíz (polenta) fue muy bajo en todos los grupos.

Otro aspecto a destacar es el elevado consumo promedio de carne vacuna en todos los grupos: entre 90,5 y 128,7 g/día en las mujeres y superior a 140,0 g/día en los varones. El consumo de pollo osciló entre 14,9 y 23,8 g/día, siendo muy bajo el de otros tipos de carnes y el de pescados. Los fiambres fueron consumidos en mayor cantidad por los jóvenes (8,5 g/día en G1M y 17,5 g/día en G1V) que por los mayores de 25 años (2,6 g/día en G2M y 5,4 g/día en G2V).

El consumo promedio de productos lácteos fue bajo en todos los grupos, ya que la leche fluida no superó los 150 ml/día; la ingesta de diferentes tipos de quesos osciló entre 50,9 g/día (G2V) y 81,5 g/día (G1V); y para yogur entre 16,1 (G2V) y 35,4 (G1V) g/día. Los consumos fueron considerablemente menores en el grupo de personas mayores de 25 años.

Con respecto a frutas, verduras y hortalizas el consumo fue

muy bajo, y constituido casi exclusivamente por naranjas, manzanas, bananas, papas, tomates, lechuga, zanahoria, zapallo y cebolla. Las verduras de hoja, tales como acelga y espinaca, se ingirieron incorporadas en preparaciones típicas como empanadas, pascualina, ravioles, canelones y otras.

El grupo de "varios" incluyó dulces y "golosinas", siendo los caramelos y chocolates los de mayor consumo, sobre todo en jóvenes.

Por último, las bebidas no alcohólicas consumidas en mayor cantidad fueron las infusiones, seguidas por las gaseosas y los jugos envasados; el consumo de bebidas alcohólicas (vino y cerveza) fue mayor en los jóvenes que en los otros grupos.

Ingesta de nutrientes

La Tabla 3 muestra las cifras promedio por día, desvíos estándar y medianas de las ingestas de energía (Kcal y MJ), proteínas (g ó g/kg), calcio (mg), hierro (mg), vitamina A (Eq.R), B1 (mg), B2 (mg), C (mg) y niacina (mg). La Tabla 4 muestra los porcentajes promedio de adecuación y los desvíos estándar de los nutrientes estudiados, y el porcentaje de individuos de cada grupo que superó las ingestas de energía calculadas como adecuadas y las ingestas recomendadas (IR) de los demás nutrientes estudiados.

TABLA 3
Ingesta promedio/día y medianas de los nutrientes evaluados (X±DS)

Nutrientes	G1M		G2M		G1V		G2V	
	X±DS	Mediana	X±DS	Mediana	X±DS	Mediana	X±DS	Mediana
Energía (Kcal)	2711 ± 1388	2553	2140 ± 1034	1917	3906 ± 2169	3467	2610 ± 1304	2380
Energía (MJ) ^a	10,89 ± 5,86	10,00	8,47 ± 4,36	8,00	15,87 ± 9,08	14,00	10,42 ± 5,46	9,00
Proteínas (g)	96,7 ± 67,8	75,2	91,1 ± 43,4	80,5	128,8 ± 85,5	101,0	114,0 ± 52,7	104,4
Proteínas (g/kg)	1,69 ± 1,30	1,25	1,48 ± 0,70	1,32	1,83 ± 1,20	1,50	1,55 ± 0,70	1,40
Ca (mg)	958 ± 907	585	838 ± 701	548	1285 ± 1398	736	872 ± 795	546
Fe (mg)	20,8 ± 17,9	12,3	16,4 ± 10,1	14,7	17,5 ± 12,2	13,6	19,2 ± 9,4	18,1
Vit. A (Eq.R) ^b	915 ± 930	549	815 ± 555	709	659 ± 607	498	887 ± 620	710
Vit. B1 (mg)	1,1 ± 1,0	0,8	1,9 ± 1,1	1,6	1,3 ± 1,0	1,1	2,1 ± 1,1	1,9
Vit. B2 (mg)	1,9 ± 1,2	1,8	1,5 ± 0,8	1,4	2,1 ± 1,6	1,6	1,8 ± 0,9	1,6
Vit. C (mg)	120 ± 137	73	182 ± 141	151	155 ± 236	63	205 ± 141	177
Niacina (mg)	13,8 ± 9,8	12,1	18,9 ± 9,7	17,9	20,0 ± 12,9	17,6	24,2 ± 11,5	23,1

a MJ (mega Joule)=Kcal. 4,19/1000

b Eq.R: Equivalente de retinol=μg de retinol + retinol procedente de la bioconversión de los carotenos.

1 μg beta-caroteno=0,167 μg Eq.R

1 μg de otros carotenoides provit.A =0,084 Eq.R

Las ingestas de energía en los varones fueron más elevadas que en las mujeres dentro del mismo grupo etáreo y superiores en los más jóvenes (Tabla 3). En todos los grupos se observó una gran dispersión de los resultados, por lo cual, el rango de adecuación energética (Tabla 4) fue muy amplio. Los mayores de 25 años presentaron un elevado porcentaje de individuos con inadecuación (75% en G2V y 60% en G2M) en comparación con los más jóvenes (44% G1M y 38% G1V). El trigo y sus derivados (Figura 1), que constituyeron más del 90% de los cereales consumidos, aportaron entre el 32% y el 48% del total de energía consumida. La cifra más baja (32%) se observó en las mujeres jóvenes y en los otros tres grupos fue

superior al 40%.

El consumo promedio de proteínas fue elevado: entre 91,1 y 96,7 g/día en las mujeres y entre 114,0 y 128,8 g/día en los varones. Cabe destacar que el 50% de la población total presentó consumos superiores a 1,25 g/kg/día (Tabla 3) y entre 77% y 91% de la población de los distintos grupos superó las ingestas recomendadas de 0,75 g/kg/día.

La ingesta promedio de calcio fue superior en los varones jóvenes con respecto a los otros 3 grupos. Las medianas mostraron que el 50% de la población de G1V presentó ingesta inferior a 736 mg/día (61% de las IR de 1200 mg/día), siendo las medianas en los otros tres grupos entre 546 y 585

mg/día, cifras que representan el 49% de las IR en G1M (IR 1200 mg/día) y 68% (IR 800 mg/día) en los dos grupos de mayores de 25 años (Tabla 3). Un porcentaje elevado de la población mayor de 24 años (65% de varones y 62% de

mujeres) así como de menores de 25 años (71% de mujeres y 64% de los varones) no cubrió las ingestas recomendadas (Tabla 4).

TABLA 4
Porcentaje de adecuación promedio (X + DE) de los nutrientes estudiados y porcentaje de individuos con ingestas superiores a las recomendadas° (entre parentesis)

Grupo	E (Kcal/día)	Prot (g/día)	Ca (mg)	Fe (mg)	Vit A (Eq.R)	Vit B1 (mg)	Vit B2 (mg)	Vit C (mg)	Niacina (mg)
G1M	130±69 (66)	226±167 (77)	80±75 (29)	139±119 (46)	114±116 (42)	105±89 (40)	144±89 (65)	199±228 (58)	92±65 (40)
G2M	98±47 (40)	196±99 (87)	104±88 (38)	109±67 (48)	102±69 (41)	171±98 (75)	119±59 (62)	302±236 (89)	125±64 (66)
G1V	133±73 (62)	244±157 (87)	107±116 (36)	175±121 (72)	66±61 (26)	89±63 (38)	125±93 (49)	258±392 (50)	105±68 (47)
G2V	88±43 (25)	207±97 (91)	109±99 (35)	192±94 (89)	89±62 (32)	143±75 (68)	105±54 (47)	342±234 (88)	127±60 (67)

° Ingestas diarias recomendadas (ref. 15)

Grupos (edad en años)	Ca (mg)	Fe (mg)	Vit. A (Eq.R)#	Vit. B1 (mg)	Vit. B2 (mg)	Niacina (mg)
Mujeres 18-24	1200	15	800	1,1	1,3	15
Mujeres 25-50	800	15	800	1,1	1,3	15
Varones 18-24	1200	10	1000	1,5	1,7	19
Varones 25-50	800	10	1000	1,5	1,7	19

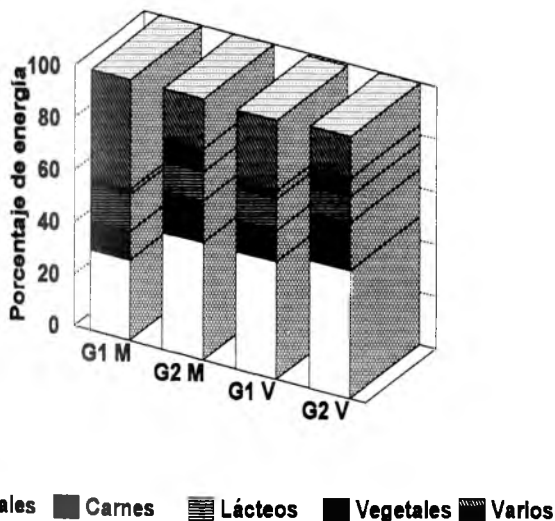
#Eq.R: Equivalente de retinol = µg de retinol + retinol procedente de la bioconversión de los carotenos.

1 µg beta - caroteno = 0.167 µg Eq.R

1 µg de otros carotenoides provit. A = 0.084 Eq.R

FIGURA 1
Distribución del aporte de energía según los grupos de alimentos

Figura1. Distribución del aporte de energía según los grupos de alimentos



Las ingestas promedio de hierro oscilaron entre 16,4 y 20,8 mg/día en las mujeres y entre 17,5 y 19.2 mg/día en los varones (Tabla 3), cifras que son superiores a las IR para ambos sexos. El porcentaje de individuos con ingestas superiores a las recomendadas osciló entre 72% y 89% en los varones, y entre 46% y 48% en las mujeres (Tabla 4). El porcentaje de hierro aportado por las carnes (Figura 2) fue en promedio de 16% para G1M; 21% para G2M; G1V muestra 34% y G2V 26%; en tanto las infusiones, entre las que se encuentra el mate, aportaron 56% del total de hierro en G1M, 12% en G1V y entre 25% y 29% en los grupos de ambos sexos mayores de 25 años.

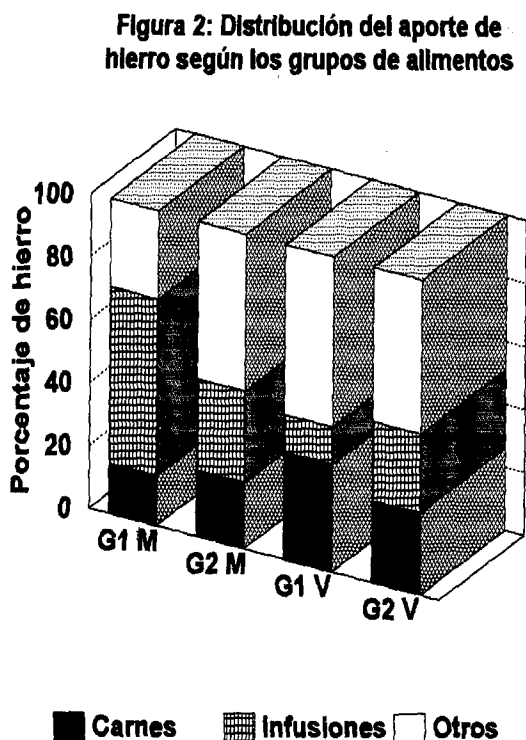
La ingesta promedio de vitamina A (Tabla 3) fue menor en G1V que en los otros tres grupos, teniendo en cuenta las IR del NRC para varones (1000 µg de Eq.R/día) y para las mujeres (800 Eq.R/día) y sólo entre el 26% y 42% del total de la población presentó ingestas superiores a dichas recomendaciones (Tabla 4).

La ingesta promedio de vitamina B1 representó el 87% de la IR en los varones jóvenes y las superó en los demás grupos (Tabla 3). Sin embargo, el porcentaje de individuos que superó las IR fue cercano al 40% en los grupos de jóvenes y varió entre 68% y 75% en los mayores de 25 años (Tabla 4).

La ingesta promedio de vitamina B2 superó las IR en todos los grupos, aunque la dispersión de los valores de adecuación fue muy grande; este comportamiento se repitió en el caso de la vitamina C. La ingesta promedio de niacina que también

presentó una gran dispersión, superó las IR en todos los grupos a excepción de G1M, que fue de 13,8 mg/día (Tablas 3 y 4).

FIGURA 2
Distribución del aporte de hierro según los grupos de alimentos



DISCUSION

La prevalencia de enfermedades no transmisibles, relacionadas con dietas inadecuadas, ha sido uno de los temas prioritarios tratado en la Conferencia Mundial sobre Nutrición, celebrada en Roma en 1992. Para poder adoptar medidas preventivas de dichas enfermedades, esa Conferencia aconsejó a los Gobiernos, que conjuntamente con otros grupos, implementasen medidas tendentes a evaluar la ingesta de alimentos y el estado nutricional de la población (1). Esta información resulta imprescindible para poner en marcha políticas nacionales de educación alimentaria y de fortificación de alimentos, así como para mejorar el suministro de alimentos inocuos y poder evaluar el riesgo de exposición a sustancias tóxicas de diferentes orígenes (17). Dada la carencia en Argentina de encuestas nacionales de ingesta de alimentos y de evaluación del estado nutricional, se encaró el presente estudio.

Los resultados obtenidos revelaron una ingesta energética muy variable (Tabla 3), en relación a las variaciones del peso corporal (50-120 kg); en aquellos casos de ingestas calóricas bajas no puede asegurarse que exista déficit de energía ya que hay que tener en cuenta que los datos provienen de una encuesta de recordatorio de 24 hs. y que el consumo de alimentos es sumamente irregular a lo largo de la semana. Además los datos de peso corporal registrados hacen suponer que se cubrieron las necesidades energéticas. Cabe tener en cuenta que siempre existe algún porcentaje, fundamentalmente de mujeres, que reducen voluntariamente el consumo de alimentos con fines estéticos. Considerando que la reducción del consumo de energía puede ser en muchos casos la causa de que no se cubran las necesidades de otros nutrientes, se calculó el aporte de nutrientes en relación a 1000 Kcal (Tabla 5).

TABLA 5
Porcentaje de calorías proteicas (P%) y aporte de los nutrientes estudiados cada 1000 Kcal ($X \pm DS$)

Grupos	P%	\pm	Ds ^a	Ca (mg)	Fe (mg)	Vit. A (Eq.R)	Vit. B1 (mg)	Vit. B2 (mg)	Vit. C (mg)	Niacina (mg)
G1M	15,0	\pm 7,6		291 \pm 138	6,6 \pm 2,6	260 \pm 163	0,4 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	32 \pm 26	4,5 \pm 1,5
G2M	17,8	\pm 5,0		338 \pm 131	7,6 \pm 1,5	341 \pm 111	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	75 \pm 28	8,5 \pm 1,7
G1V	13,4	\pm 4,7		256 \pm 145	4,2 \pm 0,8	132 \pm 77	0,3 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	26 \pm 27	4,8 \pm 1,1
G2V	18,3	\pm 6,2		284 \pm 115	7,4 \pm 0,8	309 \pm 84	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	71 \pm 21	9,2 \pm 1,6

a P% = Kcal proteicas/100 Kcal totales

La ingesta proteica presentó un promedio de adecuación cercano o superior al 200% en todos los grupos (Tabla 4) y las carnes aportaron entre 26% y 39% de la proteína total. Estas cifras son el resultado de los hábitos alimentarios de nuestro país, con un alto consumo de carnes; en consecuencia, el porcentaje de calorías proteicas presentó valores entre 13,4% y 15,0% en los grupos de jóvenes y entre 17,8% y 17,3% en los mayores (Tabla 5). Además, al analizar individualmente las

encuestas, se comprobó que los casos con ingestas proteicas insuficientes se debieron al bajo consumo de alimentos.

La insuficiente ingesta de calcio, debida al escaso consumo de productos lácteos (Tabla 2), es característica de nuestro país. En este trabajo, entre el 40% y 50% de jóvenes de ambos sexos y entre el 30% y 40% de los mayores de 25 años consumen menos del 50% de la cifra aconsejada para su edad. Es importante destacar que al expresar la ingesta en mg/1000

Kcal las cifras son más homogéneas (Tabla 5), pero están alejadas de la recomendación de 500 mg/1000 Kcal (18). Estos datos concuerdan con los resultados de las Hojas de Balance de Consumo aparente de alimentos que muestran que el calcio es el nutriente de menor disponibilidad "per capita" (5), así como con otros resultados obtenidos a través de encuestas dietéticas y metodología bioquímica (19). Esta deficiencia de calcio, y su persistencia a lo largo de la vida, alerta acerca de un problema nutricional generalizado en la población argentina, ya que constituye uno de los agentes responsables de la elevada incidencia de osteoporosis en la edad adulta, así como de la frecuencia de fracturas (20). Sin embargo este trabajo demostraría un paulatino incremento de las ingestas de calcio, en comparación a estudios anteriores (19), tendencia que se manifestó en un aumento de ventas de lácteos en la década del 90 (21).

La ingesta promedio de hierro representó entre 109% y 192% de las IR (Tabla 4). Una gran parte del hierro consumido proviene de las carnes (Tabla 2 y Figura 2), dato que concuerda con los procedentes de las Hojas de Balance de Alimentos (4). Por ello, el porcentaje de hierro hemínico es elevado, y se puede inferir que también lo sería la biodisponibilidad. Estos resultados son coincidentes con datos bioquímicos hallados en otras poblaciones universitarias (22-24).

Con respecto a la vitamina A, teniendo en cuenta los valores propuestos por el NRC, la ingesta promedio en los varones representó entre el 66% y 89% de las IR, y fue adecuada en las mujeres (Tabla 3). La distribución de la población según el porcentaje de adecuación de la ingesta, reveló que entre 18,5% y 25% de varones tienen ingestas inferiores al 50% de las IR o sea inferiores a 500 Eq.R; en el caso de las mujeres entre 22,1% (G2M) y 40% (G1M) presentaron ingestas inferiores a 400 Eq.R (50% de las IR). En 27 casos del total de los grupos la ingesta fue casi nula. La discrepancia entre NRC y FAO con respecto a las cifras de ingestas recomendadas hace que sea necesario realizar un análisis más profundo. En 1988 la FAO dio cifras "normativas", de 9,3 μg Eq.R/kg de peso/día, que permitirían mantener la normalidad de las funciones en las que interviene la vitamina A y reservas aceptables en hígado. Teniendo en cuenta los pesos promedio de la población estudiada en este trabajo las necesidades promedio serían de 654 a 688 μg Eq.R para varones; y para mujeres de 549-586 μg Eq.R. Basados en el criterio de FAO, los porcentajes de individuos con inadecuación no serían tan bajos. No obstante, la ingesta referida a 1000 Kcal es sensiblemente inferior en los grupos de jóvenes de ambos sexos a los mayores de 25 años lo que implica una menor cobertura (Tabla 5). Por otra parte, los vegetales (frutas y verduras coloreadas) aportadores de provitamina A (carotenos) se consumieron en cantidades muy variables y generalmente bajas (Tabla 2).

Con respecto a las vitaminas del grupo B, si bien se encuentran deficiencias marginales en algunos casos, en gene-

ral, las ingestas cubren las recomendaciones en la mayor parte de la población (Tablas 3 y 4).

La deficiencia de vitamina B1 no parece importante cuando se consideran los promedios de ingesta diaria (Tabla 3); sin embargo, aunque entre 68% y 75% de los mayores de 25 años presentaron ingestas superiores a las IR, sólo las superaron entre el 38% y 40% de los jóvenes (Tabla 4). Con respecto a esta vitamina, se debe tener en cuenta que la forma de expresión de mg/1000 Kcal se considera más conveniente debido a las funciones que cumple en el metabolismo energético (Tabla 5). La mayoría de la población de más de 25 años, superó la IR de 0,5 mg/1000 Kcal en tanto que los más jóvenes presentaron en su mayoría ingestas entre 0,2 y 0,4 mg/1000 Kcal. Por esta razón no se observaron signos clínicos de deficiencia, ya que las mismas se evidencian con ingestas inferiores a 0,2 mg/100 Kcal (15). Los casos de ingesta marginal se mejorarían notablemente incrementando el consumo de cereales integrales.

La vitamina B2 presentó ingestas promedio, en mg/día que indican adecuación. Sin embargo, basándose en estudios de eliminación urinaria FAO/OMS aconseja como ingesta adecuada 0,55 mg/1000 Kcal (15) y NRC estableció como cifra más segura la de 0,6 mg/1000 Kcal. Teniendo en cuenta esta forma de expresión, un porcentaje importante de los grupos de jóvenes podría tener ingesta marginal. Estudios bioquímicos realizados en población adulta joven indican que existe una probable deficiencia subclínica, originada por el bajo consumo de leche y de alimentos que contienen cifras elevadas cada 1000 Kcal (verduras y hortalizas) pero que se consumen en pequeñas cantidades y aportan poca cantidad por 100 g de alimento (9).

La niacina ha sido expresada en mg/día (Tabla 3) y mg/1000 Kcal (Tabla 5) e indicaría ingestas adecuadas en la mayoría de la población estudiada (Tabla 4). Sin embargo se debe tener en cuenta que el triptofano al metabolizarse, genera una cantidad de niacina que debe sumarse al dato proveniente de las tablas de composición de alimentos. Por esta razón las ingestas de esta vitamina se incrementarían al tener en cuenta el consumo de proteínas.

Con respecto a la vitamina C, pese a ser bajo el consumo de frutas y verduras, la ingesta fue adecuada (Tabla 3 y 4) debido al consumo de jugos de distinto tipo que, aunque no sean naturales, tienen agregado de dicha vitamina.

Los resultados del presente trabajo tienen características comunes a otras encuestas nutricionales realizadas por diferentes grupos de investigación (6-8,23,25-28) que también coinciden en que los dos principales alimentos de la canasta familiar son la harina de trigo y la carne vacuna, a la vez que es bajo el consumo de productos lácteos y muy escaso el de frutas y verduras.

Los resultados expresados, tienen amplia trascendencia desde el punto de vista de vigilancia alimentaria-nutricional. Desde el punto de vista nutricional se destaca: en primer lugar un elevado consumo de carnes que contribuyen entre el 26%

y 39% a la proteína total consumida y que constituyen una fuente importante de hierro de elevada biodisponibilidad; en segundo lugar, bajo consumo de lácteos, causa de la insuficiente ingesta de calcio y variable adecuación, en relación a otros nutrientes como vitamina A y B2; en tercer lugar, muy bajo consumo de frutas y verduras que trae aparejado una ingesta disminuida de carotenos y de fibra. La modificación de los hábitos alimentarios, incrementando el consumo de lácteos y de cereales integrales, así como de frutas y verduras mejoraría en forma substancial la ingesta de esos nutrientes, con el consiguiente beneficio sobre el estado nutricional.

Desde el punto de vista toxicológico alertan acerca del riesgo de ciertas enfermedades ocasionadas por contaminantes de alimentos como son las producidas por micotoxinas (17) debido al elevado consumo de alimentos elaborados con trigo, habitualmente contaminados (29).

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la ingeniera Patricia Cerrotti por la recolección de datos, y a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires y a la Universidad Nacional de Luján por los subsidios recibidos.

REFERENCIAS

1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación & Organización Mundial de la Salud. Conferencia Internacional sobre Nutrición: elementos principales de estrategias nutricionales. Roma, 1992.
2. WHO Food Additives series 37, 46 th Joint FAO/WHO Expert Committee Food Additives. Toxicological evaluation of certain food additives, Geneva, 9-16 February, 1996.
3. Ciosa SJ, de Portela MLPM, Sambucetti ME, Longo E, Schor I & Carmuega E. Informe de Argentina. Informe sobre estado actual, interés y limitaciones existentes con referencia a "Tablas de composición de alimentos en la República Argentina". Arch Latinoamer Nutr 1987;37:694-701.
4. Ministerio de Salud y Acción Social. República Argentina Plan Nacional de Acción para la Alimentación y Nutrición (P.N.A.N.), 1996.
5. Britos S. Qué es una hoja de balance de alimentos. Boletín CESNI 1987;1:32-33.
6. Instituto de Ciencias de la Nutrición del NAO. Secretaría de Estado de Salud Pública de la Nación. Universidad Nacional de Salta Memoria Anual, 1975.
7. Sanahuja JC, Río ME, de Portela MLPM, Slobodianik N, De Ferrer PR, Friedman SM & Zago L. Estado nutricional con respecto a vitamina A en una población universitaria de Buenos Aires. Medicina 1985;45:525-528.
8. Boyer P, de Portela MLPM, Río ME & Sanahuja JC. Evaluación del estado nutricional de una población estudiantil. Medicina 1987;47:51-56.
9. Weisstaub A, de Portela MLPM & Río ME. Estado nutricional con respecto a vitamina B2, en un grupo de mujeres de Buenos Aires. Revista de la Sociedad Argentina de Nutrición 1994;5:13-18.
10. Zuwaylif FH. Estadística general aplicada. México DF, Fondo Educativo Interamericano, 1977.
11. Brusco OJ. Compendio de la nutrición normal. Buenos Aires, Argentina, Ed López Libreros, 1980.
12. Souci S, Fachmann W & Kraut H. Die Zusammensetzung Der Lebensmittel Nährwert-Tabellen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH Stuttgart, 1979.
13. Instituto Nacional de Nutrición. Tablas de composición química de los alimentos, materias primas y preparaciones alimentarias. 4ta. Ed, Buenos Aires, 1945.
14. Mazzei ME & Puchula MR. Tablas de Composición Química de los Alimentos. Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada (CENEXA) (UNLP, CONICET), 2da Ed, Buenos Aires, 1995.
15. National Academy of Sciences. Recommended Dietary Allowances, 10th Ed. National Academy Press, Washington, DC, 1989.
16. Necesidades de Energía y de Proteínas. Informe de una reunión consultiva conjunta FAO/WHO/UNU de expertos. Informe técnico 724 OMS, Ginebra, 1985 p. 132.
17. Pacin A. Las micotoxinas como factor de riesgo en la salud humana. Seminario Internacional sobre Micotoxinas. Asociación Colombiana Postcosecha de Granos. Acogranos. Bogotá, Colombia. Pub. IDEMA, Santafé de Bogotá, 1992;p.87-108.
18. Bengoa JM, Torun B, Behar M & Schrimshaw N. Metas nutricionales y guías de alimentación para América Latina. Bases para su desarrollo. Arch Latinoamer Nutr 1988;38:406-412.
19. Zeni S & Portela MLPM. Estado nutricional con respecto al calcio en la Argentina. Arch Latinoamer Nutr (Guatemala) 1988;38:209-218.
20. Oliveri B. Influencia de la nutrición sobre la masa ósea en niños y adolescentes. VII Simposio anual de osteoporosis: nutrición y ejercicio, Buenos Aires, 1997.
21. Pérez H. Aporte nutricional a partir de los lácteos. Actas del I Simposio Argentino de vitaminas en Medicina, Nutrición y Salud. Sociedad Argentina de Nutrición. Buenos Aires, 1992;p.47-50.
22. Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B12. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Series, N° 23 FAO, Roma, 1988.
23. Zago LB, Friedman SM, Slobodianik NH, de Portela MLPM, Río ME & Sanahuja JC. Relación entre protoporfirinas libres en glóbulo rojo e ingesta habitual de hierro en un grupo de estudiantes de la universidad de Buenos Aires. Arch Latinoamer Nutr 1983;33:802-813.
24. Langini SH, Godoy MF, Fleischman S, Río ME & de Portela MLPM. Estado nutricional con respecto al hierro en adultos del área metropolitana de Buenos Aires. Acta Bioquím Clin Latinoam 1996;30:221-230.
25. Rovirosa A, Dupraz H, de Portela MLPM & Río ME. Ingesta de nutrientes en una población estudiantil masculina de la universidad de Buenos Aires. Revista Farmacéutica 1993;133:53-61.
26. Ascar JM, de Pedernera Molins M, Moyano de Pringles G, Guardia Calderón C, de Farabelli Rodríguez N, de Romero Luconi M & Piola H. Evaluación calórica nutricional del menú servido a la comunidad universitaria de la universidad Nacional de San Luis, República Argentina. Arch Latinoamer Nutr 1993;43:151-156.

27. Gallo A, Bourdignon F, Pacin A, Barbieri T & Resnik S. Evaluation of food intake by 1 means of 24 hour dietary recall in a town of the province of Buenos Aires, Argentina. *Ecol Food Nutr* 1992;28:299-317.
28. Batrouni L, Navarro A, Sabulsky J, Fanto S & Rodríguez A. Situación alimentaria de escolares en relación con su condición social. Córdoba, República Argentina. *Arch Latinoamer Nutr* 1993;43:12-19.
29. Quiroga N, Resnik SL, Panci A, Martínez E, Pagano A, Riccobene I & Neira S. Natural occurrence of trichothecenes and zearalenone in Argentine wheat. *Food Control* 1995;6:201-204.

Recibido: 18-08-1997

Aceptado:18-08-1998

Estudio de la composición química, de dos especies vegetales silvestres en comparación con acelga

Escudero N.L., Fernández S., Albarracín G., Lúquez G. N. de, Arellano L. M. de; Mucciarelli S.

Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina

RESUMEN. El propósito de este estudio fue evaluar la calidad nutricional de dos especies vegetales silvestres *Kochia scoparia* (Ks) y *Chenopodium album* (Cha) y compararlas con *Beta vulgaris* var. cicla (acelga) (Bv), con la finalidad de proponer la domesticación de las mismas, para introducir las como fuente proteica alternativa. Se realizó la evaluación química porcentual (AOAC), determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa, la investigación de antinutrientes (Métodos químicos, enzimáticos e inmunológicos) y mediante los índices de utilización proteica neta (NPU), digestibilidad verdadera (tD) y valor biológico (BV) (Miller y Bender), se determinó la calidad proteica. Se trabajó con muestras sometidas a cocción. El estudio de la concentración proteica, reveló valores similares para los tres vegetales Ks 25.8, Cha 25.0, Bv 22.1 g/100 g. Del análisis de ácidos grasos se observó un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados correspondiendo el mayor 82% a *Kochia scoparia*, con predominio de ácido linoléico. Al trabajarse con material cocido los tenores de antinutrientes pueden considerarse en niveles que no comprometen la salud. Con respecto a la calidad biológica se obtuvieron los siguientes datos para Ks, Cha, Bv: NPU 68.0 ± 0.4, 55.0 ± 6.1, 56.0 ± 4.2; tD 70.0 ± 0.7, 71.0 ± 4.0, 76.0 ± 8.2; BV 97, 77 y 74 respectivamente. Del análisis de los indicadores por los cuales se evaluó la calidad biológica se encontró un mayor aprovechamiento nitrogenado en Ks. Por lo que *Kochia scoparia* cumpliría el objetivo previamente propuesto.

Palabras clave: *Kochia scoparia*, *chenopodium album*, proteína, valor biológico, composición química.

INTRODUCCION

Este trabajo tuvo como propósito hacer un estudio comparativo desde el punto de vista químico y biológico de dos especies vegetales silvestres *Chenopodium album* (Cha), *Kochia scoparia* (Ks), perteneciendo ambas a la familia de las chenopodiaceas, y una proveniente de cultivo *Beta vulgaris* var. cicla (Bv) con el fin de considerar la domesticación de las especies silvestres.

Kochia scoparia es conocida en las poblaciones rurales como: morenita, alfalfa criolla, alfalfa de los pobres, yuyo volador, es una planta anual que puede alcanzar hasta 100 cm de altura, hojas alternas abundantes que pueden alcanzar hasta 6,5 cm de largo, en los primeros estadios vegetativos, son de color verde pálido (primavera) tornándose rojizas en otoño y

SUMMARY. A chemical composition comparative study between two wild vegetable species and chard. The nutritional quality of two wild vegetable species, *Kochia scoparia* (Ks) and *Chenopodium album* (Cha) was evaluated and compared with *Beta vulgaris* var. cicla (chard) (Bv), in order to propose their domestication as alternative protein sources. Chemical percentual analysis (AOAC), gaseous chromatography fatty acid determination, and antinutrient searching (by chemical, enzymatic and immunological method) were performed. Protein quality was determined by the following indexes: net protein utilization (NPU), true digestibility (tD) and biological value (BV). The three species exhibited similar protein concentration values, 25.8, 25.0 and 22.1 g/100g for Ks, Cha and Bv, respectively. *Kochia scoparia* showed the highest value for fatty acid analysis (82%), with predominance of linolenic acid. Since the samples were subjected to boiling, the amounts of antinutrients found can be considered to be within levels not affecting health. As regards the biological quality, the obtained values for Ks, Cha and Bv, respectively, were: NPU: 68.0 ± 0.4, 55.0 ± 6.1 and 56.0 ± 4.2; tD 70.0 ± 0.7, 71.0 ± 4.0 and 76.0 ± 8.2; BV: 97, 77 and 74. The analysis of the biological quality indexes gave highest nitrogen profit for Ks. These results indicate that *Kochia scoparia* is suitable for the objective proposed.

Key words: *Kochia scoparia*, *chenopodium album*, protein, biological value, chemical composition.

finalmente morena. Crece en suelos arenosos y salobres. En nuestra provincia crece abundantemente en zonas suburbanas, recomendada como forrajera en el período vegetativo por su alto tenor proteico.

Chenopodium album, conocida como quinoa, yuyo blanco, grañasche, etc., es una planta anual que puede alcanzar hasta 1,60 m de altura, con raíz principal pivotante, hojas alternas que pueden llegar a medir 8 cm de largo por 3 cm de ancho con tinte rojizos al madurar. Especie adventicia en casi todo el mundo, ampliamente distribuida en la región central, noreste y sur de nuestro país. Planta ruderal que en sus primeros estadios de vida es consumida por los animales, y en estado de madurez es tal vez tóxica para el ganado (1). Las semillas de esta especie fueron consumidas como alimento por habitantes de Rusia, de Dinamarca, Grecia y Norte de Italia (2).

MATERIALES Y METODOS

El material silvestre se recolectó en el mes de noviembre (primavera), la acelga se adquirió en el mercado local. Tallos y hojas se sometieron a cocción en cacerola de uso domestico 10', se prensó manualmente para eliminar el exceso de agua, se secó en estufa con corriente de aire a 45°C durante 48 h. El producto obtenido se pasó por molinillo tipo café y se tamizó por tamiz de nylon 200 µm de abertura, se envasó en recipientes de plástico y conservó refrigerado hasta su procesamiento.

En la caracterización química se hicieron las siguientes determinaciones: humedad, extracto etéreo y cenizas siguiendo los métodos de la AOAC (3). Zn, Fe, Cu y Ca, por absorción atómica en un espectrofotómetro (Instrumentation Laboratory aa/ae Spectrophotometer 751). Fósforo se determinó por el método de Stuffsins (4). Proteína cruda, N x 6.25, por Kjeldahl modificada por Winkler (5). Para la determinación de fibra soluble e insoluble se usó el método propuesto por Prosky et al (6).

Los ácidos grasos se extrajeron como propone Stanbie (7) y se determinaron como ésteres metálicos usando cromatografía gaseosa. Se usó cromatógrafo Varian 3300 (columna empaquetada de 3 m) Inyector: 270°C. Detector FID: 270°C, T. inicial: 180°C, manteniendo 2'. Temp. final: 210°C, mantenida por 12 min, ΔT: 5°C/min, flujo de nitrógeno: N₂: 20 mL/min. Para el proceso de derivatización se usó diazometano en eter etílico como metilante (8). Posteriormente se obtuvo un residuo por evaporación con corriente de N₂ a partir de la solución conteniendo el producto derivatizado; obtenido el residuo se disolvió en 1-2 mL de acetona y se inyectó en el cromatógrafo, paralelamente se corrió una solución estándar para identificar los ácidos grasos. El porcentaje relativo se calculó a partir de las áreas de los picos.

La investigación de antinutrientes se hizo aplicando las siguientes técnicas: Nitratos (9). Semicuantitativamente se determinó la actividad hemaglutinante por extracción salina (10), haciéndose la cuantificación según lo recomendado por Das Gupta (11). La investigación de saponinas se hizo determinando la actividad hemolítica (12) y el índice de espuma (13), usándose en el primer caso glóbulos rojos de carnero, con observaciones desde los 30' a 12 h. con calificación numérica:

"0", sin hemólisis dentro de las 12 h.

"1", 10 % de hemólisis dentro de las 12 h.

"2", 20-40 % de hemólisis dentro de las 12 h.

"3", 50 a 90 % de hemólisis dentro de las 12 h.

"4", 100 % de hemólisis dentro de las 12 h.

"5", 100% de hemólisis dentro de los 30 min.

"0", "1" y "2" se consideran de baja actividad.

"3", "4" y "5" son consideradas de alta actividad.

Para el índice de espuma se realizó una extracción acuosa a 100°C, el filtrado obtenido se utilizó en diluciones acuosas de concentración creciente. Agitación seguida de reposo. Índice de espuma: 1000/a; a: volumen en mL del filtrado usado para la dilución correspondiente cuya espuma alcanza

1 cm. Cuando en ningún tubo se alcanza 1 cm de espuma se informa índice < 100.

Los inhibidores de tripsina se evaluaron según Kakade (14).

Se realizó la cuantificación de ácido oxálico siguiendo la técnica sugerida por AOAC (3).

En cuanto a la evaluación biológica de la calidad proteica se hizo mediante la determinación de distintos índices tales como: utilización proteica neta (NPU), mide nitrógeno retenido; digestibilidad verdadera (tD), mide el nitrógeno absorbido y se determinó conjuntamente con el NPU; valor biológico (BV), mide la fracción retenida del nitrógeno absorbido y se obtiene por cálculo NPU/tD. En estas experiencias se utilizaron ratas de la cepa Wistar de 30 días de edad. Para cada material ensayado se trabajó con dos grupos de cuatro ratas con diferencia de peso de ± 0.5g, paralelamente se llevó un grupo de cuatro ratas alimentadas con dietas libres de proteína. Los animales se alojaron en jaulas individuales, agua y ración "ad-libitum" (15). Las dietas se prepararon de acuerdo a Sambucetti y col. (16). En cada experiencia el aporte proteico del 10% fue proporcionado por los materiales en estudio Ks, Cha y Bv. Paralelamente se registró ingesta (I) y ganancia de peso (Δ p).

RESULTADOS Y DISCUSION

En Tabla I se consigna la composición química proximal, de la observación de la misma surge que el contenido de proteínas en la harina de los tres vegetales estudiados es similar, siendo ligeramente inferior en Bv.

TABLA 1
Composición química proximal de harina de hojas

Determinación (g/100g)	Ks	Cha	Bv
Humedad residual	7.40	8.10	7.43
Proteínas	25.80	25.00	22.10
Cenizas	10.90	9.50	10.04
Extracto etéreo (eter de petróleo)	3.30	4.50	3.81
Carbohidratos totales*	6.10	9.80	25.12
Fibra Dietaria Soluble	9.60	15.80	11.12
Fibra Dietaria Insoluble	36.90	27.30	20.38
Fibra Dietaria Total	46.50	43.10	31.50

* Por diferencia

Ks: *Kochia scoparia*

Cha: *Chenopodium album*

Bv: *Beta vulgaris*

En cuanto a fibra se encontraron valores relativamente altos en Ks y Cha. La bibliografía es escasa encontrando a los fines comparativos los datos proporcionados por Sherrod quien informa los valores de FDT para Ks y alfalfa de 25.0 y 40.0, respectivamente (17).

En Tabla 2 se da cuenta de los contenidos de elementos minerales, la relación Ca/P total es para Ks 0.95 valor próximo a lo sugerido por "Recommended Dietary Allowances" que varía entre 1 y 1.2; siendo inferior en Cha en tanto que en Bv es de 3.6. En cuanto al contenido de Fe y Zn se encuentra dentro de los valores reportados para alimentos de origen vegetal (18).

TABLA 2
Contenido de elementos minerales de harina de hojas

Elementos (mg/100g)	Ks	Cha	Bv
Zinc	1.9	0.5	2.4
Hierro	8.0	1.5	3.1
Cobre	0.6	0.4	0.7
Calcio	380.3	250.0	670.0
Fósforo Total	400.0	400.0	186.0

Ks: *Kochia scoparia*

Cha: *Chenopodium album*

Bv: *Beta vulgaris*

Con respecto al análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases Tabla 3, revela, para los tres vegetales estudiados, que existe una predominancia de ácidos grasos insaturados, hecho común en este tipo de material; presentando un porcentaje que en las tres especies varía entre 67% a 82% del total; llama la atención el alto porcentaje de ácido linoléico lo que se considera importante por su carácter de esencial, que cumple un papel específico en los lípidos cerebrales, no compartido por los miembros de la serie linoleica. Por otra parte los ácidos grasos poliinsaturados con cadenas de 18°C tienen un efecto reductor del colesterol, que puede adjudicarse a la sustitución de los ácidos grasos saturados (19).

TABLA 3
Concentración de ácidos grasos de harina de hojas

Átomos de Carbono	Ácido (Nombre común)	Porcentaje Relativo de Ácidos Grasos		
		Ks	Cha	Bv
14:0	Mirístico	ND	ND	0.99
16:0	Palmítico	17.60	32.50	21.36
18:0	Esteárico	ND	ND	0.38
18:1	Oleico	6.30	7.80	4.28
18:2	Linoleico	12.30	8.70	25.41
18:3	Linolénico	63.20	50.90	47.56
20:4	Araquidónico	0.60	0.10	ND

ND: No detectado

Ks: *Kochia scoparia*

Cha: *Chenopodium album*

Bv: *Beta vulgaris*

TABLA 4
Factores antinutrientes de harina de hojas

	Ks	Cha	Bv
Nitratos (NO ₃ -) mg/100g	178	266	119
Acido Oxálico mg/100g	390	65	294
Actividad Hemaglutinante	ND ^(a)	ND	ND
Actividad Hemolítica (grado de hemólisis)	0	0	0
Índice de Espuma ^(b)	< 100	< 100	< 100
Actividad Antitripsina UTL/mg muestra	0.343	0.101	0.770

(a) : ND

(b) : 1000/a; a= mL de filtrado puestos en el tubo que alcanza 1 cm de espuma. Cuando en ningún tubo se forma 1 cm. de espuma IE<100

Ks: *Kochia scoparia*

Cha: *Chenopodium album*

Bv: *Beta vulgaris*

TABLA 5
Calidad biológica de harina de hojas

	Ks	Cha	Bv
Utilización proteica neta NPU	68.0±0.4 ⁽¹⁾	55.0±6.1	56.0±4.2*
Digestibilidad verdadera tD	70.0±0.7	71.0±4.0	76.0±8.2
Valor Biológico BV	97	77	74
Promedio de Ingesta en g. (por rata en 10 días) I	63.03±0.3	86.80±9.3	80.36±7.0**
Ganancia de peso en g. (por rata en 10 días) Δp	13.4±0.3	17.5±2.1	24.0±3.1***

(1) M±: DE

*p<0.05, **p<0.005, ***p<0.001, por test "t" de Student

Ks: *Kochia scoparia*

Cha: *Chenopodium album*

Bv: *Beta vulgaris*

En cuanto a los antinutrientes, al ser investigados en material vegetal sometido a cocción, como era de esperar no se detectan o se encuentran en valores no críticos. (Tabla 4).

Del análisis de los indicadores por los cuales se evaluó la calidad biológica es posible inferir que si se compara el valor de NPU, este es superior para Ks, siendo la ingesta menor, este aprovechamiento nos indicaría un mejor balance de la proteína. (Tabla 5).

En base a lo expuesto es nuestro propósito intentar la domesticación de Ks haciendo cortes programados y evaluando en cada edad contenido proteico, calidad biológica y antinutrientes para que pueda ser propuesto como fuente proteica alternativa.

REFERENCIAS

1. Marzocca, A. Manual de malezas 3ª Ed. Ed. Hemisferio Sur Buenos Aires; 1979.
2. Ruales J, Nair B M. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) an

- important Andean food crop. Arch. Latinoam. de Nutr. 1992; 42: 232-241.
3. Association of Official Agricultural Chemist. Official Methods of Analysis of AOAC, 15 th ed. Kenneth Helrich. Virginia 22201. USA. 1990.
 4. Stuffs CB. The determination of phosphate and calcium in feeding stuff. Analysts. 1967; 92:107-113.
 5. Jacobs MC. The Chemical Analysis of Foods and Foods Products. Krieger Publishing Co. Inc. New York, 1973: 34.
 6. Prosky L, Asp NG, Schweizer TF, De Vries JW and Furda I. Determination of Insoluble, Soluble and Total Dietary Fiber in Foods and Food Products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1988; 71: 1017-1023.
 7. Stanbie DR, Brownsey M, Crettaz M, Denton RM. Acute effects in vivo of anti-insulin activities serum on rates of fatty acids synthesis and activation of acetyl-coenzyme A carboxilase and piruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. Biochem J 1976; 160:413-416.
 8. EPA. Analysis of Pesticide Residues in Human and Environmental Samples. A Compilation of Methods Selected for use in Pesticide Monitoring Programs. 600/8-80-038, 1980.
 9. Cataldo DA, Haroon M, Schrader LE and Youngs VL. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. Commun. Soil Sci and Plant Anal. 1975; 6 (1): 71-80.
 10. do Prado VC, Antunes PL, Sgarbieri VC. Antinutrients occurrence and some physicochemical properties of the protein fractions of five Brazilian Soybean varieties. Arch Latinoamer Nutr 1980;30:551-563.
 11. Das Gupta BR, Boroff DA. Separation of toxin and hemagglutinin from crystalline type A by anion exchange chromatography and determination of their dimension by gel filtration. J Biol. Chem 1968; 243: 1065-1072.
 12. Duarte Correa A, Jokl L and Carlsson R. Chemical constituents, in vitro protein digestibility and presence of antinutritional substance in amaranth grains. Arch Latinoamer Nutr 1986; 36: 319-326.
 13. WHO/PHARM/92559. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials. Switzerland; 1992.
 14. Kakade ML, Rackis JJ, Mc Ghee JF and Puskig. Determination of trypsin Inhibitor Activity of Soy Products: A Collaborative Analysis of an Improved Procedure Cereal Chem. 1974; 51: 376-382.
 15. Miller, DS and Bender, AE. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. Brit J Nutr 1955; 9:382-388.
 16. Sambucetti ME, Gallegos G y Sanahuja JC. Estudio de la proteína extraída de lino. Valor nutritivo e inocuidad. Arch Latinoamer Nutr 1973; 23: 76-94.
 17. Sherrod LB. Nutritive value of Kochia scoparia. III Digestibility of Kochia Hay compared with Alfalfa Hay. J Dairy Sci 1973; 36: 923-926.
 18. Grijalba Havo MY, Caire G, Sanchez A, y Valencia ME. Composición química, fibra dietética y contenido de minerales en alimentos de consumo frecuente en el noroeste de México. Arch Latinoamer Nutr 1995; 45:145-150.
 19. OPS-ILSI. Conocimientos actuales sobre nutrición. 6ª Edic. ILSI. PRESS, Washington, 1991, p.76.

Recibido:17-11-1997

Aceptado:25-08-1998

Efecto de la temperatura de concentración de pulpa de kiwi sobre el color, clorofila y ácido ascórbico

Marco Schwartz M., Hugo Núñez K., Ana María Muñoz A.

Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile, Santiago de Chile

RESUMEN. Se investigó las mejores condiciones de operación para elaborar pulpa concentrada de kiwi a 32°Brix, utilizando temperaturas de 25,30,35,40 y 45°C. Estas condiciones se mantuvieron durante todo el proceso, modificando convenientemente la presión. Para escoger la pulpa de mejor calidad, se analizó el color Munsell y sensorial y la retención de vitamina C y clorofilas. Los tratamientos efectuados a temperaturas de concentración de 25 y 30°C presentaron, en la mayoría de las variables estudiadas, poco deterioro difiriendo de manera importante con los tratamientos a 35,40 y 45°C. Los valores en ácido ascórbico no presentan diferencias significativas ($P<0,95$) en los distintos tratamientos. No sucede así con la clorofila, después de los 35°C disminuye al 30% de la que presenta la pulpa concentrada a 25°C. Sobre 40°C sólo se encontraron trazas de clorofila no cuantificables. En cuanto al color sensorial, tanto a 25°C como 30°C, no se modificó mayormente correspondiendo los valores a "verde brillante". El deterioro fue evidente en la pulpa concentrada a 35°C, con una calificación de "verde-amarillo" y de "pardo-verdoso" para el tratamiento a 45°C. El color medido con disco Munsell refleja también esta relación, donde a medida que aumenta la temperatura de concentración, disminuye el porcentaje de color verde para ir aumentando el porcentaje de color pardo notoriamente. **Palabras clave:** Pulpa de kiwi, concentración, color, clorofila, ácido ascórbico.

SUMMARY. Effect of concentration temperature of kiwifruit pulp on colour, chlorophyll and ascorbic acid. A study was established to evaluate concentration temperatures (25,30,35,40 and 45°C) on kiwifruit pulp concentrated to 32° Brix, with vacuum regulation. Munsell and sensorial colour, ascorbic acid and chlorophyll amount remanent were analyzed. Both, 25 and 30°C concentration temperatures treatments, in the most of variables, experimented low deteriorate and differ with the other treatments. Ascorbic acid measurements had not significative differences ($P<0,95$). Chlorophyll assays showed a decreased (70%) in the amount remanent over 35°C in comparison to 25°C treatments. 40 and 45°C treatments showed traces of chlorophyll. Sensorial colour did not showed variations on 25 and 30°C treatments; they were clasified as bright green. Other treatments present colour deteriorate: 35°C treatment was green-yellowish clasified, and 45°C treatments brown-greenish categories. Munsell colour showed the same relations, were increasing the concentration temperatures, decrease the green colour and increase the yellow colour.

Key words: Kiwifruit pulp, concentration, colour, ascorbic acid.

INTRODUCCION

El atractivo color verde que posee el kiwi está relacionado principalmente por su contenido en clorofila. La clorofila es muy lábil a la exposición de la luz, calor, oxígeno, provocando su degradación química (1). Se ha demostrado que la tasa de desnitración de la clorofila se relaciona con el aumento de acidez total, debido a que los ácidos se empiezan a desprender desde los tejidos de las plantas durante el calentamiento. Trabajos realizados en kiwi sometido a tratamiento térmico (2-5), encontraron que toda la clorofila se degradó transformándose en feofitina, cambiando el color de verde brillante a pardo oliva, y es dependiente de la cantidad de ácido formado durante el procesamiento y almacenamiento. Lo que ha sido corroborado por Robertson y Swinburne (6), en rodajas de kiwi enlatadas sometidas a un tratamiento térmico de 100°C durante 15 minutos, encontrando que el 90% la clorofila fue degradada cambiando el color a pardo-amarillo y Cano y

Marín (7), quienes procesaron conservas de kiwi por métodos convencionales produciéndose un importante cambio en el color y en los pigmentos originales obteniendo un producto comercial de apariencia pardo amarillo.

Se ha observado que la pulpa de kiwi al ser sometida a ebullición por dos horas a presión atmosférica, disminuye el contenido de ácido ascórbico en un 20%, oxidándolo a ácido dehidroascórbico y metabolizándose este último posiblemente en ácido diceto-1-gulónico (8).

La pulpa de kiwi que actualmente se produce y comercializa esta congelada y no ha sido concentrada. La eliminación del agua de una pulpa de cualquier fruta se hace industrialmente por evaporación. Sin embargo, en el caso del kiwi, la elaboración de la pulpa concentrada en cierta medida es compleja, por cuando su contenido en pectina dificulta la eliminación de agua por el aumento de la viscosidad y las temperaturas superiores a 65°C (de uso habitual en la industria) dañan el producto, como se ha señalado antes. Esto,

obliga a recurrir a alguna técnica de concentración que mantenga o deteriore poco las características de la pulpa fresca tanto desde el punto de vista sensorial como nutritivo.

La pérdida de clorofila podría ser retardada si el contenido de humedad en un vegetal se reduce, es decir, cuando se logra disminuir la *A_w*. Se postula que a baja actividad de agua las clorofilas son parceladas en compartimiento no reactivos, puesto que el agua no está disponible para la reacción que forma feofitina (4).

De acuerdo con lo expuesto se ha planteado elaborar pulpa de kiwi concentrada a diferentes temperaturas a presión reducida y evaluar su efecto sobre el contenido de vitamina C, clorofila y el color.

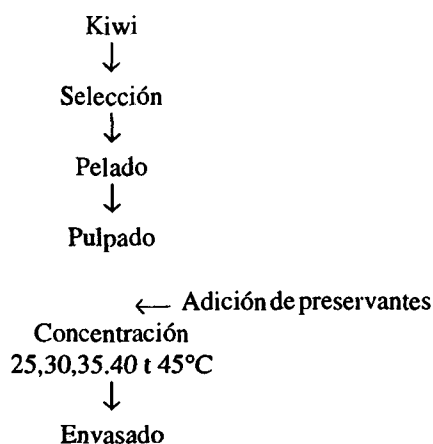
MATERIAL Y METODOS

Se utilizó como materia prima desecho de exportación de kiwi, variedad Hayward, proveniente de plantas embaladoras de la V Región. Para que la fruta desarrollara al máximo sus características sensoriales se mantuvo en una cámara de maduración de 20°C hasta alcanzar 13 a 15°Brix.

Se elaboró pulpa concentrada de kiwi a 32°Brix; la eliminación de agua se hizo a 25,30,35,40 y 45°C a presión reducida, donde el tiempo necesario para alcanzar la concentración deseada fue de 15 a 20 minutos.

El proceso (Figura 1) comprendió una selección, lavado, triturado (Molino Bücher), tamizado (malla 1,0 mm), concentración (rotavapor Büchi automatizado, modelo RE 140) y envasado (polietileno opaco).

FIGURA 1
Obtención de pulpa concentrada de kiwi



Previo a la elaboración de la pulpa concentrada se caracterizó la materia prima, considerando los siguientes aspectos: resistencia a la presión (presionómetro Effigi con vástago 5/16"); sólidos solubles (°Brix); pH, acidez (% ácido cítrico); actividad de agua (analizador Luff modelo 5803) y ácido ascórbico total (método de la dinitrofenilhidracina) (9).

Para conocer la mejor temperatura de proceso en la elaboración de pulpa concentrada de kiwi, se consideraron los siguientes análisis: ácido ascórbico total, sólidos solubles, color sensorial (1 a 9: pardo a verde oscuro), color (disco Munsell: disco verde 5GY 5/8; amarillo 5 y 5/6 y disco negro N3), clorofila a, b y total (método espectrofotométrico de Vernon (10), adaptado por Venning et al) (3).

Se hizo un diseño experimental completamente aleatorizado, considerando como tratamiento las cinco temperaturas de concentración. Cada tratamiento constó de tres repeticiones y sus resultados fueron sometidos a análisis de varianza y a pruebas de rango múltiple de Duncan cuando los tratamientos presentaron diferencias significativas ($P < 0,95$). Para la determinación de la temperatura óptima de concentración se realizó un análisis multivariante de grupo ("cluster").

DISCUSION

Caracterización de la materia prima

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la caracterización de la materia prima. Uno de los análisis usados para evaluar la madurez de consumo del kiwi es la firmeza, se considera que el valor de resistencia a la presión para una buena madurez de consumo fluctúa entre 1,10 y 1,32 lb (11-13), rango dentro del cual está incluida la materia prima de este estudio (1,24 lb). Los resultados de pH, acidez, sólidos solubles y vitamina C, están dentro de los rangos normales señalados por diversos autores, los cuales oscilan entre 3,31-3,6; 0,9-1,6 (% ácido cítrico); 14,0-15,1 (°Brix) y 98,3-106,7 (mg/100 g pulpa), respectivamente (14-17).

TABLA 1
Características físicas y químicas del fruto kiwi

Análisis	Valor
Resistencia a la presión (lb)	1,24
pH	3,41
Acidez (g/100g de ácido cítrico)	1,62
Sólidos solubles (°Brix)	14,30
Vitamina C (mg/100g pulpa)	104,47
Clorofila total (mg/kg pulpa)	8,48
Clorofila a (mg/kg pulpa)	5,30
Clorofila b (mg/kg pulpa)	3,17
Actividad de agua (<i>A_w</i>)	0,96

Respecto del contenido total de clorofila, éste sería similar al registrado por Fuke et al (18), el que alcanzó alrededor de 9,15 mg/kg cuando los frutos fueron madurados en postcosecha durante 21 días. El valor de la relación de clorofila a/b obtenida en la presente investigación (1,7/1,0), fue menor a la encontrada por estos investigadores (3,1/1,0). En otro estudio efectuado por Robertson (2), donde se eliminaron las semillas y la placenta, se determinó tanto para el contenido de este pigmento fotosintético como para la relación a/b un valor superior al

medido en este trabajo, el cual fue de 17,5 mg/kg y 2,1/1,0 respectivamente.

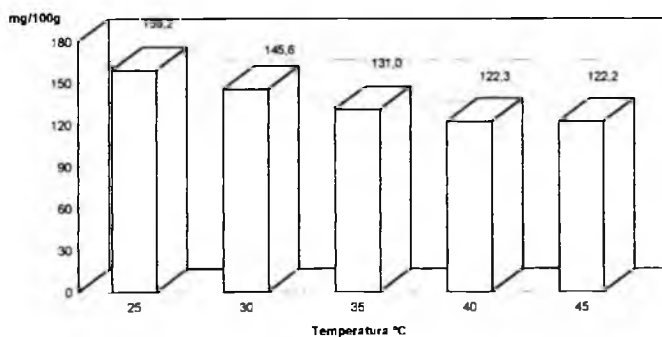
El valor de actividad de agua (A_w) es suficientemente elevado como para que un alimento se deteriore, pues existe disponibilidad de agua para el crecimiento microbiano y la actividad enzimática, de ahí la necesidad de disminuir la A_w para prolongar su vida útil.

Determinación de la temperatura óptima de proceso

Vitamina C: Con respecto del contenido de vitamina C, esta no experimentó diferencias estadísticas significativas, aunque se evidenció una disminución de su contenido con el aumento de la temperatura desde 159,2 a 122,2 mg/100g (Figura 2). Lo anterior lo respalda un trabajo realizado por Fennema (19), en el cual sometió diferentes productos a temperaturas desde 20 a 40°C durante 24 horas, concluyendo que la pérdida de vitamina C depende básicamente de la temperatura de trabajo y del producto estudiado. Por otro lado, Okuse et al (8), observaron que la pulpa de kiwi al ser sometida a ebullición por dos horas a presión atmosférica, disminuye el contenido de ácido ascórbico en un 20%, oxidándolo a ácido dehidroascórbico y metabolizándose este último posiblemente en ácido diceto-1-gulónico. Además, afirma que la pulpa de kiwi al ser homogeneizada durante una hora, todo el ácido ascórbico se oxida a dehidroascórbico, sin cambiar el contenido total de ácido ascórbico.

FIGURA 2

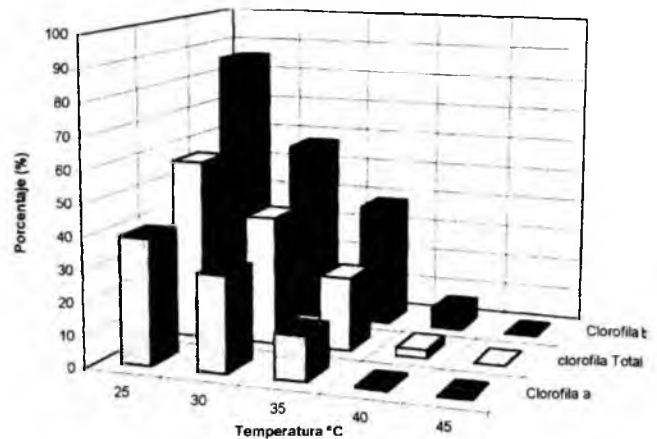
Contenido de ácido ascórbico, en pulpa concentrada de kiwi procesada a cinco temperaturas



Clorofila: En cuanto al contenido de clorofila, se observaron diferencias estadísticas significativas, tanto para las formas a, b y total. El deterioro que sufre este pigmento cuando es sometido al calor, se puede apreciar en la Figura 3, por el porcentaje de retención que permanece después del tratamiento térmico. Este cálculo se efectuó estandarizando los sólidos solubles de la materia prima a los sólidos solubles de la pulpa concentrada, considerando además el contenido de clorofila a, b y total de la materia prima estandarizada como patrón con un nivel inicial de 100%.

FIGURA 3

Porcentaje de retención de clorofila al obtener pulpa concentrada de kiwi a cinco temperaturas



De este modo, se observa una disminución de la clorofila total a 57 (25°C); 40 (30°C); 23 (35°C); 3 (40°C) y 0% (45°C). Este deterioro es comparable con los resultados informados por Venning et al (3) en pulpa natural de kiwi, quienes demostraron que la degradación de la clorofila fue directamente proporcional al aumento de temperatura, existiendo una rápida transformación a 20°C en relación con temperaturas más bajas de 10 a 0°C.

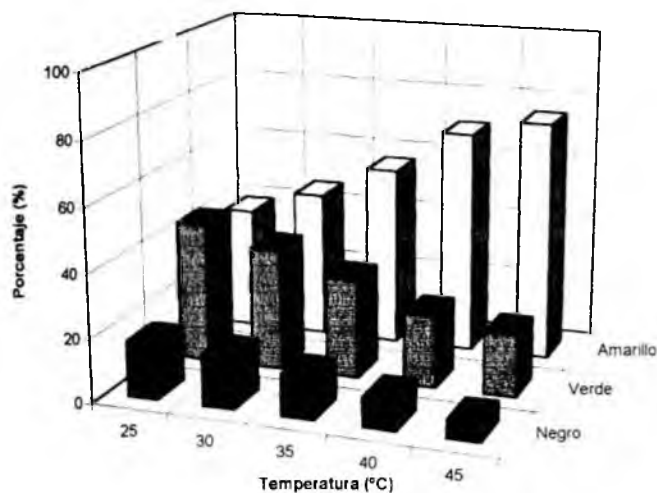
Esta degradación de la molécula de clorofila se puede explicar por la fácil sustitución del átomo de magnesio de este pigmento por protones con formación de feofitina, particularmente en condiciones ácidas. Esta reacción de feofitización es el mecanismo más común por el que desaparece el color verde de muchas frutas (4). Se debe considerar que la clorofila se encuentra protegida en los cloroplastos, los cuales colapsan cuando se homogeneiza el producto perdiendo la protección de la estructura original, transformándose en feofitina por los iones de hidrógeno cargados positivamente que alcanzan la porción pirrol de la molécula en la interfase lípido-agua (20).

En la Figura 3, se observa claramente que la forma b de la clorofila es menos susceptible a la feofitización que la forma a, apreciándose un elevado porcentaje de retención de la forma b, luego de ser tratada térmicamente; disminuyendo de esta manera, la relación a/b de la pulpa cuando esta es sometida al proceso térmico de 1,7/1,0 a 0,8/1,0 (25°C); 0,9/1,0 (30°C); 0,6/1,0 (35°C) y 0,1/1,0 (40°C).

Color: Se aprecia en la Figura 4, que mientras mayor fue la temperatura el color amarillo aumentaba en desmedro de los colores verde y negro, virando el concentrado desde un tono verde a uno amarillo. Resultado similar registró El-Zalaki y Luh (14), quienes sometieron concentrados de kiwi a temperaturas desde 71,1 hasta 87,8°C durante un minuto, obteniendo un producto más amarillo y menos verde después del

tratamiento, debido a la degradación de la clorofila y a la formación de pigmentos amarillos.

FIGURA 4
Evolución del color Munsell al procesar kiwi a diferentes



Lo anterior es ratificado por el cambio de color sensorial, observándose en la Tabla 2 las diferencias significativas obtenidas al analizar este atributo. Se puede apreciar que existe un aumento en el deterioro del color cuando la temperatura utilizada fue mayor, es así que los concentrados sometidos a 25 y 30°C resultaron tener diferencias estadísticas significativas al resto de los tratamientos, variando el color desde verde brillante para las dos menores temperaturas trabajadas hasta verde pardo para el tratamiento a 45°C.

TABLA 2

Valores promedios del color sensorial de las pulpas de kiwi concentradas a 32°Brix

Temperatura (°C)	Valor	Concepto
25	8.11 a	Verde brillante
30	7.81 a	Verde brillante
35	6,31 b	Verde amarillo
40	5.50 bc	Verde amarillo
45	4.56 c	Verde pardeado

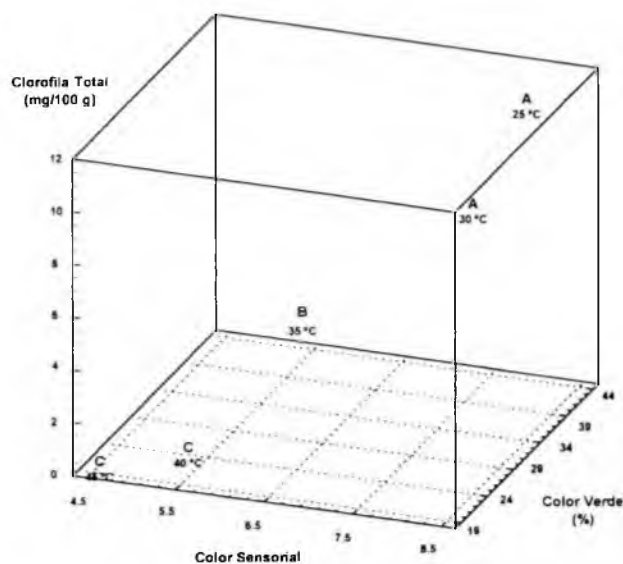
Letras distintas indican diferencias significativas, p<0.95

La determinación de la temperatura óptima de proceso, se efectuó mediante un análisis multivariante de grupo ("Cluster"), en el cual se incluyeron las variables de clorofila total, vitamina C, color Munsell y color sensorial.

Al efectuar un análisis, para formar dos o tres grupos con todas las variables medidas, se obtiene que los concentrados obtenidos a las temperaturas de 25 y 30°C siempre pertenecen

a un mismo grupo al igual que las de 40 y 45°C, en cambio el tratamiento de 35°C al formar dos grupos se ubica con las mayores temperaturas, quedando solo cuando se forman tres grupos. En la Figura 5, se pueden ver los tres grupos al graficar los valores de: clorofila, color sensorial y el color verde medido por el disco Munsell. Los tratamientos de 25 y 30°C forman un grupo representado por las letras "A", el proceso ejecutado a 35°C se simboliza con la letra "B", y el tercer grupo constituido por los tratamientos de 40 y 45°C figura con las letras "C".

FIGURA 5
Análisis multivariante ("Cluster") para las variables clorofila, color sensorial, color verde y ácido ascórbico



Analizando las variables medidas para caracterizar la calidad de la pulpa, se observó que las concentraciones efectuadas a las menores temperaturas (25 y 30°C) presentaron pocas diferencias estadísticas entre sí y con menos grado de deterioro que los otros tratamientos. Estos resultados fueron corroborados con el análisis de "Cluster", el cual indicó que estos dos tratamientos fueron los que menos alteraron las características estudiadas.

Por lo anterior expuesto, se considera la pulpa elaborada a temperatura de 30°C como la más adecuada tecnológicamente, debido que el concentrado a menores temperaturas implica altos costos de generación de vacío como también energía extra para el funcionamiento del equipo, por consiguiente, mientras mayor sea la temperatura de concentración, el proceso será más factible tanto tecnológica como económicamente.

REFERENCIAS

1. Schwartz S, and Von Elbe J. Kinetic of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables. *J Food Sci* 1983;48(4):1303-1306.
2. Robertson G. Changes in the chlorophyll and pheophytin concentrations kiwifruit during processing and storage. *F Chem* 1985;17(1):25-32.
3. Venning J, Burns D, Hoskin K, Nguyen T and Stec M. Factors influencing the stability of frozen kiwifruit pulp. *J Food Sci* 1989;54(2):396-404.
4. Schwartz S and Lorenzo T. Chlorophyll in food. *Food Sci Nutr* 1990;29(1):1-13.
5. Schwartz M, Nuñez H, Sepulveda N y Vinagre J. Producción y exportación de kiwi procesado. Universidad de Chile/FIA/M. Agricultura, Santiago. 210p.
6. Robertson G and Swinburne D. Changes in chlorophyll and pectin after storage and canning of kiwifruit. *J Food Sci* 1981;46(5):1557-1562.
7. Cano M and Marín M. Pigment composition and color of frozen canned kiwifruit slice. *J Agric Food Chem* 1992;40(11):2141-2146.
8. Okuse A, Okuse I and Ryugo K. Effects of certain processing methods, substrate level, and polyphenoloxidase in the stability of ascorbic acid in kiwifruit. *HortScience* 1981;16(2):164-165.
9. Schmidt-Hebbel H. Método de valoración de vitaminas. Universidad de Chile, Depto. de Química y Tecnología de los Alimentos. Santiago 1987;17.
10. Vernon L. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts. *Analytical Chemistry* 1960;32(9):1144-1150.
11. Young H, Paterson V and Burns D. Volatile aroma constituents of kiwifruit. *J Sci Food Agrc* 1983;34(1):81-85.
12. Young H and Paterson V. The effects of harvest maturity, ripeness and storage on kiwifruit aroma. *J Sci Food Agrc* 1985;36(4):352-358.
13. Lallu N, Searle A and Macrae E. An investigation of ripening and handling strategies for early season kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv Hayward). *J Sci Food Agrc* 1989;47(4):387-400.
14. El-Zalaki E and Luh B. Effect of sweetener types on chemical and sensory quality of frozen kiwifruit concentrates. *Food Chem* 1981;6:295-307.
15. Wildman T and Luh B. Effect of sweetener types on quality and composition of canned kiwi nectars. *J Food Sci.* 1981;46(2):387-390.
16. Matsumoto S, Obara T, and Luh B. Changes in chemical constituents of kiwifruit during post-harvest ripening. *J Food Sci* 1983;48(2):607-611.
17. Castaldo D, Lo Voi A, Trifiro A and Gherardi S. Composition of italian kiwi (*Actinidia chinensis*) puree. *J Agric Food Chem* 1992;40(4):594-598.
18. Fuke Y, Sosago K and Matsuoka H. Determination of chlorophylls in kiwifruit and their changes during ripening. *J Food Sci* 1985;50(4):1220-1223.
19. Fennema O. Loss of vitamins in fresh and frozen foods. *Food Tech* 1977;31(12):32-38.
20. Lajolo F and Lanfer Márquez U. Chlorophyll degradation in a spinach system at low and intermediate water activities. *J Food Sci* 1982;47(6):1995-1998.

Recibido: 22-12-1997

Aceptado: 31-08-1998

Influencia del tratamiento térmico y la fibra dietética en la calidad de la proteína de la alcachofa y su subproducto

G. López, G. Ros, J. Ortuño, M.J. Periago, C. Martínez, F. Rincón

Universidad de Murcia, Universidad de Córdoba, España

RESUMEN. El contenido en aminoácidos, la digestibilidad "in vitro" de la proteína (DIVP) y la fibra dietética (FD) fueron determinados en muestras de alcachofas escaldadas (95°C/5 minutos), esterilizadas (100°C/5 minutos) y su subproducto (formado por las hojas externas de la alcachofa y la porción distal del tallo). Con el fin de determinar la adecuación de la proteína de la alcachofa a las recomendaciones en aminoácidos esenciales descritas por la FAO/WHO, fueron determinados los marcadores índice y el aminoácido limitante en las tres muestras analizadas. De los resultados obtenidos se desprende que las tres muestras presentaron una buena relación con las recomendaciones de la FAO/WHO, incluyéndose las relativas a los aminoácidos azufrados. El contenido en FD en todas las muestras fue alto, apreciándose un descenso en las muestras de alcachofa esterilizada, lo que puede estar relacionado con una mejora de DIVP. A pesar de que el contenido en FD en el subproducto fue alto (51,6%), éste puede considerarse como una fuente potencial de proteína, ya que presentó un adecuado perfil de aminoácidos y los mayores valores de DIVP (76,4%).

Palabras clave: Alcachofa, calidad proteica, aminoácidos, fibra dietética.

SUMMARY. Protein quality of artichoke and artichoke by-product as affected by heat treatment and dietary fiber. Blanched (95°C, 5 min), autoclaved (100°C, 5 min) artichoke hearts and their by-product (external leaves and distal portion of stem) were analysed for amino acid composition, «in-vitro» protein digestibility (DIVP), and dietary fiber. Amino acid score of the three samples was in a good agreement with FAO/WHO recommendations including sulphur amino acids. Dietary fiber content was high in all samples, decreasing in autoclaved artichokes that might be relate with the improvement of DIVP. By-product was consider a potential food source because it showed a good amino acid profile and the highest levels of DIVP (76.4%), but fibrouness was also too high (51.6%).

Key words: Artichoke, quality protein, aminoacids, dietary fiber.

INTRODUCCION

En general, las proteínas de origen animal son más adecuadas para cubrir las necesidades del hombre en aminoácidos esenciales que las proteínas de origen vegetal. En este sentido, los cereales y las legumbres, las dos fuentes más importantes de proteínas vegetales, tienen limitado su valor nutritivo ya que son deficientes en ciertos aminoácidos esenciales tales como la isoleucina, leucina, treonina, triptófano y metionina (1). Diferentes estudios han demostrado que la administración de diferentes dietas formuladas a base de proteínas vegetales tienen efectos nutricionales complementarios, mejorando la calidad proteica de cada una de ellas por separado (2,3). Por lo tanto, es necesario estudiar la calidad proteica de fuentes vegetales distintas a los cereales y las legumbres, para obtener información nutricional sobre alimentos que puedan ser útiles para suplir las deficiencias en aminoácidos esenciales de aquellos. Muchos de estos alimentos de origen vegetal se consumen tradicionalmente, aunque existe una carencia de información sobre su valor nutritivo. La medida del valor nutricional de las proteínas basada en la composición en

aminoácidos y su digestibilidad es un método efectivo para obtener información con fines nutricionales y de etiquetado del producto.

La alcachofa es una planta de la familia *Compositae* ampliamente localizada en los países del área mediterránea, principalmente Italia, Francia y España. Tradicionalmente su consumo ha tenido una gran difusión por sus efectos fisiológicos relacionados con la estimulación de la diuresis y el metabolismo del nitrógeno. Junto con las legumbres, la alcachofa es una de las fuentes más importantes de la dieta mediterránea, caracterizada por su alto valor nutritivo (4,5). Sin embargo, el consumo de legumbres presenta diversos inconvenientes debidos a los problemas asociados a la flatulencia, a su baja digestibilidad proteica afectada por diferentes factores antinutritivos, o por la conformación de sus proteínas, que resisten la actividad enzimática y reducen su calidad proteica (6,7). Algunos de estos inconvenientes pueden ser evitados mediante un adecuado tratamiento térmico (cocinado culinario o procesado industrial), debido a la disminución de la actividad de sus factores inhibidores (8-10). La alcachofa se caracteriza por su elevado valor nutritivo,

digestibilidad (11-13) y contenido en fibra dietética (13-16). Sin embargo, se han asociado algunos efectos adversos al consumo de dietas ricas en fibra, tales como la baja biodisponibilidad de algunos minerales (17) o la reducción de la digestibilidad de la proteína debido a la barrera física que ejerce la estructura de la pared celular al ataque enzimático (18, 19). Tradicionalmente, el subproducto de la alcachofa se ha utilizado en la alimentación animal, aunque pocos estudios se han realizado sobre su posible utilización como un suplemento para la industria alimentaria.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el valor nutricional de la proteína de la alcachofa, evaluado por su composición en aminoácidos y la digestibilidad "in vitro" de la proteína, comparándola con el subproducto industrial de la alcachofa, y estudiar los efectos del tratamiento térmico comercial (escaldado y esterilizado) y contenido en fibra dietética en el valor nutritivo de sus proteínas.

MATERIAL Y METODOS

Material

Las alcachofas (*Cynara scolymus*, L., var. *Blanca de Tudela*) fueron proporcionadas por Hero España, S.A. (Murcia, España), cultivadas en "El campo de Cartagena" (Sudeste de España), transportadas a la fábrica conservera dentro de la primera hora tras la cosecha, refrigeradas a 4°C, inspeccionadas, calibradas, y lavadas con agua para eliminar la suciedad. Las alcachofas fueron escaldadas a 95°C durante 5 minutos, para posteriormente eliminar mecánicamente las hojas externas y la porción final del tallo. En esta etapa se forman los corazones de las alcachofas y el subproducto industrial de la misma, constituido éste último por las hojas externas y la porción final del tallo. Los corazones de alcachofa escaldados fueron introducidos en botes de vidrio, complementándose el contenido de los mismos con una solución ácida de ClNa y ácido cítrico (pH 4,5). La esterilización comercial se llevó a cabo en un autoclave a 100°C durante 5 minutos. Finalmente, los botes de alcachofa fueron enfriados con agua antes de ser almacenados.

Para la realización de este estudio se tomaron muestras de los corazones de alcachofa en los estados de procesado escaldado y esterilizado, así como del subproducto industrial del procesado de la alcachofa.

Las muestras de alcachofas escaldadas y esterilizadas (corazones de alcachofa con un calibre de 40-45 mm de diámetro) y del subproducto fueron desecadas utilizando un liofilizador Virtis Freeze-Drier, modelo Bench Top 3 (Virtis Co, Gardiner, NY) y molidas en un molino Cyclotec 1093 (Tecator AB, Högånäs, Suecia) para obtener un polvo con un tamaño de partícula que pasara a través de una malla de 40 mesh. Finalmente, las muestras se guardaron en botellas de polietileno en congelación a -40°C hasta su análisis.

Métodos

Proteína bruta

El contenido en proteína bruta (PB) se estimó utilizando el método micro-Kjeldahl de determinación de nitrógeno, usando como factor de conversión 6.25 (20).

Contenido en aminoácidos

El contenido en aminoácidos fue determinado mediante un Analizador LKB Alfa Plus (Pharmacia LKB Biochrom S.A., Cambridge, Inglaterra). Las muestras liofilizadas fueron hidrolizadas usando HCl 6 N a 110°C durante 24 horas en ampollas ámbar selladas al vacío. Después de la hidrólisis, las muestras fueron filtradas a través de filtros Millipore de 0,22 µm de tamaño de poro, diluyéndose posteriormente hasta 2 ml y ajustándose el pH a 2,2 mediante una solución tamponadora de citrato de litio (Pharmacia Biotech, Biochrom, S.A., Cambridge, Inglaterra) antes de ser cromatografiadas en la columna de intercambio iónico. Una solución estándar de aminoácidos fue usada como referencia para calibrar el analizador de aminoácidos (Pharmacia LKB Biochrom S.A., Cambridge, Inglaterra, Part. N° 40 00 9037).

Digestibilidad "in vitro" de la proteína

La digestibilidad "in vitro" de la proteína (DIVP) fue determinada según el procedimiento descrito por Satherlee y col. (21) utilizando un patrón de caseína de referencia, usando la siguiente ecuación de regresión: $Y=234,84-22,56X$

donde Y es la digestibilidad "in vitro" (%), y X el pH de la suspensión de la muestra después de 20 minutos de digestión con tripsina pancreática porcina (type IX), quimotripsina pancreática bovina (type II), peptidasa intestinal porcina (Grade I), y proteasa bacteriana («Pronasa E») (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO).

Fibra dietética

La fibra dietética total (FDT) fue determinada por el método enzimático-gravimétrico de Prosky y col. (22). El residuo de fibra, antes de ser pesado, fue utilizado para estimar la cantidad de proteína unida a la fibra dietética usando el cálculo anteriormente mencionado para la determinación de proteína bruta.

Análisis estadístico

Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado, evaluándose estadísticamente los resultados mediante el software SYSTAT, versión 5.0 (23). El test de Tukey con un nivel de significación del 5% fue usado para comparar pares individuales de medias.

RESULTADOS Y DISCUSION

Diferentes autores han indicado que las alcachofas no procesadas son una buena fuente de algunos aminoácidos,

tales como el ácido aspártico, glutamina, leucina, arginina o amoníaco (11,24). Sin embargo, existe poca información a cerca de como el procesado afecta a la calidad de la proteína de las alcachofas. La Tabla 1 muestra el contenido en aminoácidos esenciales y no esenciales en los corazones de alcachofa escaldados y esterilizados, así como en el subproducto industrial de la alcachofa. Entre los aminoácidos esenciales, la leucina fue el más abundante, oscilando sus valores entre 8,67 y 8,05 g/16 g N para alcachofas esterilizadas y escaldadas

respectivamente. Los valores de valina, treonina, lisina, isoleucina y fenilalanina oscilaron desde 3,5 hasta 6,0 g/16 g N, y fue detectada una cantidad apreciable de aminoácidos azufrados (metionina+cistina), más de 2,5 g/16 g N, si se compara con otros vegetales como el frijol o el guisante (25-27). El aspartato y la glutamina fueron los aminoácidos no esenciales de mayor contenido, mientras que la taurina y GABA (ácido γ -amino butírico) los hallados en menor cantidad (menos de 2 g/16 g N).

TABLA 1

Composición en aminoácidos esenciales y no esenciales de las alcachofas escaldadas y esterilizadas, y su subproducto industrial (g/16 g N)

	Aminoácidos esenciales			Aminoácidos no esenciales			
	Alcachofa escaldada	Alcachofa esterilizada	Subproducto	Alcachofa escaldada	Alcachofa esterilizada	Subproducto	
Cistina	0,81 ^a (0,241)	0,66 ^{ab} (0,022)	0,63 ^b (0,291)	Alanina	5,55 ^a (0,241)	5,61 ^a (0,022)	5,32 ^a (0,291)
Histidina	1,05 ^a (0,136)	1,29 ^a (0,012)	1,45 ^a (0,068)	Arginina	3,15 ^a (0,136)	2,56 ^b (0,012)	2,29 ^b (0,068)
Isoleucina	5,50 ^a (0,456)	4,67 ^b (0,064)	5,04 ^{ab} (0,782)	Aspartato	12,19 ^a (0,456)	8,30 ^c (0,064)	16,52 ^a (0,782)
Leucina	8,05 ^a (0,064)	8,67 ^a (0,010)	8,18 ^a (0,040)	GABA ^d	0,94 ^a (0,064)	0,46 ^b (0,010)	0,44 ^b (0,040)
Lisina	5,90 ^a (0,175)	5,50 ^a (0,021)	4,66 ^b (0,367)	Glicina	4,42 ^a (0,175)	4,65 ^a (0,021)	4,35 ^a (0,367)
Metionina	1,87 ^a (0,601)	2,05 ^a (0,051)	1,88 ^a (0,788)	Glutamina	13,56 ^a (0,601)	13,21 ^a (0,051)	13,33 ^a (0,788)
Fenilalanina	3,60 ^b (0,076)	3,82 ^{ab} (0,084)	4,37 ^a (0,247)	Prolina	6,34 ^a (0,076)	5,47 ^b (0,084)	4,73 ^c (0,247)
Tirosina	2,16 ^a (0,123)	1,66 ^b (0,030)	2,19 ^a (0,170)	Serina	5,17 ^a (0,123)	4,85 ^{ab} (0,030)	4,37 ^b (0,170)
Treonina	4,94 ^a (0,051)	4,67 ^b (0,015)	4,20 ^c (0,254)	Taurina	0,98 ^b (0,051)	1,31 ^{ab} (0,015)	1,82 ^a (0,254)
Valina	5,39 ^{ab} (0,096)	6,00 ^a (0,084)	4,66 ^b (0,320)	Amoniaco	6,78 ^b (0,096)	4,90 ^c (0,084)	9,64 ^a (0,320)

^{a-c}Medias (\pm error estándar) de tres determinaciones expresadas como g/16 g N de peso seco. Diferentes letras dentro de la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). ^dGABA: ácido γ -amino butírico.

El procesado disminuye la cantidad de aminoácidos en los alimentos, siendo la lisina, metionina y cistina los más sensibles a tal efecto (28). Sin embargo, como muestra la Tabla 1, en la alcachofa ninguno de estos aminoácidos presentó diferencias estadísticamente significativas entre los estados de procesado escaldado y esterilizado, aunque el proceso de esterilización disminuyó ligeramente los niveles de treonina, tirosina, isoleucina (aminoácidos esenciales), arginina, aspartato, GABA y prolina (aminoácidos no esenciales). En otros vegetales fibrosos como el espárrago verde, se ha observado una disminución de cistina y lisina, y también una reducción en los niveles de arginina y GABA durante el proceso de esterilización (29), mientras que en frijoles se han descrito pérdidas de treonina y arginina durante el hervido (30).

En el subproducto de la alcachofa el aspartato fue determinado en gran cantidad (16,52 g/16 g N frente a 12,19 y 8,30 g/16 g N en las muestras escaldada y esterilizada, respectivamente), probablemente debido al hecho de que en el subproducto de la alcachofa se incluye la porción final del tallo, donde el aspartato se encuentra en mayor cantidad, ya

que es el principal aminoácido transportado a través de los tejidos vasculares del tallo (31). El subproducto de la alcachofa está formado por tejidos maduros con un cantidad mayor de lignina y amoníaco (9,635 g/16 g N) que los tejidos del corazón de la alcachofa, ya que las plantas incrementan sus niveles de amoníaco durante el crecimiento o cuando se someten a condiciones de estrés (32-34).

Un método para evaluar la calidad de la proteína en los alimentos consiste en medir la proporción de aminoácidos disponibles en el alimento comparada con los modelos de requerimientos en aminoácidos propuestos por la FAO (35, 36). La Tabla 2 muestra la relación entre los aminoácidos de la alcachofa con el patrón de requerimientos de aminoácidos de la FAO para niños entre 2 y 5 años, que representa el rango de edad en el cual el hombre presenta mayores exigencias en aminoácidos. Se puede observar que la histidina fue el aminoácido limitante común a las tres muestras, la lisina en la muestra esterilizada y en el subproducto, y la fenilalanina+tirosina en los corazones de alcachofa escaldados y esterilizados. Sin embargo, para los otros aminoácidos esenciales la cantidad requerida para el consumo humano

parece ser adecuada, sobre todo los aminoácidos de azufre (metionina+cistina) los cuales se hallan en cantidades bajas en las proteínas de las legumbres (6).

TABLA 2
Aminoácidos marcadores en las alcachofas escaldadas, esterilizadas y en el subproducto

Aminoácidos Esenciales (AAE)	FAO/ WHO ^a	Cómputo químico		Sub- producto
		A. escaldadas	A. esterilizadas	
Histidina	19	55	68	76
Isoleucina	28	100	100	100
Leucina	66	100	100	100
Lisina	58	100	95	80
Met + Cys	25	100	100	100
Phe + Tyr	63	91	87	100
Treonina	34	100	100	100
Valina	35	100	100	100

^aPatrón de recomendaciones en necesidades de aminoácidos esenciales para niños entre 2 y 5 años (g/100 g) (35).

Digestibilidad "in vitro" de la proteína

El incremento de la temperatura tiene una relación positiva con la mejora de digestibilidad de las proteínas de los vegetales (8,13,30), ya que muchos de los factores antinutricionales presentes en las plantas son total o parcialmente inactivados por un adecuado procesamiento de los alimentos (9,25). En nuestro estudio el calentamiento aumentó significativamente la DIVP desde 71,7% en la muestra escaldada hasta 75,9% en la esterilizada (Tabla 3). Aunque la temperatura alcanzada en ambos tratamientos fue muy próxima (alrededor de 100°C), el aumento de DIVP en alcachofas esterilizadas puede explicarse por el mantenimiento en el tiempo de esta temperatura (5 minutos durante el escaldado más 5 minutos durante el esterilizado), causando un debilitando de la estructura de la proteína, y facilitando de esta manera el ataque de las enzimas proteolíticas (9). Junto con la temperatura, el pH ácido (4,5) usado en el proceso de esterilización puede actuar como factor adicional en la mejora de la digestibilidad proteica.

Los inhibidores de los enzimas digestivos, como el ácido fítico, los taninos y los inhibidores de la tripsina, constituyentes comunes en la composición de las legumbres (6,37), reducen la digestibilidad de las proteínas. Así mismo, la FD es otro factor responsable de la reducción de digestibilidad de la proteína en los vegetales (18,19). El alto contenido de FDT en nuestras muestras (que osciló desde 38,5 hasta 51,6% en el corazón de alcachofa esterilizado y en el subproducto, respectivamente, Tabla 3) pudo hacer difícil el acceso de los enzimas proteolíticos a sus substratos. El proceso de esterilización redujo el contenido en FDT alrededor de un 20%, aumentando de esta manera la accesibilidad física de los enzimas

proteolíticos a las proteínas, hecho que explica el moderado incremento de DIVP (alrededor de 6% a 7%). La reducción de FDT por el tratamiento térmico también se corresponde con una disminución de la proteína unida a la pared de la célula (de 5,88 a 3,84% para muestras escaldadas y esterilizadas, respectivamente), siendo otro factor que puede explicar la mejora de la digestibilidad proteica, ya que la fracción de proteína asociada a la fibra dietética es siempre una fracción de proteína digerida incompletamente (38).

TABLA 3
Contenido en proteína bruta, digestibilidad "in vitro" de la proteína, fibra dietética total y proteína unida a la fibra dietética (g/100g) en los corazones de alcachofa escaldados y esterilizados y en su subproducto industrial

	Alcachofa escaldada	Alcachofa esterilizada	Subproducto
PBd	18,9 ^a (0,13)	16,1 ^b (0,20)	13,3 ^c (0,07)
DIVP	71,7 ^b (0,62)	75,9 ^a (0,08)	76,4 ^a (0,52)
FDT	46,7 ^b (0,17)	38,5 ^c (0,84)	51,6 ^a (0,07)
PFd	5,9 ^a (0,13)	3,8 ^b (0,20)	3,0 ^c (0,09)

^{a-c}Medias (± error estándar) de tres determinaciones expresadas como g/100g de peso seco. Diferentes letras dentro de la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas (p<0.05). ^aPB: proteína bruta, DIVP: digestibilidad "in vitro" de la proteína, FDT: fibra dietética total, PFd: proteína unida a la fibra dietética

El subproducto mostró el índice más alto de digestibilidad de la proteína (76,4%) junto con el contenido más bajo de PB (13,3%). Un factor que puede explicar los valores más altos de DIVP obtenidos en el subproducto respecto a los hallados en los corazones de alcachofa escaldados o esterilizados, es la incorporación de tejidos con otros componentes y estructura diferentes a los tejidos del corazón de alcachofa, ya que aquellos están formados por hojas maduras y la porción final del tallo. Durante la madurez y senescencia se originan modificaciones en el metabolismo de la planta, con el incremento en el contenido y actividad de determinadas enzimas hidrolíticas como las glucosidasas, proteinasas y ribonucleasas que causan pérdidas del contenido de proteínas y las hacen más susceptibles al ataque enzimático que las proteínas unidas a la pared de la célula (31).

El bajo contenido de metionina limita el valor nutritivo de muchas legumbres. Sin embargo, otros vegetales como la alcachofa, aun después del procesamiento, proporcionan a la dieta cantidades importantes de aminoácidos azufrados (metionina+cistina) y otros aminoácidos como la isoleucina, leucina, treonina y valina. Por este motivo, la alcachofa, junto con otros alimentos de origen vegetal distintos a los cereales y legumbres, debe estar presente cuando se efectúen recomendaciones de toma de proteínas. De la misma manera, este

estudio muestra que el subproducto de la alcachofa es una fuente potencial de aminoácidos, con una digestibilidad de la proteína mayor que los corazones de la alcachofa. Su digestibilidad puede aumentarse si se elimina la gran cantidad de proteína asociada a la pared de la célula (3,03%), siendo de esta manera un suplemento útil y más barato de aminoácidos esenciales para la fortificación de las proteínas de baja calidad.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto ALI94-0338 de la CICYT y a HERO España, S.A. por el apoyo económico.

REFERENCIAS

- Friedman M. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. *J Agric Food Chem* 1996;44:6-29.
- Joseph E, Swanson B G. Growth and nitrogen retention of rats fed bean (*Phaseolus vulgaris*) and bean and rice diets. *Food Res Int* 1993;4:261-69.
- Abreu M, Hernández M, Castillo A, González I, González J, Brito O. Study on the complementary effect between the proteins of wheat and amaranth. *Dier Nahrung* 1994;38:82-6.
- Fidanza F. Legumes. In: Spiller G A, editor. *The Mediterranean diets in health and disease*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991:102-9.
- Testolin G, Alberio A, Casisaghi E. Vegetables and Fruits. In: Spiller GA, editor. *The Mediterranean diets in health and disease*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991:110-24.
- Liener I E. Legume toxins in relation to protein digestibility a review. *J Food Sci* 1976;41:187-92.
- Lumen B O. Molecular strategies to improve protein quality and reduce flatulence in legumes: A review. *Food Structure* 1992;11:33-46.
- Estévez A M, Castillo E, Figuerola F, Yáñez E. Effect of processing on some chemical and nutritional characteristics of pre-cooked and dehydrated legumes. *Plant Foods Hum Nutr* 1991;41:193-201.
- Ros G, Collins J. Physico-chemical and nutritional properties of cowpeas (*Vigna unguiculata*) heated under pressure. *J Sci Food Agric* 1992;58:369-74.
- Barampama Z, Simard R. Oligosacchrides, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as affected by processing. *J Food Sci* 1994;59:833-8.
- Carnovale E, Muccio C F. Ricerche sulla composizione di alcune varietà di *Cynara scolymus*. *Quaderni de lla Nutrizione* 1971;31:58-78.
- Casalichio G, Rastelli R, Lerici CR. Contributo alla conoscenza della composizione chimica della parte commestibile di alcuni vegetali prelevanti direttamente dal mercato. *Scienza e Tecnologia degli Alimenti* 1973;5:311-4.
- López G. Obtención de purificados de la fibra dietética de la alcachofa (*Cynara scolymus*, L.) y estudio de sus propiedades funcionales. [tesis doctoral]. Universidad de Murcia (España) 1995.
- Herranz J, Vidal-Valverde C, Rojas-Hidalgo E. Cellulose, hemicellulose and lignin content of raw and cooked spanish vegetables. *J Food Sci* 1981;46:1927-33.
- Herranz J, Vidal-Valverde C, Rojas-Hidalgo E. Cellulose, hemicellulose and lignin content of raw and cooked processed vegetables. *J Food Sci* 1983;48:247-75.
- Lintas C, Capelloni M. Content and composition of dietary fiber in raw and cooked vegetables. *Food Sci Nutr* 1988;42:117-24.
- Torre M, Rodríguez A R, Saura-Calixto F. Effect of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 1991;30:1-22.
- Gaudard-De Weck D, Hischenhuber C, Kruseman J. Proteins - definition, aspects nutritionnels et methodes d'evaluation: un article de revue. *Trav Chim Aliment Hyg* 1994;85:317-39.
- Melito C, Tovar J. Cell wall limit in vitro protein digestibility in processed legume seeds. *Food Chem* 1995;53:305-7.
- AOAC. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 1991.
- Satterlee L D, Kendrick J G, Marshall H F, Jewell D K, Ali R A, Heckman M M, et al. In vitro assay for predicting protein efficiency ratio as measured by rat bioassay: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 1982;65:798-809.
- Prosky L, Asp N G, Schweizer T F, Devries J W, Furda I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods, food products: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* 1988;71:1017-23.
- Wilkinson L. *Systat*. In: *The system for statistics*. Systat Inc; Evanston. Illinois 1986.
- Kapuler A M, Gurusiddiah S. The twenty protein amino acids free in the juices of our common vegetables and herbs. *J Home Cons Hort* 1994;1:3-18.
- Sathe S K, Iyer V, Salunkhe D K. Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) proteins. Amino acid composition, in vitro digestibility, and application to cookies. *J Food Sci* 1982;47: 8-11.
- Yadav N R, Liener I E. Optimizing the nutritive value of the protein of navy beans (*Phaseolus vulgaris*) by complementation with cereal proteins. *Legume Res* 1977;1:17-21.
- Periago M J, Ros G, Martínez M C, Rincón F, López G, Ortuño J, Ros F. In vitro estimation of protein and mineral availability in green peas as affected by antinutritive factors and maturity. *Lebensm-Wiss u Technol* 1996;29:481-8.
- Garlick P J, Reeds P J. Human nutrition and dietetics. In: Garrow JS, James WPT, editors. *Proteins*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1993:56-76.
- López G, Ros G, Rincón F, Ortuño J, Periago M J, Martínez M C. Amino acids and «in vitro» protein digestibility changes in green asparagus (*Asparagus officinalis*, L.) during growth and processing. *Food Res Int* 1997;29:617-25.
- Kadam S S, Smithard R R, Eyre M D, Armstrong D G. Effects of heat treatments of antinutritional factors and quality of protein in winged bean. *J Sci Food Agric* 1987;39: 267-75.
- Barceló J, Nicolás G, Sabater B, Sánchez R. *Fisiología Vegetal*. Ed. Pirámide, S.A., Madrid: 1992.
- Joy K W, Ireland R J, Lea P J. Asparagine synthesis in pea leaves, and the occurrence of an asparagine synthetase inhibitor. *Plant Physiology* 1983;73:165-8.
- Sieciechowicz K A, Joy K W, Ireland R J. The metabolism of asparagine in plants. *Phytochemistry* 1988;27:663-71.
- Hahlbrock K, Grisebach H. Enzymatic control in the biosynthesis of lignin and flavonoids. *Annu Rev Plant Physiol* 1979;30:105-30.

35. FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirement. Report of Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Technical Report Series Number 724, WHO, Geneva, Switzerland 1985.
36. Kies C. Bioavailability: A factor in protein quality. *J Agric Food Chem* 1981;29:435-40.
37. Carnovale E, Lombardi-Boccia G, Marletta L. Contenuto in fattori antinutrizionali e digeribilità proteica in vitro di alcune cultivar di legumi. *La Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione* 1989;18:321-6.
38. Saunders R M, Betschart A A. The significance of protein as a component of dietary fiber. *Am J Clin Nutr* 1980;33:960-1.

Recibido:10-09-1998

Aceptado:15-01-1999

Uma experiência de construção de conhecimento com manipuladores de alimentos a partir da implantação da análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar

Anete Araújo de Sousa, Raquel Küerten de Salles, Márcia Reis Felipe, Iraci Tosin

Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. Brasil

RESUMO. O presente artigo tem como objetivo descrever os passos metodológicos de uma experiência de implantação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) com manipuladores de alimentos em uma Unidade de Alimentação Hospitalar (UAN), dentro de uma concepção de troca e construção de conhecimentos. Foram realizadas reuniões de sensibilização com os manipuladores de alimentos e nutricionistas, com o objetivo de levantar as dificuldades apontadas pelo setor e o trabalho a ser desenvolvido. O desenvolvimento da APPCC compreendeu todas as etapas recomendadas para este método, procurando-se a partir de sua implantação instruir os manipuladores de alimentos sobre o monitoramento das preparações e envolvê-los em uma discussão conjunta sobre as medidas de controle, os critérios de correção e os métodos de monitoramento a serem adotados pelo serviço, após a identificação dos pontos críticos detectados. O processo de implantação da APPCC, possibilitou resgatar conhecimentos sobre a qualidade dos alimentos e da alimentação, a necessidade de melhorias das condições de trabalho e geraram ações que foram desenvolvidas à curto prazo, revelando a necessidade de uma parceria mais efetiva e contínua para novas propostas.

Palavras chaves: Conhecimento, APPCC, Unidade de Alimentação e Nutrição, qualidade.

SUMMARY. Implantation of HACCP with food handlers in a hospital food service establishment. The present article has as objective to describe the methodology of an experience of implantation of Hazard Analyses Critical Control Points (HACCP) with food handlers in a hospital food service establishment, inside of a conception of relationship and construction of knowledge. Meetings with the food handlers and nutritionists, with the objective of raising the difficulties pointed for the sector and the work to be developed. The HACCP consisted of the evaluation of the operations, following the sequential steps recommended, looking itself to instruct the food handlers on the methods of the operations and its interpretations. The detected critical points, the measures of control, the criteria of correction and the monitoring have widely been argued, serving as didactic elements for the reconstruction of quality of the preparations. The discussions generated actions that were developed in short term, revealing the need of a more effective and continuous partnership for the new proposals.

Key words: Knowledge, HACCP, food establishment, warranty of quality.

INTRODUÇÃO

A Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) tem sido defendida como um dos métodos mais eficazes para a garantia de qualidade das refeições em estabelecimentos destinados à alimentação colectiva.

Dentro desta perspectiva e, aliado ao crescente aumento de ocorrências de toxinfecções alimentares nestes estabelecimentos, a implementação da APPCC vêm ganhando ênfase em programas de vigilância sanitária no Brasil, sendo instituída inclusive, uma portaria sobre a adoção do método pela Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária (Ministério da Saúde), de forma a proteger a saúde do consumidor (1).

A APPCC como um sistema preventivo de controle, especialmente relacionado com riscos microbiológicos, inclui

análises cuidadosas dos pontos críticos de controle durante as etapas do processamento e observações criteriosas, para componentes ou áreas e fatores humanos relevantes que devem manter-se sob um controle rígido, a fim de garantir no produto final as especificações microbiológicas estabelecidas. Os pontos críticos de controle são aqueles que quando escapam ao controle, possibilitam um risco inaceitável para a inocuidade do alimento (2-9).

A construção teórica do método APPCC está cada vez mais sedimentada entre os profissionais e técnicos da área, que têm procurado implantá-lo, apesar das condições estruturais e administrativas das Unidades de Alimentação e Nutrição dificultarem o desenvolvimento do método e do sistema em seus locais.

Por outro lado, é cada vez mais emergente que a APPCC,

seja uma cultura a mais a ser incorporada por todo o pessoal envolvido direta ou indiretamente na produção das refeições e, ao mesmo tempo, deve se tornar viável em função da realidade de cada local. Mais do que o entendimento teórico, é necessário que tal metodologia seja reconstruída passo a passo com quem diariamente trabalha com o alimento, na tentativa de sensibilizá-los para uma nova forma de fazer as coisas.

Demo (10), ao discutir sobre a relevância do conhecimento no mundo moderno defende que “a qualidade dos processos e produtos é função primordial da qualidade dos recursos humanos envolvidos que não pode ser obtida por treinamentos, ensinos reprodutivos, aprendizagem subalternas. O trabalhador precisa aprender a aprender e saber pensar”.

Neste sentido, a proposta teve como objetivo, implantar os métodos de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) em uma cozinha hospitalar, dentro de uma concepção da troca e construção de conhecimentos (11) estabelecendo relações, onde todos os envolvidos no processo pudessem perceber a possibilidade que cada um tem, de ultrapassar seus limites e construir uma prática com qualidade.

METODOLOGIA

A metodologia desenvolvida na UAN, sob o ponto de vista do conhecimento a ser produzido, foi pautada com o entendimento de que todos os indivíduos, trazem consigo um conhecimento sobre o que é o alimento e todas as suas relações (11). Essa foi uma percepção importante para que a implantação de um método de garantia de qualidade, fosse entendida como um processo a mais na busca da relação de parceria, pois através dela, todos os envolvidos, independente da função que exercida-pesquisadores, conzinheiros, auxiliares, nutricionistas, etc., podem ter a possibilidade de trocar e produzir conhecimentos.

Portanto, em cada momento, buscou-se trabalhar com todos os indivíduos em seus diferentes papéis e dentro dos limites de tempo e espaço de cada um.

O processo de sensibilização e troca de conhecimentos

Em um primeiro momento foram realizadas reuniões de sensibilização com o objetivo de fazer um levantamento de problemas e descrever os aspectos fundamentais a serem trabalhados no local.

Os elementos foram discutidos, com auxílio de material instrucional, conforme esquema abaixo.

A Análise de Riscos e Pontos Críticos de Controles

A APPCC compreendeu o desenvolvimento das etapas recomendadas para a implantação deste método (5), descritas a seguir:

1. Identificação de perigos e avaliação da severidade dos mesmos e seus riscos;
2. Identificação dos pontos críticos de controle;

3. Especificação de critérios para controle dos pontos críticos;
4. Estabelecimento e implementação de procedimentos para monitorar cada ponto crítico de controle;
5. Implementação das ações corretivas, e
6. Verificação do funcionamento do sistema, como recomendado.

As análises foram realizada em cinco preparações com carne bovina e frango e em seis de saladas. O monitoramento das operações consistiu de observações das operações, da determinação tempo-temperatura e da coleta de amostras para análise microbiológica (5,12-17).

FIGURA 1

Principais objetivos e conteúdos abordados, durante primeira etapa de sensibilização da APPCC

Painel 1: Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle.	Definições do método APPCC. Legislação. Prevenção de toxinfecções alimentares.
Painel 2: Analisar Perigos Mas... O que vem a ser um perigo prá vocês na produção de refeições?	Identificação dos conceitos e do conhecimento de práticas que os manipuladores de alimentos tinham sobre perigos na produção de refeições.
Painel 3: O que é uma contaminação?	Discussão das operações que provocam contaminação, sobrevivência e multiplicação de microrganismos; diferenças de susceptibilidade entre os indivíduos e o nível de contaminação do alimento (dose infecciosa).
Painel 4: Aumento das toxinfecções alimentares refeições em casa x refeições fora de casa.	Discussão das hipóteses. Levantamento de questões sobre operações na produção de refeições x fatores de crescimento de microrganismos.
Painel 5: Tempo e temperatura.	Discussão sobre a relação volume da produção x possibilidade de multiplicação de microrganismos.
Painel 6: Acompanhamento de preparações. Identificação de pontos críticos. Medição tempo-temperatura. Coleta de amostras. Fotografar operações.	Discussão de metodologia de trabalho.

Nesta etapa, informações foram trocadas com os cozinheiros e seus auxiliares, no sentido deles acompanharem o tempo e temperatura de exposição das preparações e matérias-primas (para evitar a multiplicação de microrganismos), a utilização de termômetros, o início e o término da cocção de algumas preparações, e as boas práticas de prestação de serviços como procedimentos fundamentais para evitar a contaminação das preparações.

Posteriormente, após a análise dos dados, todo o material foi organizado de forma que o mesmo pudesse ser discutido com os manipuladores de alimentos e nutricionistas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados, compreendem os diferentes momentos da experiência de implantação da APPCC com os manipuladores de alimentos, a partir dos críticos identificados nas preparações acompanhadas.

Os fluxogramas do processo, identificando o tempo-temperatura e as possibilidades de multiplicação, sobrevivência e multiplicação em cada operação, assim como a representação gráfica dos resultados das análises microbiológicas, juntamente com a identificação dos pontos críticos, conforme recomendados por Bryam (5), foram devidamente documentados e serviram de ferramentas para a discussão com os manipuladores de alimentos e nutricionistas, com a finalidade de propor a implementação de medidas corretivas e o controle apropriado em cada operação (18).

As propostas de ações corretivas foram elaboradas, baseando-se nos critérios de temperatura e recomendações técnicas e higiênicas sanitárias propostos por Sousa (19), Aberc (20), Arruda (21) e o Codex Alimentarius (22).

Os pontos críticos identificados no local, foram discutidos a partir de material educativo (Fig. 3) contando também com auxílio do material fotográfico, obtido durante a coleta de dados.

Sensibilizando o pessoal através da coleta de dados e dos resultados

O processo de reconstrução do conhecimento é um processo longo, que deve ser trabalhado continuamente na produção, a partir das experiências de cada indivíduo responsável pela produção das preparações.

A partir dos resultados obtidos, procurou-se resgatar algumas etapas:

Em um primeiro momento, retornou-se aos elementos trabalhados na primeira fase (Figura 1) tentando avaliar o trabalho realizado, a partir de um tema gerador, conforme figura abaixo:

FIGURA 2

Respostas obtidas pelos manipuladores de alimentos durante segunda etapa sensibilização da APPCC

O que vem a ser qualidade na produção de refeições

Plantão 1:

Qualidade é...

- Higiene do alimento = o produto tem que ser bom
- Higiene do pessoal que prepara.
- Alimento saudável eu não fica muito tempo armazenado.
- Alimento "livre" de bactérias (ex. da *Salmonella*)
- Alimento bem temperado.
- Conter carboidratos, proteínas, gorduras balanceadas, vitaminas e minerais.
- Manuseio correto das preparações para não ocorrer contaminação.
- Ter um ambiente adequado

O que vem a ser qualidade na produção de refeições

Plantão 2:

Qualidade é...

- Comida bem preparada.
- Gostar de fazer a refeição (e com amor!).
- Limpeza para o bem da saúde (não ter toxinfecção como no caso da *Salmonella*).
- Alimentos conterem vitaminas, sais minerais, proteínas, gorduras e carboidratos.
- Higiene do pessoal, de utensílios e equipamentos e do ambiente.
- Impedir que a comida se estrague, que a geladeira aumente a temperatura, que as panelas fiquem abertas e evitar a contaminação.

O que vem a ser qualidade na produção de refeições


















Plantão 3:

Qualidade é...

- Higiene no preparo.
- Higiene no preparo.
- Ter cuidado com resíduos de bichos, com larvas e bactérias.
- Fazer um bom serviço.
- Fazer uma comida "gostosa", rica em carboidratos, sais minerais, proteínas e gorduras.
- Ter cuidado com as perigos dos alimentos estragados (como a maionese), com as mãos sujas que podem contaminar e com o tempo de preparo para não haver multiplicação de bactérias.

A partir das observações feitas pelos manipuladores pudemos constatar a superação dos conhecimentos incorporados quando comparados com a Figura 1, que representa as colocações antes da implantação do APPCC e a Figura 2, após o desenvolvimento do trabalho. O conhecimento sobre o que vem a ser qualidade em uma produção de refeições abrangeu as principais abordagens feitas ao se trabalhar com um sistema de garantia de qualidade, como são: qualidade higiênico-sanitária, organoléptica (sabor, cheiro, aparência...), nutricional (presença de nutrientes fundamentais como macro

FIGURA 3
Material didático utilizado para a segunda etapa de sensibilização da APPCC

RECEÇÃO, PRÉ-PREPARO E DISTRIBUIÇÃO DAS CARNES 		DESCONGELAMENTO E COCÇÃO DAS CARNES 	
PONTOS CRÍTICOS <ul style="list-style-type: none"> Temperatura acima de 6°C Contaminação: Manipulação, Equipamentos e Utensílios Multiplicação de microorganismos: volume de armazenagem, abertura constante de câmaras 	COMO CONTROLAR <ul style="list-style-type: none"> Fornecedor: embalagem, uniformização, transporte Matéria-prima: medir temperatura e observar Higienização e Desinfecção Uniforme completo Organização de rotina 	PONTOS CRÍTICOS <ul style="list-style-type: none"> Frango (de molho em água de parada), área de trabalho, equipamentos, utensílios e manipuladores Tempo-temperatura sob controle Início das frituras com muita antecuidância Tempo de espera prolongado (antes e depois da fritura)   	COMO CONTROLAR <ul style="list-style-type: none"> Descongelamento na câmara 48 h antes, 0° sobre e calças Desinfecção da área de trabalho, equipamento e mãos Temperatura de cocção no mínimo, a 74° C / 5 min, com início mais perto da distribuição Carnes na câmara até início da cocção. 
FATIAMENTO E DISTRIBUIÇÃO DAS CARNES 		RECEÇÃO, ARMAZENAMENTO E PRÉ-PREPARO (SALADAS) 	
PONTOS CRÍTICOS <ul style="list-style-type: none"> Contaminação cruzada: tábua de madeira, utensílios e manipulador Sistema ineficaz para manter a temperatura das preparações > 60 °C 	COMO CONTROLAR <ul style="list-style-type: none"> Desinfecção de utensílios antes de manipular carnes cozidas Desprezar utensílios de madeira Mantém a temperatura dos balcões de distribuição acima de 85 °C Ligar com antecuidância e testar 	PONTOS CRÍTICOS <ul style="list-style-type: none"> Características sensoriais indesejáveis em duas preparações Tempo de armazenamento prolongado Possibilidade de contaminação por manipuladores, área de trabalho, equipamentos e utensílios 	COMO CONTROLAR <ul style="list-style-type: none"> Formular especificações aplicáveis ao fornecedor Realizar pré-lavagem dos vegetais, antes do armazenamento Aumentar a frequência do recebimento dos hortifrutigranjeiros Higienizar e sanitizar as mãos, utensílios, equipamentos. Lavar os vegetais em água corrente 
DESINFECÇÃO, PREPARO E COCÇÃO (SALADAS) 		RESFRIAMENTO, REFRIGERAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO (SALADAS) 	
PONTOS CRÍTICOS <ul style="list-style-type: none"> Desinfecção: tempo insuficiente, recipientes inadequados e diluição sem critérios Possibilidade de contaminação, por manipuladores, área de trabalho e equipamentos Tempo de cocção prolongado 	COMO CONTROLAR <ul style="list-style-type: none"> Utilizar recipientes com maior capacidade. Observar tempo de desinfecção, diluição adequada e enxaguar. Higienizar e sanitizar as mãos, utensílios e equipamentos. Estipular e controlar o tempo necessário para cocção dos diferentes vegetais 	PONTOS CRÍTICOS <ul style="list-style-type: none"> Recipientes inadequados para resfriamento Temperatura das geladeiras inadequada Sistema de distribuição inadequado 	COMO CONTROLAR <ul style="list-style-type: none"> Utilizar recipientes adequados para favorecer um rápido resfriamento Utilizar balcões frios na distribuição com temperatura adequada

e micronutrientes), e serviço (“gostar de fazer”...) e a regulamentar, ao colocarem a necessidade de segurança do produto e as condições de trabalho (23).

A este respeito Dushikin (24) relata que “a aprendizagem consiste na manutenção e modificação de capacidade ou habilidade já possuídas pelo aprendiz... É o refinamento de uma habilidade já possuída pela pessoa”.

Além disso, os manipuladores abordam as condições estruturais para a realização das tarefas, as condições de trabalho propriamente ditas, e outros elementos que levam a refletir sobre a falta de perspectiva e de prazer, assim como a inexistência de um projeto coletivo de qualidade de vida no trabalho e necessidade de estabelecer uma forma de trabalho continuada onde todos os manipuladores de alimentos possam perceber que qualidade é construída por cada um dentro do seu processo.

Neste aspecto Demo (10) defende que “qualidade é função da qualidade humana. Qualidade Total significa antes de mais nada, [...], recursos humanos qualitativos, capazes de aprender a aprender e de saber pensar [...]. Qualidade Total é função de gente que a porta, define, forja, na condição de conquista tipicamente humana, como deveria ser o desenvolvimento humano”.

Em um segundo momento, foram trabalhados os pontos críticos detectados, resgatando-se as operações que foram acompanhadas e as principais ações a serem desenvolvidas a curto prazo, com auxílio de material didático, apresentado na Figura 3.

Neste etapa muitas sugestões afloraram, desde o estabelecimento de uma rotina e a responsabilidade de cada um, até os pontos críticos que já estavam restabelecidos.

Machado, aborda tais procedimentos quando relata que a discussão e a construção do conhecimento coletivo é uma tarefa bela e gratificante quando a entendemos como troca de saberes, experiências e viveres. Quando essa relação se transforma em atitudes e críticas equ reproduzem a posse do conhecimento, torna-se uma tarefa desprovida de prazer que inviabiliza qualquer proposta efetiva de construção coletiva do conhecimento (11).

Em visita posterior, os pontos críticos controlados foram a refrigeração, com a compra de freezers para carnes, a cocção (fritura) com a compra de fritadeira, e a distribuição, com a compra de balcão térmico para as preparações quentes e balcão refrigerado para as saladas e sobremesas.

CONCLUSÕES

A implantação do método APPCC requer o desenvolvimento de metodologias próprias para cada local, no sentido de sensibilizar os manipuladores de alimentos sobre o fato de que segurança alimentar é responsabilidade de cada um. As novas abordagens sobre a gestão da qualidade, devem ser trabalhadas dentro da perspectiva de cada realidade e de cada ser humano que faça parte do processo.

O desenvolvimento de uma processo educativo como objetivo maior da proposta apresentou alguns limites, tais como: a falta de disponibilidade de todos os manipuladores de alimentos; diferentes turnos de trabalho, dificultando a comunicação entre os mesmos e conseqüentemente refletindo na participação e na uniformidade da proposta.

A possibilidade de uma continuidade da proposta deve incluir programas de garantia de qualidade na UAN discutidos e organizados conjuntamente com todos os manipuladores de alimentos, estabelecendo rotinas eficientes para assegurar as Boas Práticas de Prestação de Serviços (BPPS). Para isso, sugeriu-se no grupo, a elaboração de um manual, que possa servir como uma guia de qualidade para o local.

A metodologia utilizada na implantação da APPCC, gerou nos indivíduos que participaram do processo (manipuladores de alimentos, nutricionistas, pesquisadores), uma maior auto-estima, revelando a necessidade de uma parceria efetiva e contínua para novos encontros e propostas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos nutricionistas e aos funcionários do local onde realizou-se o trabalho pelos momentos ricos de aprendizagem. Ao FUNCITEC pelo apoio financeiro prestado e as alunas Patrícia de Martini e Patrícia Mormello pela organização do material de pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº 1428 de 26 de novembro de 1993. Brasília.
2. Bauman HE. The HACCP concept and microbiological hazard categories. *Food Technol* 1974;9:30,32,34,74.
3. Peterson AC, Gunnerson RE. Microbiological critical control points in frozen foods. *Food Technol* 1974;28(9):37-44.
4. Bryan FL. Prevention of foodborne diseases in the United States associated with meat and poultry. *J Environ Health* 1979;38(4):198-206.
5. Bryan FL. Evaluaciones por análisis de peligros en puntos críticos de control: guía para identificar peligros y evaluar riesgos relacionados con la preparación y la conservación de alimentos. Ginebra: OMS, 1992;p.85.
6. Silliker JH. Principles and applications of the HACCP approach for the food processing industry. In: Felix CW, editor. *Proceedings of the 1986 Conference for Food Protection*. Chelsea (MI): Lewis, 1986.
7. International Commission on Microbiological Specifications for Food. Microorganisms in foods. 4. Application of the hazard analysis critical control point (HACCP) system to ensure microbiological safety and quality. London: Blackwell Scientific Publications, 1988;p375.
8. Corlett DA. Refrigerated foods and use of hazard analysis and critical control point principles. *Food Technol* 1989;43(2):91-94.
9. Shampton N. Implementing a food safety programme. *Food Manufacture* 1989;17:47-50.

10. Demo P. Pesquisa e construção de conhecimento: metodologia científica no caminho de Habermas. Rio de Janeiro: Temmpo Brasileiro, 1996;p.12-14.
11. Machado NMV. Fome e Educação - em busca da rellação integral entre os ser humano e o ato alimentar, no ensino da nutrição (Dissertação). Florianópolis (SC-Brasil): Univ Federal de Santa Catarina, 1995;p.150.
12. Bryan FL, Seabolt KA, Petersen RW & Roberts LM. Time-temperature observations of food and equipment in airline catering operations. *J Food Prot* 1978;41(2):80-92.
13. Bryan FL & Mckinley TW. Hazard analysis and control of roast beef preparation in foodservice establishments. *J Food Prot* 1979;42(1):4-18.
14. Bryan FL, McNaught K & Blehm K. Time-temperature survey at a restaurant that specializes in barbecued food. *J Food Prot* 1980;43(8):595-600.
15. Bryan FL & Bartleson CA. Mexican-style foodservice operations: Hazard analyses, critical control points and monitoring. *J Food Prot* 1985;48(6):509-524.
16. American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2nd ed. New York: Ed M S peck, 1984;p.914.
17. Food and Drug Adminstration. Bacteriological analytical manual. 7a. ed., 1992;p.529.
18. Bryan FL. Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) concept. *Dairy, Food and Environmental Sanitation* 1990; 10(7):416-418.
19. Soussa AA, Goulart R. Operações de preparações com carne bovina em uma cozinha hospitalar: Análise de Riscos e Pontos Críticos de Controle - HACCP (Dissertação). Florianópolis (SC-Brasil): Univ Federal de Santa Catarina, 1993;p.82.
20. Associação brasileira de refeições coletivas. Manual ABERC de Práticas de Elaboração e Serviço de Refeições para Coletividades. 2a. ed. São Paulo, 1995;p.109.
21. Arruda GA. Manual de boas práticas na produção e distribuição de alimentos. São Paulo: Ponto Crítico, 1996;p.193.
22. Codex alimentarius. Código de procedimentos de higiene para estabelecimentos onde são servidos alimentos pré-cozidos e cozidos em alimentação para coletividade. In: Associação brasileira das empresas de refeições coletivas. Manual ABERC de Práticas de Elaboração e Serviço de Refeições para Coletividade. 2a. ed. São Paulo, 1995;p.109.
23. Les Bernaches, um restaurante ISO 9002. *Alimentação e Nutrição* 1995;67:18-19.
24. Dushikin DA (org.) *Psychology Today-An Introduction*. Del Mar: CRM Books, 1970;p.65.

Recibido: 09-03-1998

Aceptado: 16-11-1998

Formulación y caracterización de un alimento suplementario para deportistas

Valeria Cristina Del Castillo, Margarita Armada, Juan Carlos Gottifredi

Instituto de Investigaciones para la Industria Química, INIQUI-CONICET,
Universidad Nacional de Salta, Argentina

RESUMEN. Se obtuvo un alimento suplementario para deportistas en base a extrusado maíz:soja, albúmina de huevo liofilizada y aislado protéico de soja. El alimento desarrollado como polvo fue evaluado en sus características físico-químicas, funcionales, nutricionales y sensoriales comparándolo con un alimento comercial de referencia. Evaluados ambos alimentos en cuanto a la composición y valor biológico de sus proteínas, se determinó menor contenido de las mismas en el alimento formulado (65%) frente al comercial (90%); pero mayor NPR del primero (4,86) con respecto al segundo (4,03). Por otra parte el RNPR del alimento formulado (mezcla base) presentó un valor superior al comercial (PROT 90), (83,76 y 69,48 respectivamente), usando la caseína como patrón. Otro de los análisis realizados fue la digestibilidad para la que se obtuvieron los siguientes valores (93,65 y 95,7) para mezcla base y PROT 90. Por otra parte, el producto formulado no presentó actividad amilásica, antitriptica o hemaglutinante. En cuanto a las características físico-químicas, se aprecia que el contenido de Lisina disponible es mayor en el producto formulado (15g/16g nitrógeno) con respecto al comercial (7,80g/16g de nitrógeno); además presenta bajo contenido de peróxidos (1,37meq/kg de muestra) y el ensayo de micotoxinas para la materia prima, resultó negativo. Además se determinó color, WAI, WSI y a_w en ambos productos. Con respecto al comportamiento de flujo de las suspensiones en agua, leche entera y jugo de naranja, todas exhiben comportamiento pseudoplástico (formulado y comercial). Determinado el tiempo de sedimentación, se observó que en la primera media hora los productos son estables y no presentan separación de fases. Desde el punto de vista sensorial, el alimento suplementario formulado presenta un 78,5% de aceptabilidad y un 100% de preferencia. **Palabras clave:** Extrusado maíz:soja, alimento suplementario, deportista.

SUMMARY. A supplementary sportmen food formulation and characterization. A supplementary sportman food, based on corn:soy extruded blend, freeze-dried egg albumen and protein soy isolate, was developed. The resulting powder was subject to physico-chemical, functional, nutritional and sensorial test and then compared with a commercial food that was used as reference. Chemical and biological analysis of both foods revealed lower protein content in the formulated food (65%) than the commercial product (90%) although NPR values are larger in product showed (4,86) than than the observed in the second (4,03). On the other hand RNPR values of the developed product also presented higher values than the commercial (Prot 90) (83,76 and 69,48 respectively). Casein was used as standard. Digestibility results were similar (93,65 and 95,7 for formulated and commercial products respectively). The absence of ureasic, antitryptic or hemagglutinating activity of the formulated product are also reported. Physico-chemical analysis shown that available lysine values are larger for the formulated product (15 g/16g nitrogen) than those for the commercial food (7,80). Peroxide content was always very small (1,37 meq/kg) and in all cases micotoxine assay, for raw materials, was always negative. A comparison of other properties, such as colour, WAI, WSI and a_w for both products, is also presented. Flow behavior of water, milk and orange juice suspensions showed pseudoplastic behavior on both products. Sedimentation experiments minutes revealed stability of suspensions without phase separation during the first 30 minutes.

Sensorial analysis have shown that developed product received 78,5% acceptability and 100% preference.

Key words: Extruded soy:corn, supplementary food, sportmen.

INTRODUCCION

Respondiendo a la demanda cada vez más reciente de productos ricos en proteínas y de alta densidad calórica que contribuyan al desarrollo de la masa muscular, fuerza y potencia, necesarias para una adecuada performance (1), es que se decidió trabajar sobre la base de extrusado maíz:soja en la obtención de un alimento para deportistas.

Existen en el mercado actualmente varias líneas de pro-

ductos para este grupo de individuos, elaborados a partir de aminoácidos (AA) y otros componentes sintéticos, con precios elevados. Luego, un alimento con las mismas propiedades pero elaborado con ingredientes naturales y de menor costo puede tener gran aceptabilidad por parte de atletas de distintas disciplinas.

La mezcla de soja con diversos cereales como arroz, maíz o avena, permite a los aminoácidos deficientes en uno u otro vegetal, complementarse mutuamente y así lograr un óptimo

aprovechamiento por el organismo (2).

Es objeto de este trabajo, es desarrollar y evaluar un alimento suplementario para deportistas, de alto contenido de proteínas, utilizando extrusado de maíz:soja.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron como materias primas para la elaboración de la mezcla base, extrusado de maíz:soja (70:30), albúmina de huevo y aislado de soja en base a óptimas complementaciones de los aminoácidos utilizando un programa computacional especialmente desarrollado para obtener soluciones óptimas en el cálculo de cómputos químicos para los distintos aminoácidos de las mezclas (3), utilizándose como patrones de referencia los de FAO/WHO/UNU (4).

En la Tabla 1 puede observarse la complementación obtenida para la mezcla base, esta contiene aminoácidos esenciales en cantidades y proporciones óptimas según la referencia patrón de proteínas.

TABLA 1
Contenido de aminoácidos¹ y cómputo químico en la mezcla base

Aminoácidos	Mezcla base	AA Referencia	Cómputo químico
Isoleucina	311,14	250	124,66
Leucina	524,14	440	119,12
Lisina	400,56	340	117,81
Azufrados	318,39	220	144,72
Aromáticos	579,47	380	152,49
Treonina	277,52	250	111,01
Triptófano	87,48	60	145,79
Valina	303,64	310	97,95
Histidina	155,33	119	130,53

1. mg de AA según FAO/OMS/UNU (4)

Para la formulación de mezcla base se utilizaron como ingredientes principales, mezclas de maíz:soja 70:30 precocidas por extrusión (obtenida en planta piloto de alimentos de la Facultad de Ingeniería UNSa), aislado protéico de soja y albúmina de huevo liofilizada (obtenidos en el Laboratorio de Alimentos, Facultad de Ingeniería UNA), agregado de aromatizante de vainilla en polvo (11058 A. Haarmann & Reimer S.A.) y endulzante dietético en polvo (Laboratorio Gordon S.A.C.I.F.I.A.). Los porcentajes de los ingredientes dentro de la preparación se detallan en la Tabla 2.

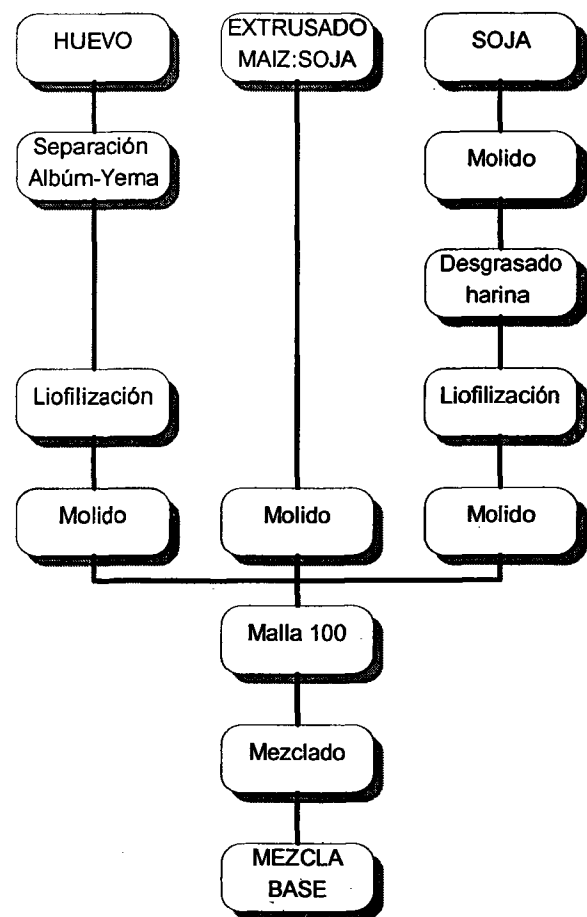
En la Figura 1 puede observarse el diagrama de obtención de la mezcla base.

El producto comercial usado como referencia fue PROT 90 (Garden House Ltda. Santiago Chile) a base de caseinatos y aislados protéicos.

TABLA 2
Ingredientes y porcentajes. Mezcla base

Ingredientes	Porcentajes
Extrusado	25
Aislado proteico de soja	11
Albúmina	64
Aromatizante	0.1
Edulcorante	0.1

FIGURA 1
Diagrama de obtención de la mezcla base



Tanto el producto formulado como el comercial se suspendieron en líquido en proporciones (1:10) y (1:12) p/p respectivamente a fin de obtener bebibles isotrópicos.

Al alimento y al producto comercial se le realizaron los siguientes análisis: Análisis químico proximal e índice de peróxidos según técnicas oficiales de la A.O.A.C. (5); Color (por reflexión) con colorímetro Hunter Lab Model D-25-2 en escala L (calibrado 100%=93,1); Índice de absorción de agua (WAI) e Índice de solubilidad en agua (WSI) según Anderson

(6); Índice de dispersibilidad de proteína (PDI) según AACC (7); Viscosidad con viscosímetro Brookfield modelo LVT; Tiempo de sedimentación (método desarrollado en laboratorio); Actividad de agua (a_w) (8); Isotermas de sorción según Palipine (9); Actividad antitriptica por el método de Kakade y col (10); Hemaglutininas por el método de Jaffé (11) se usó sangre humana grupo O factor RH+, sangre de cobayo y de conejo; Lisina disponible (12); Micotoxinas por el método de AOCs (13); Calidad nutricional por el método de NPR y RNPR, Sarwar (14); Disgestibilidad según Pellet (15). La evaluación sensorial se realizó en el Instituto de Evaluaciones Sensoriales, dependiente de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Salta. Participaron 30 jueces no entrenados (jóvenes de ambos sexos, pertenecientes a los equipos de handball y jockey de la Universidad). Ambos productos fueron reconstituídos en agua a iguales proporciones a las que se realizaron las determinaciones y servidas a temperatura ambiente (25°C). Se empleó una escala edónica de 9 puntos y de los resultados obtenidos se calculó el porcentaje de aceptación y preferencia de cada producto (16).

Por último los resultados se analizaron estadísticamente por T de Student para diferencia de medias (17).

RESULTADOS Y DISCUSION

La composición de ambos productos se presenta en la Tabla 3.

TABLA 3
Composición de mezcla base y PROT 90

Macrocom.	Mezcla base*	PROT 90
Hid. de carbono	15,00	-
Proteínas	65,00	90,00
Grasas	1,93	-
Humedad	9,30	5,46
Cenizas	4,46	3,54

* g/100g (base seca)

El alimento formulado (mezcla base) presenta menor contenido de proteínas pero mayor contenido de humedad y cenizas que el alimento comercial (PROT 90). Por otra parte la mezcla base contiene en su composición hidratos de carbono y grasas aportados por el extrusado maíz:soja.

Se determinó color y propiedades relacionadas a la hidratación (PDI, WAI, WSI) en la mezcla base y producto comercial. Los resultados pueden observarse en la Tabla 4.

Sensorialmente ambos productos presentaron un color amarillo tenue, no encontrándose diferencias significativas en las lecturas.

Como puede observarse el WAI de la mezcla base resulta menor que el hallado para el producto comercial. A través de análisis estadístico no se encontraron diferencias significati-

vas entre los WAI de los dos productos de este estudio.

TABLA 4
Características físicas de la mezcla base y PROT 90

Determinaciones	Muestras	
	Mezcla base	PROT 90
Color	89,60	89,00
PDI	78,30±0,25 ^a	76,32±0,20 ^a
WAI	6,27±0,39 ^b	7,66±0,43 ^b
WSI	40,41±1,18 ^c	22,18±1,94 ^d

X ± D.S.

$\alpha = 0.05$

Letras distintas indican diferencias significativas

El WSI del PROT 90 fue menor al del producto formulado. Mediante análisis estadístico hay diferencias significativas entre los WSI de las muestras estudiadas.

Se calculó también el PDI en la mezcla base y en el producto comercial. Los resultados pueden observarse en la Tabla 4. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre los valores de PDI de ambas muestras.

La medición de la viscosidad es muy importante sobre todo en los productos que se supone deben tener una cierta consistencia en relación a su aspecto o paladar (19). Se determinaron las viscosidades del bebible formulado y del comercial reconstituídos en distintos medios: leche entera fluida, agua corriente y jugo natural de naranjas. Las mediciones se realizaron con rotor LV 1 a temperatura ambiente (25°C).

Como puede observarse en la Figura 2, la viscosidad disminuye cuando aumenta la velocidad de deformación, por lo que puede caracterizarse al bebible como un fluido de comportamiento pseudoplástico. Por otra parte, las características reológicas fueron similares para el bebible reconstituído con agua y con leche. Es importante destacar que comportamientos pseudoplásticos a velocidades de deformación inferiores a 30 rpm, permiten establecer que los productos serán sensorialmente aceptables.

Se evaluó también el comportamiento reológico del bebible comercial disuelto en agua y en leche. Los perfiles de viscosidad pueden observarse en las Figuras 2 y 3 donde se nota comportamiento pseudoplástico para el bebible comercial en agua similar al del bebible formulado en jugo.

Con el objeto de probar la estabilidad del bebible en el tiempo que media entre su reconstitución hasta su consumo, se midió el tiempo de sedimentación. Para ello se colocó la muestra con agua en una probeta de 100 ml y cada 30 minutos se midió el volumen del sobrenadante en la separación de fase. El perfil de tiempo de sedimentación se muestra en la Figura 4, donde puede observarse que el producto formulado es estable en la primera media hora, lo que es muy positivo desde el punto de vista del consumidor ya que éste podrá preparar el

bebible y consumirlo dentro de un espacio de tiempo en el cual el producto se mantiene en suspensión. En cuanto al producto comercial, si bien es más estable que el formulado, a diferencia de éste, en la desestabilización final no hay una clara separación de fases, sino la formación de flóculos que tornan desagradable el bebible.

FIGURA 2
Viscosidad Brookfield. Bebible formulado con agua y leche (F) y bebible comercial con leche (C). Suspensión polvo:líquido (1:10) (F) y (1:12) (C)

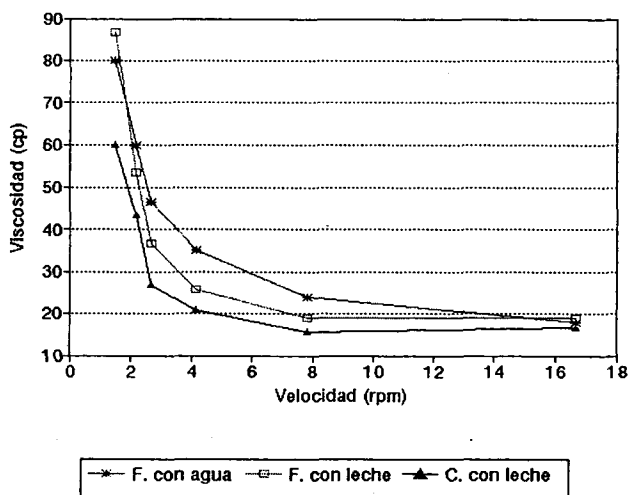


FIGURA 3
Viscosidad Brookfield. Bebible comercial con agua y bebible formulado con jugo. Suspensión (1:12) y (1:10) respectivamente

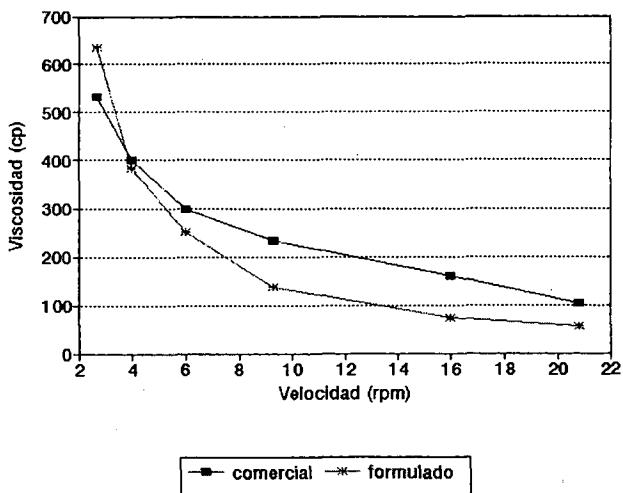
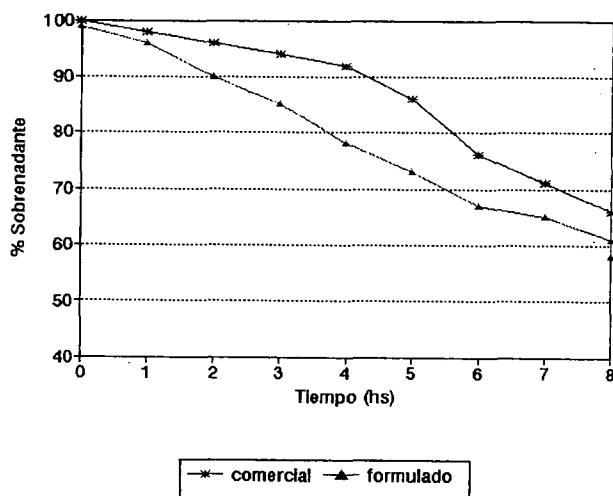


FIGURA 4
Perfil de sedimentación. Mezcla base y PROT 90 en suspensión (1:10) y (1:12)



Se determinó a_w del producto para predecir la estabilidad del mismo. Tanto la mezcla base como el PROT 90 poseen una a_w de 0.30, valor que se considera muy adecuado para la estabilidad del producto frente a alteraciones de lípidos, pardeamientos enzimáticos o desarrollo de microorganismos ICMSF (18).

En cuanto a comportamientos de sorción, puede observarse en la Figura 5 y Figura 6 que en ambos productos la fluctuación de la temperatura de 25°C a 35°C, no influye en el comportamiento de sorción, en tanto que la desviación de la Isoterma a 50°C provoca la variación de comportamiento para ambas muestras, recién a a_w cercanas a 0.6.

FIGURA 5
Isoterma de sorción. Mezcla base

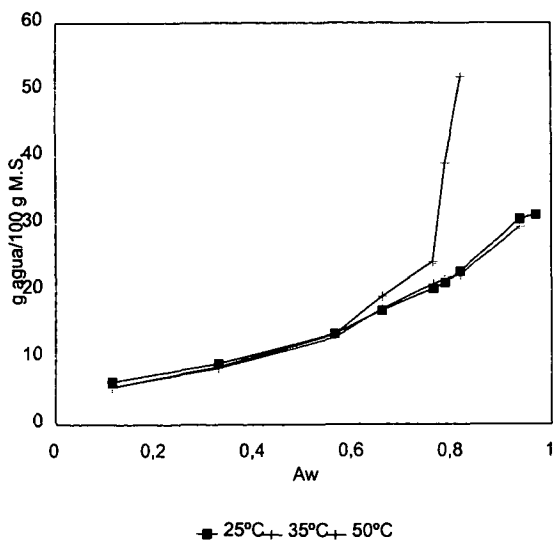
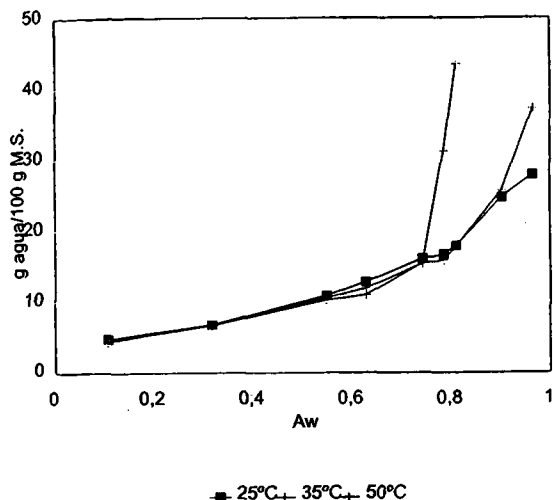


FIGURA 6
Isoterma de sorción. PROT 90



Como era de esperar, el producto formulado (para iguales contenidos de humedad) presenta menor a_w lo que se atribuiría a la presencia de almidones modificados aportados por el extrusado maíz:soja en el producto formulado que actuarían como humectantes, al contrario del polvo comercial de naturaleza fundamentalmente proteica.

El ensayo de inhibidores de tripsina se realizó en mezcla base y en soja cruda desgrasas en frío la que presentó un valor de 56 unidades de tripsina inhibidas por miligramos de muestra (UTI/mg). El resultado para el producto formulado (85 UTI/mg) puede ser debido a la presencia de ovoinhibidores en la albúmina. No se ensayó en el producto comercial puesto que este último está formulado a base de proteínas lácteas.

Otro de los factores tóxicos evaluados fueron las hemaglutininas. El resultado fue negativo lo que confirma el efecto benéfico de los tratamientos térmicos en la calidad nutricional de las leguminosas (20).

Con respecto a la actividad ureásica esta se determinó en la mezcla base y en el producto comercial (Tabla 5). Los resultados indican que el primero retiene actividad ureásica inferior al valor máximo permitido por el Código Alimentario Argentino y que ha recibido suficiente tratamiento térmico para inactivar factores antinutritivos. Mediante análisis estadístico hay diferencias significativas entre las actividades ureásicas de las muestras estudiadas.

En cuanto a las determinaciones de lisina disponible, índice de peróxidos y micotoxinas, los resultados pueden observarse en la Tabla 6.

TABLA 5
Factores antinutricionales de la mezcla base y PROT 90

Determinaciones	Muestras	
	Mezcla base	PROT 90
Inh. de tripsina UTI/mg	85	-
Hemaglutininas	(-)	-
Act. ureásica ΔpH	0,19±0,07 ^a	0,64±0,02 ^b

Letras distintas indican diferencias significativas

X±D.S.

α=0,05

TABLA 6

Determinaciones	Formulado	Comercial
Lisina disponible (g Lis/16g N)	15	7,80
Micotoxinas	(-)	-
Índice de peróxidos (meq,per/kgM)	1,37	-

La evaluación de la lisina disponible se realizó en la mezcla base y en el producto comercial. El Código Alimentario Argentino establece como mínimo un contenido de 5g lisina/16g de nitrógeno (21). Como puede observarse, el contenido de lisina disponible en el alimento formulado prácticamente duplica el contenido del producto comercial.

Con respecto al índice de peróxidos, esta variable se midió en la mezcla base pero no en el PROT 90 ya que este no posee grasas en su composición. El valor encontrado es menor al del obtenido para el extrusado maíz-soja que fue de 1,37 miliequivalentes (meq/kg de muestra).

El ensayo ELISA para determinar contenido de micotoxinas se realizó sobre el extrusado maíz-soja 70:30 (materia prima de la mezcla base). Este ensayo da un resultado cualitativo a través de una reacción coloreada que en este caso resultó negativa.

Además se determinaron NPR, RNPR y digestibilidad a las dos muestras objeto de este estudio. Como puede observarse en la Tabla 7, el NPR del producto comercial resultó menor al del producto formulado, y ambos son menores que el valor de la caseína. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre el NPR de la muestra y la caseína, pero sí entre esta y el PROT 90. Tomando como referencia el NPR de la caseína se calcularon los RNPR de las muestras, siendo el valor del producto comercial muy inferior al del formulado.

Por otra parte se puede afirmar que ambas muestras poseen una buena digestibilidad respecto de la proteína patrón. Mediante análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre las muestras y la caseína.

TABLA 7
Evaluación biológica en mezcla base y PROT 90

Determinaciones	Mezcla base	PROT 90	Caseína
NPR	4,86±0,31 ^a	4,03±0,15 ^b	5,80±0,40 ^{ac}
RNPR	83,76	69,48	-
Digestibilidad	93,65±1,3 ^a	95,07±1,1 ^a	96,62±0,4 ^a

Letras distintas indican diferencias significativas
X ± D.S.
α=0,05

Los resultados de las evaluaciones sensoriales pueden observarse en la Tabla 8.

TABLA 8
Evaluaciones sensoriales. Productos formulado y comercial en suspensión polvo:líquido (1:10) y (1:12)

Muestra	Aceptable	Independ.	Disgusta	Total
Formulado	78,5%	14,3%	7,2%	100
Comercial	7,2%	10,7%	82,1%	100

Con respecto al sabor, olor y color, para el producto formulado hay un mayor porcentaje que expresa que les gusta el sabor aunque lo notan poco dulce y sugieren el agregado de más azúcar. Las opiniones respecto al olor varían entre flan, bizcochuelo o torta, quizá esto sea debido al color. Para el producto comercial, los deportistas en general notan un sabor poco agradable, color poco atractivo y olor a huevo. El test de preferencia arroja el 100% de preferencia para el producto formulado.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Lic. M.I. Margalef, por la colaboración en la evaluación sensorial, al Dr. E. Campo, por su ayuda en el ensayo de hemaglutininas, al CONICET, a la Universidad Nacional de Salta; y a todas aquellas personas que de una u otra manera han colaborado en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. OPS-ILSI. Conocimientos actuales sobre nutrición. Publicación Científica N° 532, 6° ed. Washington D.C. (EUA) 1991;394-401.
2. Crisafulli EB, Segal MG, López MC y Lucchini D. Procesamiento de mezclas de cereales y derivados de soja por el método de cocción y extrusión. *La Alim Lat* 1988;170:41.
3. Lescano G, MaxAmi. Programa computacional para el cálculo de mezclas óptimas de proteínas. Programa utilizado en el curso de Post-grado de Capacitación, "Formulación de mezclas proteicas óptimas de alimentos". Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Salta. Septiembre 1995.

4. Necesidades de proteínas y energía. Informe de una reunión consultiva FAO/OMS/UNU de expertos. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. 1985. (serie de Informes Técnicos de la OMS N° 724).
5. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 16° ed. Washington D.C. 1995.
6. Anderson RA. Water absorption and solubility, and amilographs characteristics of roll-cooked small grain products. *Cereal Chem* 1982;59(4):10-56.
7. American Oil Chemists Society. Official and tentative methods of the AACC. (2nd. ed) 1964.
8. Mc Cune TD, Lang KW & Steinberg MP. Water activity determination with the proximity equilibration cell. *J Food Sci* 1981;46:1978-1979.
9. Palipine KB & Driscoll RH. Moisture sorption characteristic of in shell macadamia nuts. *J Food Eng* 1992;18.
10. Bouzas JO & Bertoni MH. Evaluación de la actividad antitriptica en productos de soja. Ajuste de método con sustrato sintético. *Anales Asoc Quím Argentina* 1980;68:81-93.
11. Jaffé WG & Brucher O. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles (*Phaseolus vulgaris*) *Arch Latinoam Nutr* 1972;22:267-281.
12. Goodno CC, Swaisgood HE and Catignani GL. A fluorometric assay for available lysine in protein. *Anal Biochem* 1980;115:203-211.
13. Método AACC 22-90. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, Minesotta, USA. 1982.
14. Sarwar G & Mc Laughlan JM. Relative net protein ratio. Method for evaluating protein quality. *Nutritional Report International* 1981;6(23):1107-1116.
15. Pellet PL & Young VR. Nutritional evaluation of protein foods. *Univ Nac Unidas WHTR-3/UNUP-129*. Tokio, Japón. 1980.
16. American for testing and materials (ASTM). Committee E-18. Manual on sensory testing methods. Special technical publication 434. Philadelphia. 1968;p.5 y 32.
17. Norman GR y Streiner DL. Bioestadística. Mosby/Doyma Libros. Madrid. España. 1996;p. 58-62.
18. ICMSF. Ecología microbiana de los alimentos. Vol. 1. Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza. España 1980;p.74-96.
19. Belitz HD & Grosch W. Química de los alimentos. 2 ed. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 1988.
20. Lowgren M & Liener I. The effect of slow cooking on the trypsin inhibitor and hemagglutinating activities and in vitro digestibility of brown beans (*Phaseolus vulgaris*) var. stella and Kidner beans (*Phaseolus vulgaris*) var. montcalm. *Qual Plant Foods Human Nutr* 1986;36:139-146.
21. De la Canal. Código Alimentario Argentino. Edt. De la Canal y Asociados S.R.L. Art. 656 y 866. 1982.

Recibido: 23-04-1997

Aceptado: 16-11-1998

Incidencia de *Plesiomonas shigelloides* en tetrahíbridos de Tilapia (*Oreochromis* sp.)

Clever Mendoza H., Pilar Hernández S.

Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela, Caracas

RESUMEN. *Plesiomonas shigelloides* es un miembro de la familia *Vibrionaceae*, es un bacilo Gram negativo asociado a gran número de brotes de gastroenteritis, especialmente en países tropicales y subtropicales. De igual manera se ha involucrado en casos de septicemia, meningitis y colecistitis. El microorganismo se encuentra normalmente en aguas dulces, peces y aves. El presente trabajo se hizo con el propósito de estudiar la incidencia de *Plesiomonas shigelloides* en tetrahíbridos de *Oreochromis* sp. (Tilapia rosada) cultivados en una laguna artificial en la zona central de Venezuela. Para el aislamiento del microorganismo se utilizaron en forma simultánea las técnicas de siembra directa y enriquecimiento luego del homogeneizado de las muestras. En las muestras de Tilapia analizadas se determinó una alta incidencia (73%) de *P. shigelloides* siendo mayor en el tracto intestinal (60%), seguido de la piel (36,67%) y por último las branquias (26,67%), sin existir correlación alguna entre ellos. En el agua de la laguna de cultivo el microorganismo se aisló con una frecuencia de 41,67%. La siembra directa presentó los mayores valores de aislamiento (60%) en los diversos tejidos de Tilapia así como en el agua de cultivo (41,60%). No se observó diferencias significativas en la efectividad de los agares selectivos utilizados para el aislamiento de *P. shigelloides* (Agar *Plesiomonas* y Agar Inositol Verde Brillante Sales Biliares). Se observó una correlación positiva entre la incidencia del microorganismo y los niveles de pluviosidad. Se apreció una alta incidencia de *E. coli* en las muestras de los tejidos de Tilapia y el agua de la laguna de cultivo. No se observó correlación entre la incidencia de *P. shigelloides* y la de *E. coli*. Debido a la alta incidencia de *P. shigelloides* encontrada en este estudio es importante asegurar una adecuada evisceración, lavado, almacenamiento a temperaturas inferiores a 8°C y una apropiada cocción del producto con el fin de disminuir los riesgos al consumidor.

Palabras clave: *Plesiomonas shigelloides*, Tilapia, *Oreochromis* sp.

INTRODUCCION

Plesiomonas shigelloides es un bacilo Gram negativo recto, delgado y largo o filamentoso, de extremos redondeados, con dimensiones de 0,8 - 1 por 3,0 µm; crece como células aisladas o en pares, móviles debido a la presencia de flagelos lofotricos (1), anaerobio facultativo y posee un crecimiento óptimo a 30°C. No crece en caldo nutritivo que contenga 7,5% de NaCl. Muchas cepas son sensibles a los agentes vibriostáticos como el 2,4-diamino-6,7 diisopropil pteridina (0/129) (2). Es

SUMMARY. Incidence of *Plesiomonas shigelloides* in Tilapia tetrahíbridos (*Oreochromis* sp.). *Plesiomonas shigelloides*, a member of the family *Vibrionaceae*, is a Gram negative rod associated with several gastroenteritis outbreaks, especially in tropical and subtropical countries. In same way, it has been related to some septicemia, meningitis and cholecistitis cases. The microorganism is normally found in water, fish and birds. The aim of this work was to study the incidence of *Plesiomonas shigelloides* in tetrahíbridos of *Oreochromis* sp. (Pink Tilapia) located at the central region of Venezuela. Once the samples were homogenized, the techniques of enrichment and direct streaking were used simultaneously for the isolation of the microorganism. A high incidence of *P. shigelloides* was determined (73%), being higher in the intestinal tract (60%), followed by the skin (36.7%) and the gills (26.67%), without any correlation among them. In the fish pond, the microorganism isolation frequency was 41.67%. The direct streaking technique presented the highest isolation values in the different Tilapia tissues (60%) and in the water as well (41.60%). No significant differences were observed on the effectivity of the selective agars used for the isolation of *P. shigelloides* (*Plesiomonas* Agar and Inositol-Brilliant Green-Bile Salts Agar). A positive correlation was observed between the microorganism incidence and the pluviosity levels. A high incidence of *E. coli* was observed in the samples of Tilapia tissues and the water pond. No correlation was observed between incidence of *P. shigelloides* and *E. coli*. Due to the high prevalence of *P. shigelloides* found in the present study, it is important to assure a proper evisceration, washing and storage at temperatures lower than 8°C, and a proper product cooking to diminish the customer's risk.

Key words: *Plesiomonas shigelloides*, Tilapia, *Oreochromis* sp.

un patógeno emergente, oportunista que está distribuido por todo el mundo y al cual se le han atribuido infecciones clínicamente importantes en infantes, ancianos y pacientes inmunocomprometidos (1-3). Existen muchas evidencias que señalan el papel de *P. shigelloides* como patógeno entérico y su aislamiento en heces de personas con diarrea (1). Gran número de epidemias de diarrea se le han atribuido a *P. shigelloides* habiéndose aislado en todo el mundo principalmente en África, India y Japón (4). Diversas investigaciones que versan sobre la etiología de las enfermedades entéricas

producidas por *P. shigelloides* han determinado que su transmisión se realiza a través del agua, sin embargo, su incidencia en alimentos ha sugerido que puede representar un nuevo patógeno causante de enfermedades transmitidas por los mismos. Estudios de ecología y epidemiología de *P. shigelloides* han demostrado que la incidencia de este microorganismo en animales acuáticos y en las heces de pacientes con diarrea muestran un repunte en la estación lluviosa para las zonas tropicales y durante el verano en los climas templados. Esto se confirmó con un estudio sistemático de la flora intestinal de peces en varias partes del mundo. Igualmente se ha confirmado la influencia de la variación estacional sobre el número de organismos detectados en muestras de agua superficiales en análisis realizados en Japón y Europa (4). *Plesiomonas shigelloides* habita normalmente en el ambiente, en aguas dulces, peces y aves. La bacteria se ha encontrado con frecuencia en las aguas dulces de superficie (5-7). Se ha determinado una alta incidencia de *P. shigelloides* en Tilapia y en otros pescados de río (8-12).

Debido al auge del cultivo de la Tilapia como opción para obtener una fuente proteica accesible a grandes niveles de la población, se llevó a cabo el presente estudio con el objeto de conocer el papel de este alimento como vehículo de transmisión del microorganismo, investigar su presencia en el agua de la laguna de cultivo, estudiar el efecto estacional en su prevalencia y determinar la eficiencia de dos técnicas de aislamiento y el efecto de dos medios selectivos a la vez que correlacionar su presencia con la de *Escherichia coli*.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron 30 muestras de pescado y 12 de agua provenientes de un cultivar de Tilapia en lagunas artificiales ubicadas en la Región Central del país, las cuales fueron tomadas al azar (utilizando la tabla de números aleatorios) mediante la pesca con chinchorro y conforme a las recomendaciones del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (13) respectivamente. Fueron llevadas de inmediato al laboratorio, en una cava con hielo, donde se les analizó posteriormente. El estudio abarcó las estaciones de lluvia y sequía, realizando un total de seis lotes, tres en la época de lluvia y tres en la época de sequía. Cada lote estaba compuesto por cinco muestras de pescados (225g/pescado) y dos de agua (100mL/muestra). Los análisis microbiológicos (incidencia de *Plesiomonas shigelloides* y *Escherichia coli*) se realizaron en la piel, branquias e intestinos así como al agua de la laguna de cultivo.

Otros análisis realizados al agua de cultivo de los peces fueron la medición de pH y de la temperatura al momento de la captura de los peces. Para ello se utilizó una cinta de medición de pH para el campo (pHydrion Paper, Micro Essential Laboratory Inc. Brooklyn, New York) verificando luego en el laboratorio en un pHmetro (Marca Orion, Modelo 420A), y un termómetro de mercurio en la medición de temperatura.

Aislamiento de *P. shigelloides*

Se utilizaron las técnicas de: enjuague para analizar la piel de los pescados enteros donde cada pez fue enjuagado con 225mL de Agua Peptonada (Peptona al 0,1%. Difco, Detroit MI) usando movimientos de agitación y masaje durante 2 minutos y empleando las mismas bolsas donde fueron transportados al laboratorio y técnica de homogeneizado para el análisis de las branquias (10g de promedio) e intestinos (25g de promedio) en el Stomacher LAB-BLENDER 400 (Suffolk, Inglaterra) durante 2 minutos usando 90mL y 225mL de Agua Peptonada (Peptona al 0,1%. Difco Detroit MI) respectivamente. El homogeneizado fue sembrado directamente, mediante un asa de 3mm de diámetro, en la superficie de las placas de agar Inositol-Verde Brillante-Sales Biliares (IBB) y de agar *Plesiomonas* (PL)(14). A su vez, 10 mL del homogeneizado fueron enriquecidos en agua peptonada alcalina (pH 8,6) durante 24 horas a 37°C, después de lo cual se sembró con el asa en la superficie de los medios selectivos mencionados. Las muestras de agua fueron sembradas directamente, mediante un asa de 3mm de diámetro, en la superficie de los agares PL e IBB y paralelamente 100mL fueron concentrados a través una membrana Millipore de 0,45µm (Millipore Corp, Bedford, MA, USA) (15) que luego fue colocada en un medio de enriquecimiento (agua peptonada alcalina, pH 8,6) a 37°C por 24 horas, al cabo de las cuales se aisló con el asa en la superficie de los dos agares selectivos. Las placas de los agares IBB y PL fueron incubadas a 37°C por 24 horas. Las colonias sospechosas (colonias de 1-2,5mm de diámetro, rosadas pálidas en Agar IBB y colonias de 1-2mm de diámetro, rosadas y rodeadas de una zona rosada en Agar PL) se transplantaron a tubos de Agar Nutritivo (Difco, Detroit, MI) que fueron incubados a 37°C durante 24 horas. A partir del cultivo en Agar Nutritivo se realizó una coloración de Gram para observar las características morfológicas de la bacteria. Se procedió a realizar las pruebas bioquímicas a aquellos cultivos que presentaron bacterias en forma de bacilos largos, delgados y de extremos redondeados Gram negativos, con dimensiones de 0,8-1 por 3,0 µm, de crecimiento aislado o en pares. Las pruebas bioquímicas realizadas fueron oxidasa, la capacidad de fermentar azúcares en medio agar tres azúcares hierro (TSI) y la fermentación del inositol e hidrólisis de la gelatina en agar inositol gelatina. En el agar TSI *P. shigelloides* produce una reacción ácida/alcalina sin gas ni sulfuro de hidrógeno y en el agar gelatina torna el medio amarillo y no hidroliza la gelatina, así mismo, el microorganismo muestra reacción de oxidasa positiva (16).

Aislamiento de *E. coli*

Se analizó a partir del homogeneizado (técnica de siembra directa) y del caldo de enriquecimiento (técnica de enriquecimiento) sembrando con un asa (3mm) en la superficie de placas de Agar Directo de *E. coli* (ECD) Fluorocult (E. Merck, Darmstadt, Alemania) (17) que fueron incubadas a 37°C por 24 horas. El crecimiento bacteriano en las placas del

medio mencionado se apreció con el uso de una lámpara UV, tomando como colonias sospechosas aquellas que presentaron fluorescencia (azul claro). Para la confirmación del diagnóstico se colocó una gota del reactivo de KOVAC sobre las colonias. Las colonias confirmadas como *E. coli* presentaron formación de una coloración roja a los 2-10 segundos, evidenciando la reacción de indol positiva.

Cultivos de referencia

Conforme sugieren Koburger y Wei (14) se llevaron a cabo controles positivos y negativos en forma paralela y se utilizaron como cultivos de referencia una cepa de *Plesiomonas shigelloides* CVCM 243 suministrada por el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela) y una cepa de *E. coli* del cepario de la Cátedra de Microbiología de Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.

Análisis estadístico

Se utilizaron las pruebas de Análisis de Varianza, Rangos Múltiples de Duncan y Rangos de Kruskal-Wallis y de Correlación Lineal Simple con la finalidad de determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la presencia de *P. shigelloides* y *E. coli* a nivel superficial (piel y branquias) con el contenido intestinal y ésta con la presencia de los microorganismos en el agua y de correlacionar la incidencia del microorganismo con la de *E. coli*. Igualmente se estudiaron las posibles diferencias existentes en la tasa de recuperación de las dos técnicas de siembra empleadas y en los dos agares selectivos, así como establecer la influencia de efecto estacional en la incidencia del microorganismo.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las muestras de Tilapia analizadas se encontró una alta incidencia (73%) de *P. shigelloides* siendo mayor en el tracto intestinal (60%), seguido de la piel (36,67%) y por último las branquias (26,67%), sin existir correlación alguna entre ellos. En el agua de la laguna de cultivo el microorganismo se aisló con una frecuencia de 41,67%, encontrándose que los valores de pH y de temperatura promedio fueron de 7.05 y 28°C respectivamente. En la Figura 1 se muestra la influencia de las técnicas de aislamiento de *P. shigelloides* en las muestras analizadas, el microorganismo no pudo ser recuperado en la mayoría de los casos mediante la técnica de enriquecimiento, lo cual señala que este procedimiento no es el más indicado para su aislamiento en muestras de peces de agua dulce debido a su baja competitividad en presencia de la flora acompañante. En la Figura 2 se observa la eficiencia de los medios selectivos utilizados en el aislamiento del microorganismo, donde no se observó diferencias significativas en los resultados obtenidos, sin embargo se apreció mayor especificidad en el agar *Plesiomonas* que en el agar IBB, ya que en éste último se

desarrollaron un elevado número de colonias falso positivas. El crecimiento de *P. shigelloides*, se ve favorecido en el agar IBB ya que este posee inositol como fuente de carbono, el cual es poco usado por la flora competitiva (16,18).

FIGURA 1
Influencia de las técnicas de aislamiento de *P. shigelloides* (Siembra directa vs enriquecimiento)

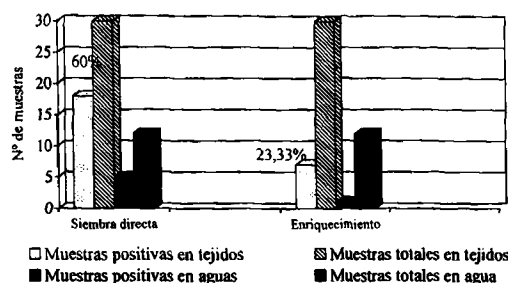
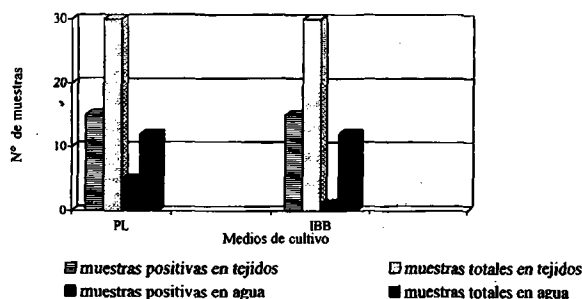
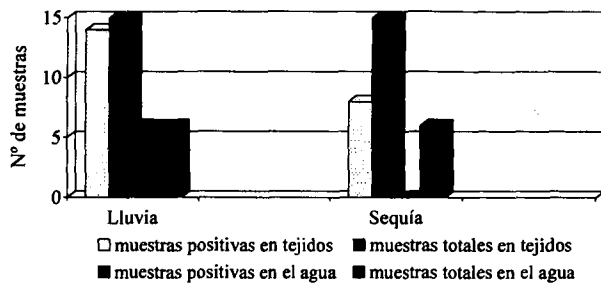


FIGURA 2
Eficiencia de los medios selectivos: Agar *Plesiomonas* y Agar Inositol . Verde brillante sales biliares en el aislamiento de *P. shigelloides*



Son numerosos los estudios que han demostrado la presencia de un efecto estacional en la frecuencia de aislamiento de *P. shigelloides* así como un aumento de los casos de diarrea durante los meses más cálidos (5,9,20). En la Figura 3 se aprecia el efecto estacional sobre la incidencia de *P. shigelloides* en Tilapia y el agua de la laguna de cultivo, con un repunte en la época que presenta las temperaturas más altas. Nedoluha y Westhoff (9) en un análisis de la flora microbiana del bagre rayado realizado en Maryland (Estados Unidos) a lo largo de un año apreciaron que en el mes de Junio la flora intestinal de los pescados estaba representada en un 89% por *P. shigelloides*.

FIGURA 3
Efecto estacional sobre la incidencia de *P. shigelloides*
en *Tilapia rosada*



La incidencia de *E. coli* en las 30 muestras de tetrahíbridos de *Tilapia* analizadas fue del 100% en cada uno de los tejidos (piel, branquias e intestinos) y en el agua de la laguna de cultivo, este resultado nos puede dar una idea de la baja calidad microbiológica del sistema ecológico donde crecen estos peces. Resultados similares han sido apreciados por otros investigadores en diferentes partes del mundo (21,22). Los valores obtenidos en el presente estudio reflejan las condiciones inadecuadas de manejo y cultivo de peces puesto que los terrenos próximos a la laguna se dedican a la cría de ganado vacuno y la fertilización de la laguna se efectúa con materia orgánica no tratada, lo que representa un riesgo potencial a la salud del público consumidor.

Los análisis estadísticos no arrojaron correlación entre la presencia de *P. shigelloides* y *E. coli* en las muestras analizadas. Resultados similares han sido obtenidos por otros investigadores (5,8) por lo que se plantea la escogencia de otro indicador más apropiado. Sin embargo, existe correlación en la presencia de *E. coli* en los diferentes tejidos de *Tilapia* entre sí y éstos con el agua de la laguna, concordando con lo señalado por Hejkal y col (23).

Los resultados obtenidos evidencian que los peces de agua dulce constituyen un reservorio del microorganismo y para su consumo se requiere una apropiada evisceración, el mantenimiento a bajas temperaturas hasta el momento del consumo y una adecuada cocción con el fin de evitar riesgos a la salud pública, especialmente en poblaciones susceptibles (infantes, ancianos e individuos inmunocomprometidos).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración prestada por los productores de la laguna de cultivo por su valiosa colaboración en el suministro de las muestras y al Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos de la Escuela de Biología de la Universidad Central de Venezuela por la donación de la Cepa de referencia de *Plesiomonas shigelloides*.

REFERENCIAS

1. Doyle M, Beuchat L and Montville T. Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers. Ed ASM Press. Washington D.C. USA. 1997;768p.
2. ICMSF. Microorganisms in Foods. Microbiological Specifications of Food Pathogens. 5th Ed Ed. Blackie Academic Professional. Great Britain. 1996.
3. Jay J. Modern Food Microbiology. 5th Ed. Chapman and Hall, NY, USA. 1997.
4. Krieg N and Holt J. En: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Krieg N.R. and Holt J.G. (Eds), Vol 1. Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 1984.
5. Hernández P y Rodríguez R. Prevalencia de *Plesiomonas shigelloides* en agua de superficie. Arch Latin Nutr 1997;47: 47-49.
6. Abbey S, Emerinwe N, Phill M and Amad E. Ecological Survey of *Plesiomonas shigelloides*. J. Food Protect 1993; 55:44-446.
7. Kwaga J, Adesiyn A, Bello C and Abdullahi S. Occurrence of *Plesiomonas shigelloides* in humans and water in Zaria, Nigeria. Microbiologica. 1988;11:165-167.
8. Sadata T and Koreeda Y. A Numerical Taxonomic Study of the Dominant Bacteria Isolated from *Tilapia* Intestines. Bull. Japan Soc. Sci Fish 1986;52:1625-1634.
9. Nedoluha P and Westhoff D. 1995. Microbiological Analysis of Striped Bass (*Morone saxatilis*) grown in Flow-Through Tanks. J Food Protect 1995; 58:1363-1368.
10. Sugita H, Nakamura T and Deguchi Y. Identification of *Plesiomonas shigelloides* isolated from fresh water fish with the microplate Hybridization Method. J.Food Protect. 1993;56:949-953.
11. Esteve C and Garay E. Heterotrophic Bacterial Flora Associated with European Eel *Anguilla anguilla* Reared in Freshwater. Nippon Suisan Gakkaishi. 1991;57: 1369-1375.
12. Van Damme R and Vandepitte J. Frequent Isolation of *Edwardsiella tarda* and *Plesiomonas shigelloides* from Healthy Zairese Freshwater fish: a Possible Source of Sporadic Diarrhea in the Tropics. Appl Environ Microbiol 1980;39:475-479.
13. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Ed. American Public Health Association, Washington-DC.,USA. 1995.
14. Koburger J and Wei C. *Plesiomonas shigelloides*. En: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3thd. Ed. Vanderzant, and Splittstoesser. D.(eds) American Public Health Association, Washington DC.,USA. 1992.
15. Seidler R, Allen D, Lockman H, Colwell R, Joseph S and Daily O. Isolation, enumeration, and characterization of *Aeromonas* from polluted waters, encountered in diving operations. Appl. Environ. Microbiol. 1980;9:1010-1018.
16. Jeppesen C. Media for *Aeromonas* spp, *Plesiomonas shigelloides* and *Pseudomonas* from food and environment. Int J Food Microbiol 1995;26: 25-41.
17. Hahn G and Wittrock E. Comparison of Chromogenic and Fluorogenic substances for differentiation of coliforms and *Escherichia coli* in Soft Cheese. Acta Microbiologica Hungarica. 1991;38:265-271.

18. Schubert R. Genus IV. *Plesiomonas* En: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Krieg, N.R. and Holt J.G. (Eds). Vol 1 Williams and Wilkins. Baltimore, USA. 1984.
19. Miller M and Koburger J. Tolerance of *Plesiomonas shigelloides* to pH, Sodium Chloride and Temperature. J Food Protect 1986;49:877-879.
20. Islam S, Alam J and Islam S. Distribution of *Plesiomonas shigelloides* in Various Components of Ponds Ecosystems in Dhaka, Bangladesh. Microbiol Immunol 1991;35:927-932.
21. Fattal B, Dotan A and Tchorsh Y. Rates of experimental microbiological contamination of fish exposed to polluted water. Wat Res 1992;26: 1621-1627.
22. Buras N, Duek L and Niv S. Reactions of Fish to microorganisms in wastewater. Appl Environ Microbiol 1985;50: 989-995.
23. Hejkal T, Gerba C, Henderson S and Freeze M. Bacteriological, Virological and Chemical evaluation of a wastewater-aquaculture system. Wat Res 1983;17:1749-1755.

Recibido: 22-01-1998

Aceptado: 14-10-1998

Termorresistência de bactéria psicrotrófica produtora de ácido isolada de leite

Rita de Cássia Gonçalves Alfenas

Universidade Federal de Viçosa - Campus Universitário, Viçosa - MG, Brasil

RESUMO. Bactéria psicrotrófica acidificante foi isolada de leite cru, em meio Agar Púrpura de Bromocresol, após incubação a 7°C por 10 dias. Células da cultura, no início da fase estacionária, foram inoculadas em leite em pó, reconstituído a 12% de sólidos totais e esterilizado, resultando em, aproximadamente, 10^8 células por mililitro. Porções de 3 ml do leite inoculado foram transferidas para tubos de borossilicato e submetidos à determinação da resistência das células a 62, 70, 75 e 80°C, pelo método do TDT tubo. As curvas de sobrevivência nas respectivas temperaturas e a curva de morte térmica foram traçadas. A bactéria apresentou um valor de $D_{75^\circ\text{C}}$ de 0,15 minutos e z igual a 8,7°C. A pasteurização pelos sistemas LTLT e HTST promoveram, respectivamente, 5,27 e 0,53 reduções decimais no número de células viáveis da bactéria. Conclui-se que a bactéria isolada neste estudo é destruída apenas pela pasteurização pelo sistema LTLT.

Palavras chave: Bactéria psicrotrófica acidificante, termorresistência, curvas de sobrevivência, curva de morte térmica.

SUMMARY. Thermoresistance of acid producing psychrotrophic bacteria isolated from milk. An acidificant psychrotrophic bacteria was isolated from raw milk from Bromocresol Purple Agar medium, after incubation at 7°C, for 10 days. Cells from the culture, at the beginning of the stationary phase, were inoculated sterilized in powder milk, reconstituted at 12% of total solids, resulting in approximately 10^8 cells per milliliter. Portions of 3 ml of inoculated milk were transferred to borosilicate tubes and were submitted to cells resistance determination at 62, 70, 75 and 80°C, by the TDT tube method. The survival curves at the respective temperatures and the curve of thermal death were drawn. The bacteria presented a $D_{75^\circ\text{C}}$ value of 0.15 minutes and $z = 8,7^\circ\text{C}$. Treatments LTLT and HTST of pasteurization promoted 5,27 and 0,53 decimal reductions in the number of available bacteria cells, respectively. The conclusion of this study was that the isolated bacteria is destroyed only by the treatment LTLT of pasteurization.

Key words: Acidificant psychrotrophic bacteria, thermoresistance, survival curves, curve of thermal death.

INTRODUÇÃO

Com o uso da refrigeração, a vida-de-prateleira do leite é aumentada por reduzir a taxa de multiplicação de organismos mesófilos, como as bactérias do ácido láctico. Entretanto, a estocagem do leite sob refrigeração por longos períodos tem resultado em novos problemas de qualidade, para a indústria de laticínios, relacionados com o crescimento e atividade metabólica dos microorganismos psicrotróficos (1-5). Psicrotróficos gram-negativos dos gêneros *Pseudomonas* (6), *Achromobacter*, *Alcaligenes* e *Enterobacter* são comumente isolados de leite refrigerado (7). Algumas espécies de psicrotróficos são patogênicas, além de poderem reduzir a vida-de-prateleira de produtos refrigerados.

Psicrotróficos patogênicos como *Bacillus cereus* (8,9), *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Escherichia coli* O157:H7 são considerados importantes em alimentos, incluindo produtos lácteos, estocados à temperatura de refrigeração industrial, inferior a 4,4°C (10).

Ao crescerem em leite, essas bactérias podem produzir enzimas extracelulares extremamente termoestáveis (11). As lipases (5,12) e proteases (13-19), mesmo em baixas

concentrações, são capazes de degradar gordura e proteína no leite e em produtos lácteos estocados sob refrigeração (20-23) resultando na redução da vida-de-prateleira dos mesmos. As proteases são mais termoestáveis do que as lipases. Ao serem produzidas em leite cru, suportam temperaturas ultra elevadas de esterilização, podendo deteriorar rapidamente o leite, resultando no desenvolvimento de sabor amargo ou de coagulação doce (24, 25).

Os psicrotróficos produtores de ácido são capazes de coagular o leite mantido sob refrigeração. Em estudo realizado por Juven et al., foi observado a coagulação do leite cru, após a inoculação com várias espécies de psicrotróficos pertencentes à família Enterobacteriaceae, e incubação a 7°C por 7 dias (2).

Silva verificou um aumento de, aproximadamente, dois ciclos logarítmicos no número de bactérias acidificantes em leite cru estocado por 72 horas a 5°C (26). Ensaios preliminares têm demonstrado a presença de psicrotróficos produtores de ácido no leite cru, leite pasteurizado tipo "A" e leite pasteurizado com 3% de gordura.

Enquanto nos países europeus e nos Estados Unidos a deterioração do leite ocorre devido a atividade proteolítica e

lipolítica de bactérias psicrotróficas, em outros países como o Brasil a deterioração se dá primeiramente por acidificação, resultando na redução do prazo de validade do leite de consumo. Entre outros fatores, isso se deve à diferença na qualidade microbiológica do leite cru, em número e tipo de bactéria, já que o sistema de pasteurização é basicamente o mesmo. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar o tratamento térmico para a destruição de psicrotróficos acidificantes, visando melhorar a qualidade e aumentar o prazo de validade desse leite de consumo.

MATERIAL E MÉTODOS

A bactéria psicrotrófica acidificante Lc32, utilizada nesse estudo, foi isolada pelo método de "pour plate" em Agar Púrpura de Bromocresol, após incubação a 7°C por 10 dias. Essa bactéria apresentou colônias com halo amarelo maior e também a capacidade de acidificar amostras de leite contendo 10^3 células por mililitro e mantidas a 7°C e 25°C mais rápido que as demais bactérias isoladas sob as mesmas condições.

Células da bactéria Lc32, no início da fase estacionária de crescimento, foram inoculadas em 3,0 ml de leite esterilizado reconstituído a 12% contidos em tubos de borossilicato (10 mm de diâmetro interno), com tampa rosqueável de baquelite. Cada tubo foi inoculado com, aproximadamente, 10^8 células por mililitro de leite, conforme método descrito pela "National Canners Association" (27). O número inicial de células foi determinado, por meio da contagem direta ao microscópio e confirmado por contagem em placas, utilizando meio PCA com incubação a 25°C por 48 horas.

Logo após a incubação, os tubos foram transferidos para banho de gelo. A seguir, os mesmos foram pré-aquecidos em banho a 90°C até atingir as temperaturas dos tratamentos, sendo então transferidos para banhos com temperaturas de 62, 70, 75 e 80°C. Em intervalos de tempo, previamente estabelecidos para cada temperatura de tratamento, uma série de três tubos foi retirada e transferida para banho à temperatura ambiente e, em seguida, para banho de gelo. Os tempos de tratamentos utilizados no experimento foram os seguintes: 15, 25, 35, 45 e 55 minutos a 62°C; 30, 50, 70, 90 e 110 segundos a 70°C; 4, 8, 12, 16 e 20 segundos a 75°C e 2, 5, 8, 11 e 14 segundos a 80°C. Após o resfriamento a temperatura inferior a 10°C, foram feitas diluições adequadas em tampão citrato 1,25%. O número inicial e número de sobreviventes foram determinados por contagem em placas em PCA, após incubação a 25°C por 48 horas.

Foram traçadas as curvas de sobrevivência para cada temperatura. Os dados foram ajustados por meio de regressão linear, segundo a equação $Y = aX + b$, em que Y é igual ao logaritmo decimal do número de sobreviventes e X é o tempo de exposição à temperatura de tratamento. Foram calculados os tempos de redução decimal (D) para cada temperatura. A curva de morte térmica ("Phantom") foi obtida marcando-se em gráfico os valores de D em função das temperaturas de

tratamento. Os dados foram ajustados por regressão linear, segundo a equação $Y = aX + b$, em que Y é igual ao $\log_{10} D$ e X a temperatura de tratamento em °C. O valor de z foi calculado a partir dos dados da curva de morte térmica.

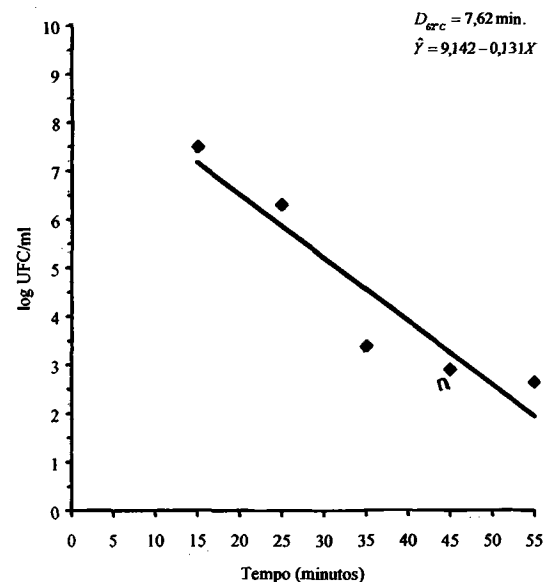
A eficiência da pasteurização do leite pelos sistemas HTST e LTLT foi calculada dividindo-se os tempos de tratamento pelos respectivos valores de D, calculados da curva de morte térmica, em cada temperatura e os resultados expressos em número de reduções decimais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de D, calculados a partir das curvas de sobrevivência (Figuras 1 a 4), indicam que o psicrotrófico acidificante Lc32 é, consistentemente, mais termorresistente que a *Coxiella burnetti*. Enquanto o isolado Lc32 apresenta $D_{65,5^\circ\text{C}}$ correspondente a 2,9, o valor equivalente ao $D_{65,5^\circ\text{C}}$ para esse patógeno varia de 0,5 a 0,6 (28).

FIGURA 1

Curva de sobrevivência do psicrotrófico acidificante Lc32 em leite a 62°C



O valor z calculado a partir da curva de morte térmica foi de 9,2°C (Figura 5), indicando maior termorresistência do que a *Listeria monocytogenes* F5069, estudada por Donneley e Briggs (1986), que apresentou z de 4,3°C (29). Os dados de D, obtidos a partir da equação dessa curva ($Y = 7,5687 - 0,1085X$) podem ser utilizados como parâmetros de comparação com os valores de D de outras bactérias.

A pasteurização pelos sistemas LTLT e HTST promovem reduções decimais do isolado Lc32 equivalentes a 5,27 e 0,53, respectivamente. O tratamento a 75°C por 15 segundos, muito usado nas indústrias de laticínios do Brasil, resulta em 0,93 redução decimal da bactéria Lc32. Como a eficiência média da pasteurização corresponde a de três a quatro reduções decimais,

em termos de microbiota total do leite, considera-se apenas a pasteurização pelo sistema LTLT como eficiente na destruição do psicrotrófico acidificante Lc32.

FIGURA 2

Curva de sobrevivência do psicrotrófico acidificante Lc32 em leite a 70°C

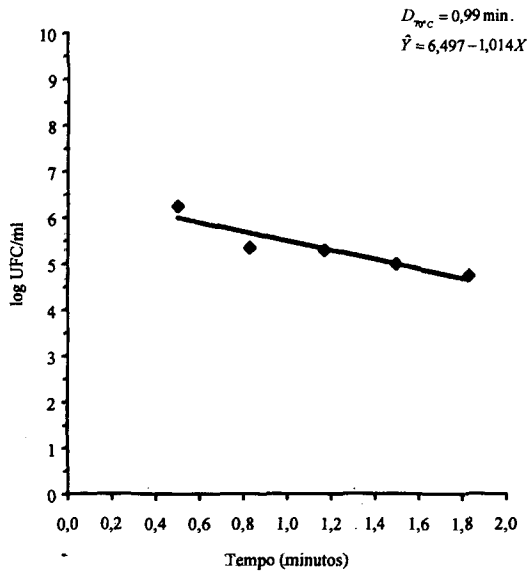


FIGURA 3

Curva de sobrevivência do psicrotrófico acidificante Lc32 em leite a 75°C

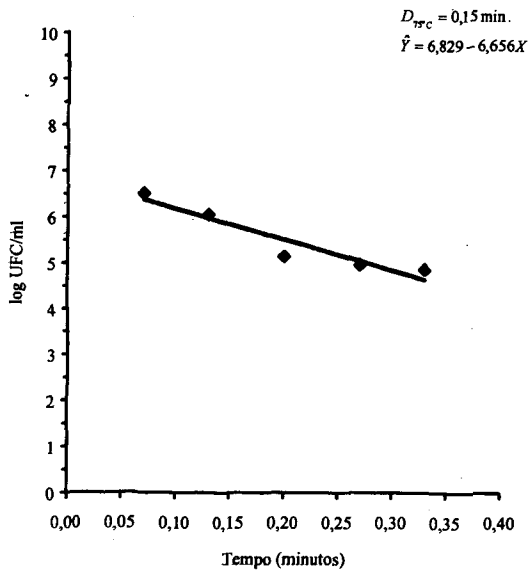


FIGURA 4

Curva de sobrevivência do psicrotrófico acidificante Lc32 em leite a 80°C

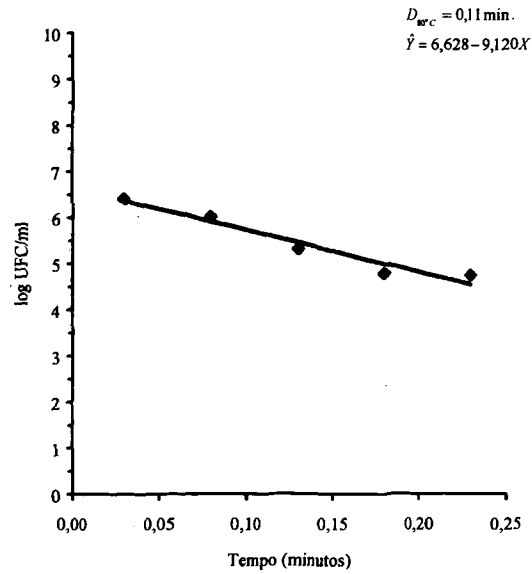
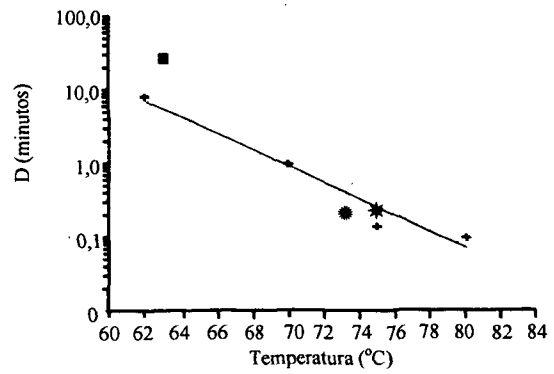


FIGURA 5

Curva de destruição térmica do psicrotrófico acidificante Lc32



Equação: $\hat{Y} = 7,5687 - 0,1085X$

Y = D (minutos)

X = Temperatura (°C)

Z = 9,2°C

■ = Pasteurização a 62,8°C/30 min (LTLT)

● = Pasteurização a 72,8°C/15 min (HTST)

* = Pasteurização a 75,0°C/15 min

+ = Dados experimentais

REFERÊNCIAS

1. Cox JM & McRae IC. Growth of psychrotrophic bacteria in raw and UHT-treated goats' milk. *J Appl Bacteriol* 1988;64: 403-7.
2. Juven BJ, Gordin S, Rosenthal I & Laufer A. Changes in refrigerated milk caused by Enterobacteriaceae. *J Dairy Sci* 1981;64: 1781-4.
3. Suarez B & Ferreirós CM. Psychrotrophic flora of raw milk: resistance to several common disinfectants. *J Dairy Sci Res* 1991;58: 127-36.
4. Smiyhwell N & Kailasapathy K. Psychrotrophic bacteria in pasteurised milk: problems with shelf life. *Aust J Dairy Technol.* 1995;50 (1): 28-31.
5. McKay DB, Dieckelmann M & Beacham IR. Degradation of triglycerides by a pseudomonad isolated from milk: The roles of lipase and esterase studied using recombinant strains over-producing, or specifically deficient in these enzymes. *J Appl Bacteriol.* 1995;78 (3): 216-23.
6. Griffiths MW. Thermostability of proteases and lipases of a number of species of psychrotrophic bacteria of dairy origin. *J Bacteriol.* 1981;50:289-303.
7. Robinson RK. Dairy microbiology; The microbiology of milk. London. Applied Science Publishers, 1981. V.1, 163p.
8. Granum PE, Brynestad S & Kramer JM. Analysis of enterotoxin production by *Bacillus cereus* from dairy products, food poisoning incidents and non-gastrointestinal infections. *Int Food Microbiol.* 1993;17 (4): 269-79.
9. Sutherland AD. Toxin production by *Bacillus cereus* in dairy products. *J Dairy Res.* 1993;60 (4): 569-574.
10. Corlett Junior DA. Refrigerated foods use of hazard analysis and critical control point principles. *Food Technol.* 1989;43: 91-4.
11. Uplacksh VK, Mathur DK & Malik RK. Thermal resistance of partially purified proteinase of *Pseudomonas fluorescens* P-26. *J Appl Bacteriol.* 1994;76 (4): 356-60.
12. Muir DD. The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. *J Soc Dairy Technol.* 1996;49 (1): 24-32.
13. Plar R, Carretero C, Mor-Mur M & Guamis B. Refrigeration of milk on farms. Phicochemical changes. *Alimentaria.* 1992;29 (238):19-22.
14. Collins SJ, Bester BH & McGill AEL. Influence of psychrotrophic bacterial growth in raw milk on the sensory acceptance of UHT skim milk. *J Food Prot.* 1993;56 (3):418-25.
15. Cox JM. The significance of psychrotrophic pseudomonas in dairy products. *Aust J Dairy Technol.* 1993;48 (2):108-113.
16. Meer RR, Wodburn MJ & Bodyfelt FW. Identification and characterization of heat-resistant psychrotrophic bacteria in Oregon grade A raw milk. *Dairy Food and Environmental Sanitation.* 1993;13 (11): 631-7.
17. Picard C, Plard I, Rongdaux-Gaida D & Collin JC. Detection of proteolysis in raw milk stored at low temperature by an inhibition ELISA. *J Dairy Res.* 1994;61(3): 395-404.
18. Shah NP. Psychrotrophs in milk: a review. *Milchwissenschaft.* 1994;49 (8): 432-7.
19. Stepaniak L, Sorhaug T & Fox PF. Thermal denaturation of bacterial enzymes in milk. *Heat-induced-changes-in-milk.* 1995. Ed. 2, 349-363.
20. West FB. Inactivation of heat resistant proteases in normal ultra-high temperature treatment. *J Dairy Sci.* 1979;61:1078-84.
21. Collins EB. Heat resistant psychrotrophic microorganisms. *J Dairy Sci.* 1981;64:157-60.
22. Cromie S. Psychrotrophs and their enzymes residues in cheese milk. *Aust J Dairy Technol.* 1992;47(2): 96-100.
23. González I, Martín R, García T, Morales P, Sanz B & Hernández PE. A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of *Pseudomonas fluorescens* and related psychrotrophic bacteria in refrigerated milk. *J Appl Bacteriol.* 1993;74 (4): 394-401.
24. Adams DM. Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. *J Dairy Sci.* 1975;58: 828-34.
25. Speck ML & Adams DM. Heat resistant proteolytic enzymes from bacterial sources. *J Dairy Sci.* 1976;59: 786-9.
26. Silva MH. Efeito do resfriamento e estocagem sobre alguns grupos de microorganismos e propriedades físico-químicas do leite. Viçosa, MG: UFV, 1991. 104 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, 1991.
27. Nacional Canners Association - N.C.A. Laboratory manual for food canners and processors. Connecticut, 1968. V. 1: Microbiology and processing. 336p.
28. Stumbo CR. Thermobacteriology in food processing. 2 ed. New York, Academic Press, 1973, 329p.
29. Donnelly CW & Briggs EH. Psychrotrophic growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as function of milk composition. *J Food Prot.* 1986;19(2): 994-8.

Recibido: 14-05-1998

Aceptado: 04-11-1998

Calidad microbiológica de las cremas de leche pasteurizadas elaboradas en Venezuela

Lola Szwarcbort de Tamsut, Carmen Elena García

Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas

RESUMEN. Se analizaron 100 muestras de cremas de leche pasteurizadas, elaboradas por once (11) industrias ubicadas en diferentes regiones de Venezuela. Se investigaron Bacterias aerobias mesófilas, Bacterias psicrotrofas, *Staphylococcus aureus*, coliformes, mohos y levaduras, *Salmonella* y Enterobacterias. El 75% de las muestras analizadas no se ajustan a los standards internacionales para Bacterias aerobias mesófilas, 95% para *Staphylococcus aureus*, 91% para coliformes y un 58% para mohos y levaduras. Entre las enterobacterias patógenas, se encontró: *Salmonella Typhimurium*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli* enteropatógena.

Palabras clave: Cremas de leche, productos lácteos, calidad microbiológica.

SUMMARY. Microbiological quality of pasteurized milk creams manufactured in Venezuela. A total of 100 samples of pasteurized milk creams produced by eleven (11) dairy milk industries were analyzed for the presence of microorganisms. The dairy milk industries were distributed along different places of Venezuela. The samples were analyzed for the presence of mesophilic aerobic bacteria, psychrotrophic bacteria, *Staphylococcus aureus*, coliformes, molds and yeasts 75% of the analyzed samples did not reach the international standards for aerobic mesophilic bacteria, similarly, 95% for *Staphylococcus aureus*, 91% for coliformes and 58% for molds and yeasts, so pathogenic enterobacteria we have found: *Salmonella Typhimurium*, *Shigella sonnei* and *Escherichia coli* enteropathogenic

Key words: Milk creams, dairy products, microbiological quality.

INTRODUCCION

La crema de leche o nata es un producto perecedero, de consumo en los hogares venezolanos, utilizada en muchos casos como sustituto de la manteca y el queso (1).

Este alimento presenta una serie de características tales como un Aw alto, pH entre 6,8-7,0 y contiene proteína de buena calidad. Todo esto permite la proliferación de microorganismos, los cuales pueden producir rápida descomposición del alimento y en otros casos pueden ocasionar intoxicaciones alimentarias (2,3).

Investigaciones, han evidenciado, contaminación en las cremas de leche; Kohnechahri y col (4) en Irán, analizaron 205 muestras de crema de leche pasteurizadas a nivel de expendio, presentando un conteo total de 38×10^6 bacterias/ml y un recuento de coliformes de $1,4 \times 10^6$ bacterias/ml.

Nenkov (5) en Bulgaria, reportó 10 serotipos diferentes de *Escherichia coli* enteropatógena en los siguientes alimentos: leche pasteurizada, crema de leche y requesón.

Sheikh, M. (6) aislaron de 165 muestras de crema de leche, ocho cepas de *Staphylococcus aureus*. Solamente a una de las cepas se le detectó enterotoxina tipo C.

Forder, R. (7) reportaron en Suecia un brote de *Salmonellosis* debido a crema de leche pasteurizada. *Salmonella typhimurium* fue aislada en los pacientes y en muestras de crema de leche.

Yanosy, G. (8) reportaron *Shigella sonnei* en crema de leche y leche fluida. Determinaron que dicho microorganismo

se multiplica a bajas temperaturas.

En el trabajo que vamos a presentar, se trazaron varios objetivos:

- Estudiar la calidad microbiológica de la crema de leche pasteurizada o nata elaborada en Venezuela.
- Identificar los principales microorganismos encontrados, los cuales son de interés en la Salud Pública.
- Establecer en base a los resultados obtenidos, si los productos analizados son aptos para el consumo humano.
- Aportar información que pueda ser usada para el establecimiento de límites de calidad microbiológica de la crema de leche en el país.

MATERIALES Y METODOS

Se analizó un total de 100 muestras de crema de leche pasteurizada (con sal y sin sal) pertenecientes a once (11) industrias ubicadas en diferentes regiones de Venezuela. Se seleccionó un promedio de dos lotes diferentes para cada industria, un lote constituido por cinco muestras de crema de leche con sal y otro lote de cinco cremas de leche sin sal, cada lote fue tomado el mismo día, al azar a nivel de expendio, donde estaban mantenidas bajo refrigeración (2-7°C). Las muestras se mantuvieron en refrigeración (cavas con hielo) y se transportaron al laboratorio. A su llegada fueron inmediatamente analizadas o en su lugar conservadas bajo refrigeración hasta el momento de realizar los siguientes exámenes:

- a) Numeración de bacterias aerobias mesófilas (APHA, 1985).
- b) Numeración de bacterias psicrotrofas (APHA, 1985)
- c) Numeración de Coliformes (APHA, 1985)
- d) Numeración e identificación de *Staphylococcus aureus* (ICMSF, 1978).
- e) Numeración e identificación de mohos y levaduras (AOAC, 1984)
- f) Investigación e Identificación de Salmonella (ICMSF, 1978)

- g) Investigación e Identificación de Enterobacterias (APHA, 1985)

RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 presenta los parámetros estadísticos correspondientes, al conteo de los diferentes microorganismos estudiados en muestras de crema de leche elaboradas por once industrias en Venezuela.

TABLA 1
Valores estadísticos en el conteo de los diferentes microorganismos estudiados en las once industrias

Microorganismos y valores estadísticos		Industrias										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Bacterias	X	6,613	7,291	7,354	8,012	11,17	7,359	11,69	8,228	3,674	2,084	3,377
Aerobias	DS	1,051	2,315	1,507	1,077	1,621	1,821	1,606	1,247	0,697	0,572	1,215
Mesofilas	S2	1,105	5,360	2,271	1,161	2,627	3,316	2,578	1,555	0,486	0,328	1,475
Bacterias	X	3,658	5,147	4,818	4,461	7,113	5,247	8,227	3,828	2,597	2,498	2,414
Psicrotrofas	DS	1,388	2,747	0,537	0,990	0,799	1,841	1,954	1,226	1,150	0,733	0,725
	S2	1,928	7,545	0,289	0,980	0,639	3,391	3,818	1,502	1,323	0,538	0,525
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	5,080	4,792	2,221	3,874	3,880	6,077	5,381	2,718	2,724	2,089	1,731
	DS	1,053	0,911	0,355	0,617	0,325	1,448	1,515	0,948	0,599	0,473	0,615
	S2	1,108	0,830	0,126	0,381	0,016	2,098	2,295	0,898	0,359	0,224	0,379
Coliformes	X	3,593	4,797	2,312	4,870	4,773	3,073	6,612	5,241	2,847	2,128	2,566
	DS	1,349	1,688	1,246	1,368	1,233	1,113	1,366	1,292	1,317	0,791	1,561
	S2	1,819	2,850	1,552	1,872	1,521	1,238	1,865	1,669	1,734	0,626	2,438
Mohos y	X	5,933	3,245	3,346	5,593	7,364	4,788	7,559	6,633	3,594	2,063	2,741
Levaduras	DS	1,001	1,034	1,186	0,966	1,350	1,775	2,803	1,619	1,319	0,547	0,635
	S2	1,002	1,069	1,407	0,932	1,823	3,149	7,856	2,621	1,740	0,300	0,404

X = Promedio (log 10)
DS = Desviación standard (log 10)
S2 = Varianza (log 10)

Como se puede observar, la incidencia de bacterias aerobias mesófilas en estas muestras fue mayor a nivel de la industria 7 (X = 11,694 log 10) encontrándose la menor incidencia en las muestras de la industria 10. Al comparar los valores de desviación standard, se detecta el valor más alto en las muestras de crema de leche de la industria 2 (Ds = 2,315 log 10) y el menor en la industria 10 (Ds = 0,572 log 10) lo que nos indica que la incidencia de bacterias aerobias mesófilas no es uniforme entre las diferentes muestras.

Al analizar la incidencia de otros microorganismos, existe al igual que en el caso anterior, variabilidad entre las muestras analizadas de las diferentes industrias y de las muestras de una misma industria.

Las Tablas 2, 3, 4, 5 y 6 presentan la frecuencia de los diferentes microorganismos en el total de las muestras analizadas. A cada tabla se anexa un histograma.

TABLA 2
Frecuencia relativa y acumulada de bacterias aerobias mesofilas en 100 muestras de crema de leche

Limite de clase (log 10)		Frecuencia				
Inferior incluido	Superior exclu.	ABS	Rel %	Ajustado %	Acum ajustado	Histograma
0.00	2.00	4	4.00	4.00	4.00	****
2.00	4.00	21	21.00	21.00	25.00	*****
4.00	6.00	16	16.00	16.00	41.00	*****
6.00	8.00	22	22.00	22.00	63.0	*****
8.00	10.00	20	20.00	20.00	83.00	*****
10.00	12.00	10	10.00	10.00	93.00	*****
12.00	14.00	6	6.00	6.00	99.00	*****
14.00	16.00	1	1.00	1.00	100.00	*
Total		100	100.00	100.00		

ABS = absoluta
REL = relativa

TABLA 3
Frecuencia relativa y acumulada de bacterias psicrotrofas en 100 muestras de crema de leche

Limite de clase (log 10)		Frecuencia					Histograma
Inferior incluido	Superior exclu.	ABS	Rel %	Ajustado %	Acum ajustado		
0.00	2.00	12	12.00	12.00	12.00	*****	
2.00	4.00	40	40.00	40.00	52.00	*****	
4.00	6.00	24	24.00	24.00	76.00	*****	
6.00	8.00	15	15.00	15.00	91.00	*****	
8.00	10.00	7	7.00	7.00	98.00	****	
10.00	12.00	1	1.00	1.00	99.00	*	
12.00	14.00	1	1.00	1.00	100.00	*	
Total		100	100.00	100.00			

ABS = absoluta
REL = relativa

TABLA 4
Frecuencia relativa y acumulada de *Staphylococcus aureus* en 100 muestras de crema de leche

Limite de clase (log 10)		Frecuencia					Histograma
Inferior incluido	Superior exclu.	ABS	Rel %	Ajustado %	Acum ajustado		
0.00	2.00	5	5.00	7.04	7.04	***	
2.00	4.00	29	29.00	40.85	47.89	*****	
4.00	6.00	26	26.00	36.62	84.51	*****	
6.00	8.00	10	10.00	14.08	98.59	*****	
8.00	10.00	1	1.00	1.41	100.00	*	
Valores Faltantes		29	29.00			*****	
Total		100	100.00	100.00			

ABS = absoluta
REL = relativa

TABLA 5
Frecuencia relativa y acumulada de coliformes en 100 muestras de crema de leche

Limite de clase (log 10)		Frecuencia					Histograma
Inferior incluido	Superior exclu.	ABS	Rel %	Ajustado %	Acum ajustado		
0.00	2.00	9	9.00	13.64	13.64	****	
2.00	4.00	23	23.00	34.85	48.48	*****	
4.00	6.00	22	22.00	33.33	81.82	*****	
6.00	8.00	9	9.00	13.64	95.45	****	
8.00	10.00	3	3.00	4.55	100.00	**	
Valores Faltantes		34	34.00			*****	
Total		100	100.00	100.00			

ABS = absoluta
REL = relativa

TABLA 6
Frecuencia relativa y acumulada de mohos y levaduras en 100 muestras de crema de leche

Limite de clase (log 10)		Frecuencia					Histograma
Inferior incluido	Superior exclu.	ABS	Rel %	Ajustado %	Acum ajustado		
0.00	2.00	5	5.00	5.56	5.56	***	
2.00	4.00	37	37.00	41.11	46.67	*****	
4.00	6.00	22	22.00	24.44	71.11	*****	
6.00	8.00	15	15.00	16.67	87.78	*****	
8.00	10.00	9	9.00	10.00	97.78	****	
10.00	12.00	1	1.00	1.11	98.89	*	
12.00	14.00	1	1.00	1.11	100.00	*	
Valores Faltantes		10	10.00			****	
Total		100	100.00	100.00			

ABS = absoluta
REL = relativa

Observamos, que en cuanto a bacterias aerobias mesófilas, el 75% de las muestras analizadas no cumplen con los valores propuestos por las normas microbiológicas venezolanas, COVENIN (Tabla 7) y si se compara con normas internacionales (Tabla 8) se llega a los mismos resultados. Las bacterias aerobias mesófilas han sido consideradas como indicadores de la calidad higiénica de ciertos alimentos. Los resultados obtenidos indican una alta contaminación, la cual pudo ser adquirida durante el proceso de elaboración, así como también por una inadecuada limpieza y desinfección de equipos, un incorrecto envasado y almacenamiento del producto (9).

TABLA 7
Anteproyecto de normas microbiológicas para crema de leche (COVENIN 10:4-001)

Características	Crema pasteurizada límite máximo ufc/ml	Crema esterilizada límite máximo ufc/ml
Aerobios mesófilos	10.000	10
Coliformes totales	100	-
Mohos y levaduras	1000	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	-

TABLA 8

Normas microbiológicas para crema de leche establecidas para varios países

País	Contaje total	Coliformes
Estados Unidos	20 ⁴ ufc/ml	< 10 bacterias ufc/ml
España	< 10 ⁵ ufc/ml	Negativo
Portugal	< 5 . 10 ⁴ ufc/ml	Negativo
Rumania	< 20 bacterias /ml	-
Israel	< 5 . 10 ⁴ /ml	< 10 bacterias /ml
Guatemala	< 6 . 10 ⁴ /ml	< 10 /ml

El 48 % de las muestras analizadas presentó valores mayor de 10⁶ (6 log 10) para bacterias psicrotrofas (Tabla 3).

Las bacterias psicrotrofas son microorganismos que crecen a temperaturas próximas a 5°C, cuando están presentes en los alimentos en gran número, pueden producir en ellos aromas extraños, algunas especies producen enzimas que no se inactivan durante la pasteurización originando defectos en la leche y productos lácteos. Estos microorganismos están asociados con las medidas de limpieza, procedimientos sanitarios de las industrias donde se elaboran estos productos (10,11)

En la Tabla 4 se observa, que el 95% de las muestras procesadas presentan valores o contajes de *Staphylococcus aureus* superiores a 10² (por encima del máximo propuesto por COVENIN).

El *Staphylococcus aureus* está en el grupo de los microorganismos causantes del mayor número de intoxicaciones por alimentos. El número en que ellos se encuentran en un producto puede ser un índice de fallas en la higiene durante la fabricación, de condiciones adecuadas para su desarrollo durante el proceso de elaboración y almacenamiento y por consiguiente un peligro potencial de producción de enterotoxinas (2,3).

Por lo tanto, la presencia de una alta concentración de *Staphylococcus aureus* en las cremas de leche analizadas representa un riesgo para la salud del consumidor.

El 91% de las muestras de crema de leche, presentaron en cuanto a coliformes se refiere, valores superiores a 10² (por encima del máximo permitido por COVENIN) y un 100% presentaron valores mayores a los permitidos por los organismos internacionales.

Los coliformes no sobreviven a la pasteurización, la presencia de estos microorganismos después de la pasteurización, indica recontaminación y por lo tanto sirven como indicadores de la higiene durante la elaboración del alimento (3).

En cuanto a la incidencia de hongos, el 58% de las muestras procesadas no cumplen con los valores propuestos por COVENIN. Se identificaron seis (6) tipos de mohos: *Aspergillus versicolor*, *Fusarium* sp, *Gliocladium* sp, *Dreschlera* sp, *Curvularia* y *Penicillium monoverciclado* y

una levadura *Candida pseudotropicalis*. La presencia de estos hongos está relacionada directamente con el deterioro, apariencia del producto e higiene de la planta.

Al estudiar la Tabla 9 se observa que se aislaron una variedad de enterobacterias: *Escherichia coli* (la más aislada presentándose en un número elevado en la mayoría de las industrias), *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter intermedius*, *Proteus vulgaris*, *Hafnia* sp, *Serratia marcencens*, *Salmonella typhimurium* y *Shigella sonnei*.

TABLA 9

Porcentaje de enterobacterias en 100 muestras de crema de leche

Entero bacterias	Industrias										
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	6 %	7 %	8 %	9 %	10 %	11 %
<i>Escherichia coli</i>	75	60	30	0	40	50	40	60	20	50	10
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	40	0	100	20	0	10	0	30	0	20
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	25	0	0	30	0	0	0	40	0
<i>Citrobacter freundii</i>	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter intermedius</i>	0	0	20	0	0	0	0	20	0	10	10
<i>Proteus vulgaris</i>	5	0	10	0	0	0	10	0	25	0	60
<i>Hafnia sp</i>	0	0	15	0	40	20	0	0	15	0	0
<i>Serratia marcencens</i>	0	0	0	0	0	0	40	0	10	0	0
<i>Salmonella typhimurium</i>	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0
<i>Shigella sonnei</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Es importante destacar la presencia en estas muestras de crema de leche, microorganismos patógenos como *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*.

En la Tabla 10 se presenta el porcentaje de *Escherichia coli* enteropatógenas aisladas en la crema de leche, encontrándose *Escherichia coli* serotipo 0111: B₄, serotipo 0119: B₁₄ y serotipo 086: B₇. Estos serotipos de *Escherichia coli* enteropatógena aislados, pertenecen al grupo responsable en Venezuela de gastroenteritis en niños menores de dos años.

Los resultados obtenidos indican una alta contaminación del alimento, lo cual constituye un problema de orden sanitario en lo que concierne al consumidor, el cual se encuentra expuesto a ingerir alimentos deteriorados que pueden causar daños a su salud.

Por otra parte constituyen un problema económico en lo referente a las industrias, por los daños que puedan ocasionar al producto (alteración de sus características organolépticas)

TABLA 10
Porcentaje de *Escherichia coli* en 100 muestras de crema de leche

<i>Escherichia coli</i>	Industrias										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
No entero patogena	75	50	100	66.6	100	80	0	66.6	100	20	100
Poli B 0119: B ₁₄	5	0	0	33.3	0	0	0	0	0	80	0
Poli a 0111: B ₄	20	35	0	0	0	20	100	0	0	0	0
Poli B 086: B ₇	0	0	0	0	0	0	0	33.3	0	0	0
Poli A 055: B ₅	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CONCLUSIONES

- Los datos obtenidos en este trabajo sobre la calidad microbiológica de la crema de leche pasteurizada, muestran variaciones significativas en la incidencia de los diferentes microorganismos estudiados, para las muestras de una misma industria, y las muestras analizadas de las diferentes industrias.
- De acuerdo a los valores propuestos por COVENIN (Normas Venezolanas) y los Organismos Internacionales, se deduce que el 75% de las muestras de cremas de leche pasteurizada analizadas no cumplen con los standard propuestos para bacterias aerobias mesófilas, 95% en lo que respecta a *Staphylococcus aureus*, 91% para Coliformes y 58% para mohos y levaduras.
- Se identificaron bacterias patógenas de la Familia Enterobacteriaceae: *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli* enteropatógena.
- Se aislaron e identificaron seis (6) tipos de mohos y un (1) tipo de levadura.

RECOMENDACIONES

- Llevar un control periódico por parte de los organismos del estado en relación a las buenas prácticas de manufactura, para disminuir la contaminación con los microorganismos saprófitos y eliminar la contaminación por patógenos.
- Los industriales deben establecer el sistema HACCP (Análisis de riesgo y control de puntos críticos) para este producto.

REFERENCIAS

1. Alais Ch. Ciencia de la Leche. México. Ed. Continental, 1989:217-219.
2. Frazier WC. Microbiología de los Alimentos. España. Ed. Acribia, 1988:102-105.
3. Yay JM. Microbiología Moderna de los Alimentos. España. Ed. Acribia. 1995:27.
4. Kohnechahri R. Enumeration of total microorganisms and coliforms in creams consumed in Teheran and determination of their level of contamination, with coagulase positive staphylococci. Dept of Food Hygiene, Iran. Lait 1982;52:355-359.
5. Nenkov A. Incidencia de *Escherichia coli* enteropatógena en leche y productos lácteos. Veterinarnomeditsinski nauki. Bulgaria. 1992;2:79-84.
6. Sheikh M. *Staphylococcus aureus* en productos comerciales. Journal of Milk and Food Technology. 1984;37(6):329-332.
7. Forder R. *Salmonella* en crema de leche. Nordisk Veterinaer Medicin. 1986;28(7):385 -391.
8. Yanossy G. *Shigella sonnei* en leche, crema pasteurizada, crema ácida y Queso Cottage. Egeszsegthridomány. 1990;24(2):128-135.
9. ICMSF. Microorganisms in Foods. Vol I. Their significance and methods of enumeration. Ed. University of Toronto Press. 1978.
10. Banwort G. Microbiología básica de los alimentos. Ed. Bellaterra. España. 1989.
11. Coghill Y. Incidencia de bacterias psicrotrofas esporuladas en leche y cremas de leche. Journal Dairy Technology. 1989;34:118-120.

Recibido: 31-07-1996

Aceptado: 05-10-1998

Calidad proteínica de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*)

Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanís Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L. García Díaz,
Gerardo Martínez, Eleazar Barboza Corona

Universidad de Guanajuato, Universidad Autónoma de Nuevo León, Universidad Nacional Autónoma de México,
Universidad Autónoma de Querétaro. México

RESUMEN. Se evaluó la calidad proteínica de los cuerpos fructíferos de tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* (INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897), cultivadas en invernadero, temperatura registrada de: 22-28°C y 75-85% de humedad relativa, en paja de trigo como sustrato. La concentración de proteína (Nx4.38), osciló entre 17.26 y 19.97 g/100g en peso seco. Sus puntajes químicos estuvieron entre 74 a 93% siendo la lisina disponible el primer aminoácido limitante para las cepas INIREB-8 y CDBB-H-896 y la leucina para la CDBB-H-897. Los valores de digestibilidad in vitro fueron de: 67.75-68.38%. El valor proteínico relativo varió de 100.06 a 107.85%, siendo menor que el del frijol soya cocido y huevo entero; e iguales estadísticamente a los de la leche descremada en polvo, caseína más metionina y albúmina; y superiores a los del arroz, maíz, frijol, lenteja, haba y pasta para sopa. En función de lo anterior se puede concluir que por su contenido de aminoácidos esenciales, las proteínas de las setas (especialmente la cepa INIREB-8) se complementan adecuadamente con la de los cereales, por lo cual es altamente recomendable incluirlas en la dieta diaria.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, calidad proteínica.

SUMMARY. Protein quality of Mexican *Pleurotus ostreatus* strains The protein quality of fruits bodies of three *Pleurotus ostreatus* Mexican strains (INIREB-8, CDBB-H-896 and CDBB-H-897) was evaluated. The protein concentration (Nx4.38) ranged from 17.26 to 19.97 g/100g dry weight; chemical scores were between 74 and 93% with available lysine as a first limiting amino acid in either INIREB-8 and CDBB-H-896 strains or leucine in CDBB-H-897 strain. The nutritional evaluation revealed 67.75 to 68.38% in vitro digestibility. Relative protein values were from 100.06-107.85%, which were lower than soybean meal and whole egg but larger than those of rice, maize, beans, fava beans and pasta, no differences were found between these values and those of skim milk powder, casein plus methionine and albumin. In accordance with the last results we concluded that due to their essential amino acids content, mushroom proteins are a good complement of cereals; furthermore, it is highly recommended to include *Pleurotus* in the daily diet.

Key words: Oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, protein quality.

INTRODUCCION

Algunos investigadores han considerado a los hongos como la "carne de los bosques" en tanto que otros no les atribuyen ningún valor nutricional; sin embargo, la realidad es que la calidad nutricional de los hongos es muy variable aún entre las mismas especies. Por ejemplo, en contenido de proteína (Nx4.38), se puede encontrar valores tan altos como el 40% en peso seco o tan bajos como el 8.9%; la concentración de lisina disponible puede variar entre el 10 y 62% de la lisina total y los de valor biológico desde 45.3 hasta 95.8% (1,2). No se puede generalizar con respecto a la calidad de la proteína de los hongos, ya que habrá especies cuya contribución a la dieta sea muy buena y otras cuyo valor nutricional sea insignificante. El contenido de aminoácidos individuales en diversas clases de hongos también varía considerablemente; por ejemplo, se han encontrado concentraciones de metionina y leucina que van desde 0.34 a 1.99 y 1.4 a 3.89 g/100g en peso seco, respectivamente y contenidos tan bajos de aminoácidos esenciales

totales como 5.3 g/100g de materia seca en hongos silvestres (3).

La determinación de proteína cruda (Nx6.25) en los hongos sobreestima el valor de proteína, debido a que solamente entre el 34 y 89% de este nitrógeno total, proviene de proteína verdadera; esto puede ser explicado parcialmente por el hecho de que los hongos contienen cantidades significativas de nitrógeno no proteico, principalmente en sus paredes quitinosas (1-3).

Los hongos contienen también aminoácidos libres usuales y poco comunes (4), así como otros compuestos nitrogenados (5-7). Se han reportado que *Agaricus campestris* contiene compuestos aminados, dentro de los que se consideran 10 aminoácidos indispensables, aminoácidos libres y compuestos intermediarios en la biosíntesis de aminoácidos esenciales (8).

Se ha sugerido (4,9,10) que el factor de conversión de nitrógeno a proteína es alrededor de 4 y no 6.25. Específicamente, se recomienda 4.38 para calcular el valor

más cercano al verdadero contenido de proteína en los hongos (1). Fujihara et al., (10) encontraron un factor promedio de 3.99 ± 0.76 para distintos géneros de hongos y de 4.15 para el *Pleurotus ostreatus*; asimismo, señalaron que el mejor método para conocer el contenido real de proteína es por análisis de aminoácidos, en este estudio se hace uso del factor 4.38 para convertir el N a proteína.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de la proteína de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*), compararlas con otros alimentos de uso común en México y conocer su contribución real a la dieta humana como parte de la alimentación diaria.

MATERIALES Y METODOS

Origen de las cepas

Las cepas de *Pleurotus ostreatus* INIREB-8 del Instituto de Ecología de Xalapa, Veracruz, México, se adquirió en el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste de Tapachula Chiapas, México. Las cepas CDBB-H-896 y CDBB-H-897 fueron donadas por el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Zacatenco.

Preparación de las muestras

Las setas se cultivaron sobre paja de trigo, en invernadero (temperatura de 22 a 28°C y una humedad relativa de $80 \pm 5\%$) (11) y se cosecharon en la madurez comercial (12). A los cuerpos fructíferos se les eliminó la base del estípite (entre 0.5 y 1 cm) para evitar cualquier contaminación con el substrato, se deshidrataron a 30°C en un horno de convección forzada (B & T Searle Company BS2648), se molieron en un micromolino General Electric usando un tamiz de malla 40 y se conservaron en frascos cerrados a 4°C hasta su análisis.

El frijol negro, flor de mayo, haba, lenteja, frijol soya que se usaron en este estudio se adquirieron en el mercado local y se cocinaron utilizando métodos caseros convencionales. El huevo entero se hirvió durante 5 min, el arroz con jitomate fue guisado según receta casera en la que el arroz se fríe y después se hierve aproximadamente 20 min, la harina de maíz, las tortillas, leche en polvo descremada y soya texturizada se adquirieron en el supermercado y no recibieron ningún tratamiento. Todas las muestras se deshidrataron por 12 horas a 100°C en un horno de convección forzada B & T Searle Company y se molieron pasando la muestra por un tamiz de malla 80. Se utilizó también albúmina de bovino fracción V, reactivo analítico (Baker).

A las muestras de setas se les practicaron todos los análisis en tanto que a los demás alimentos sólo se les determinó el valor proteínico relativo (VPR) empleando el microorganismo *Tetrahymena thermophila*. Al frijol soya, frijol negro y lentejas cocidos, también se les determinó la digestibilidad in vitro.

Proteína

El contenido de proteína de las setas se calculó determinando el nitrógeno total por el método de Kjeldahl (13) y se usó el factor de conversión de nitrógeno a proteína de 4.38.

Quitina

La quitina se extrajo de las muestras de setas con solución de HCl 6N y KOH 5N (14) y los cálculos se hicieron de acuerdo a la técnica descrita por Meyers et al (15).

Aminoácidos y puntaje químico

Las setas deshidratadas se desengrasaron con éter etílico y se hidrolizaron con HCl 6N a 145°C durante 4 horas en un digestor Tecator AB. El ácido se eliminó por evaporación al vacío, y se procedió al análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) mediante el uso de un equipo Waters Millipore con detector de fluorescencia de barrido Waters 470 y columna Nova-pack C18, utilizando como solvente un buffer acuoso Waters AccQ. Tag y acetonitrilo: agua HPLC 20 Megohm en proporción 60:40 (16,17).

Para la determinación de triptófano, las muestras se hidrolizaron con $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en un autoclave a 15 lb/in² durante 7 horas y se neutralizaron con HCl 6N. Se centrifugaron a 2700g durante 10 min y el color se reveló con dimetilamino benzaldehído en HCl concentrado 0.5% y nitrito de sodio al 0.2%, la absorbancia se leyó en un Spectronic 20 a 590 nm de acuerdo con el método de Miller (18).

La cistina se cuantificó por espectrofotometría midiendo su absorción a 540 nm, con la técnica de Block y Weiss (19). Para esto, la muestra se hidrolizó con una mezcla de cantidades iguales de HCl 6N y ácido fórmico y el ácido se eliminó por evaporación al vacío. Después las muestras fueron analizadas por cromatografía en papel, usando como solvente alcohol N-butílico: acético:agua (250:60:250 v/v), en un tiempo de desarrollo de 32 horas en dos etapas. El color se obtuvo usando como revelador ninhidrina 0.25% en acetona, como estándares fueron usados aminoácidos puros (Sigma).

La lisina disponible se cuantificó según la técnica de Hurrell et al., con anaranjado ácido y anhídrido propiónico (20).

Para el cálculo del puntaje químico de los aminoácidos se utilizó el patrón de referencia publicado por la FAO en 1985 para niños de 2 a 5 años (21).

Digestibilidad in vitro

La muestra de setas desengrasada y molida se digirió con una mezcla de tripsina quimotripsina y peptidasa. Después de 10 min se hicieron lecturas de la caída de pH y la digestibilidad se calculó aplicando la ecuación descrita en Hsu et al., (22). El estándar utilizado fue la caseína de la Nutrition Biochemical Co.

Valor proteínico relativo (VPR)

Se determinó por el método de Baker et al. (23), para lo cual las muestras problema y la caseína (Sigma) como estándar de referencia, se secaron y se desengrasaron con éter etílico; se molieron y se digirieron con bromelia y ácido mercaptosuccínico. Después se esterilizaron, se inocularon con *Tetrahymena thermophila* (WH14 ATCC 30008) y se incubaron a 28°C por tres días. Finalmente, se leyó la absorbancia a 650 nm y el valor proteínico relativo (VPR) se determinó según la siguiente ecuación:

$$\text{VPR} = \frac{\text{Abp}}{\text{AbSt}} \times 100$$

Endonde: Abp = Absorbancia de problema y AbSt = Absorbancia del estándar

Análisis estadístico

Se utilizó diseño completamente aleatorizado. Se efectuó un análisis de varianza y la diferencia entre las medias se estableció según la prueba de rangos múltiples de Duncan (24). Para el procesamiento de datos se empleó el paquete estadístico Microsoft Excel.

RESULTADOS Y DISCUSION**Proteína**

El contenido de proteína Nx4.38 en las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 fue de 19.97±0.18, 17.26±0.14 y 19.26±0.12 respectivamente.

Quitina

Las cepas estudiadas presentaron un contenido de quitina (media±D.E.) de 4.00±0.22 y 4.03±0.21g/100g en peso seco para las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897 respectivamente, las cuales no mostraron diferencias significativas (p<0.05). Sin embargo, la quitina en la cepa CDBB-H-896 fue significativamente superior (p<0.05) presentando un contenido de 4.62±0.01g/100g. No obstante, los valores reportados por Bano y Rajarathnam (2) para *Pleurotus ostreatus* (entre 4.68 y 4.90% en peso seco) son similares a los encontrados para esta última cepa. La determinación de la quitina total es importante, debido a que este polisacárido es el principal componente nitrogenado que altera el valor de proteína cuando se utiliza 6.25 como factor de conversión de N a proteína.

Aminoácidos y puntaje químico

El contenido de aminoácidos calculados en mg de aminoácidos por gramo de proteína corregida (Nx4.38) y el patrón de referencia de la FAO para niños de 2 a 5 años de edad de 1985 se puede apreciar en la Tabla 1, con excepción de la lisina disponible en las tres cepas y la leucina en la cepa CDBB-H-897, todos los demás aminoácidos superan los

contenidos marcados por el patrón de la FAO.

TABLA 1
Contenido de aminoácidos en setas *Pleurotus ostreatus*

mg/g de proteína (Nx4.38)*	INIREB-8 Media±D.E.**	CDBB-H-896 Media±D.E.	CDBB-H-897 Media±D.E.	Patrón FAO 1985
Aspártico	120.50±7.91	112.00±0.37	126.78±2.10	
Serina	48.36±0.25	50.06±0.80	47.39±0.79	
Glutámico	211.33±5.00	187.31±2.27	235.10±1.52	
Glicina	47.45±1.23	44.25±0.99	43.65±0.68	
Histidina	28.60±0.68	26.79±0.12	26.59±0.42	19
Arginina	70.70±1.20	85.95±0.75	68.08±0.86	
Treonina	51.25±1.24	51.74±1.18	51.54±0.53	34
Alanina	64.15±0.63	61.77±1.66	64.04±0.22	
Prolina	30.55±0.63	31.18±0.01	30.65±0.21	
Tirosina	35.96±0.00	36.02±0.03	34.63±0.000	63
Valina	51.28±0.68	49.40±0.25	47.11±0.15	35
Metionina	21.16±0.30	19.26±0.02	19.30±0.12	25
Cistina	16.40±0.00	17.50±0.00	15.37±0.00	
Lisina total	72.09±1.26	72.22±0.14	69.04±1.64	58
Lisina disponible	53.36±0.02	42.62±0.05	54.93±1.22	
Isoleucina	43.32±0.44	40.86±0.19	38.45±0.66	
Leucina	71.57±0.84	70.17±0.41	61.16±5.01	28
Fenilalanina	51.10±0.88	40.88±0.55	36.39±1.35	66
Triptófano	19.61±0.50	17.92±0.50	22.80±0.50	11

*Media de dos determinaciones

** Desviación estándar.

En las cepas INIREB-8 y CDBB-H-896 el puntaje químico fue de 92 y 74% respectivamente, para lisina como único aminoácido limitante; en tanto que en la CDBB-H-897 fue de 93 y 95% para leucina y lisina como primero y segundo limitantes. Es importante mencionar que en el cálculo del puntaje químico se tomó el contenido de lisina disponible y no el de lisina total. El puntaje químico para *Pleurotus ostreatus* calculado con datos de la literatura (2) es de 76% para los aminoácidos azufrados en tanto que para *Pleurotus eous* los limitantes son los aromáticos con 86% de puntaje químico y en esta misma cepa el contenido de lisina es muy alto con un puntaje de 191% (Tabla 2). No se puede generalizar con respecto a las deficiencias de algunos de los aminoácidos en las setas ya que su contenido puede variar aún entre las mismas especies y depende también de otros factores como la cepa, las condiciones de cultivo y el sustrato (1,2).

Digestibilidad in vitro

Los valores de las medias de la digestibilidad in vitro de las tres cepas no mostraron diferencias significativas (p<0.05) y fueron de 68.38±0.81 para la CDBB-H-896 y CDBB-H-897 y de 67.75±0.54% para la INIREB-8. Estas cifras son similares al valor de 67.60% reportado por Levai (25) para *Pleurotus sp* cfr. Florida Type H 7 quien uso para su determinación el mismo método empleado en este trabajo, y se encuentran dentro del intervalo de 63 a 89% de digestibilidad in vitro reportado para *Pleurotus spp* (2). Sin embargo, la digestibilidad de las setas resultó ser menor que la del frijol soya cocido

(87.36%), frijol negro cocido (83.74%), y lenteja cocida (89.17%).

TABLA 2

Puntaje químico de aminoácidos de setas (*Pleurotus ostreatus*) cepa INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 referido al patrón FAO 1985, comparado con datos de la literatura

	INIREB-8 %	CDBB-H-896 %	CDBB-H-897 %	<i>P. ostreatus</i> * %	<i>P. eous</i> * %
Histidina	150	141	140	89(17)	205(39)
Treonina	150	152	151	135(46)	200(68)
Total de aromáticos**	138	121	113	106(67)	86(54)
Valina	146	141	135	157(55)	243(85)
Total de azufrados***	150	147	138	76(19)	128(32)
Lisina	92	74	95	78(45)	191(111)
Isoleucina	154	146	137	150(42)	203(57)
Leucina	108	106	93	103(68)	129(85)
Triptófano	178	162	207	118(13)	127(14)

* Entre paréntesis se indican los mg de aminoácidos por g de proteína cruda corregida Nx4.38

Fuente: Bano y Rajarathnan, 1988

** Tirosina y fenilalanina

*** Cistina y metionina

TABLA 3

Valor proteínico relativo (VPR) de muestras de setas comparado con el de diversos alimentos

Muestra	VPR Media±D.E.
Soya (frijol)	138.00±5.72 ^a
Huevo entero	116.32±5.77 ^b
Soya texturizada	111.26±0.63 ^b
CDBB-H-896	107.85±4.94 ^{bc}
Caseína+0.3% metionina	107.49±1.90 ^{bcd}
INIREB-8	107.21±0.20 ^{bcd}
Leche descremada en polvo	106.82±0.00 ^{bcd}
Albúmina de bovino V	104.12±0.00 ^{cd}
CDBB-H-897	100.96±1.06 ^{de}
Frijol flor de mayo	95.00±5.61 ^{ef}
Arroz con jitomate	93.27±2.77 ^{fg}
Harina de maíz	92.12±0.30 ^{fg}
Frijol negro	90.89±1.73 ^{fg}
Tortilla de maíz	88.63±3.97 ^{fgh}
Pasta para sopa	88.23±11.06 ^{gh}
Lenteja	87.25±8.31 ^{gh}
Haba	83.22±5.46 ^h
Arroz blanco	64.44±3.47 ⁱ

Super índices distintos indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

Valor proteínico relativo (VPR)

Los resultados del VPR de las setas comparados con los de otros alimentos se presentan en la Tabla 3. Ahí se puede observar que en general fueron inferiores y diferentes estadísticamente al del frijol soya que alcanzó un VPR de 138% y al del huevo entero de 116.32. Sin embargo, los VPR de las cepas CDBB-H-896 e INIREB-8 fueron estadísticamente iguales ($p < 0.05$) al de la soya texturizada (111.26%), caseína + metionina (107.49%), albúmina bovina (104.12%) y leche descremada en polvo (106.82%). El VPR de la cepa CDBB-H-897 fue igual estadísticamente al de la caseína más metionina, leche descremada, albúmina bovina, frijol flor de mayo y al del arroz guisado con jitomate, pero superior al de la harina de maíz, frijol negro, tortilla de maíz, pasta para sopa, lenteja, haba y arroz blanco. Se observó en este estudio que el método utilizado clasificó a la soya como la mejor proteína y además, a la albúmina, a la caseína estándar y a la leche descremada en polvo, en un nivel equiparable al obtenido para la proteína de las setas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de este trabajo indican que la mejor de las cepas estudiadas fue la INIREB-8 con un puntaje de 93% con lisina disponible como único aminoácido limitante. En general se puede concluir que las proteínas de las setas tienen un alto valor nutritivo con puntajes por arriba de 70% y contienen todos los aminoácidos esenciales, lo que ayuda a complementar en forma adecuada la proteína de los cereales como el arroz, el trigo y el maíz. Lo anterior aunado al fácil cultivo de estos hongos, sugiere que es altamente recomendable promover el consumo de setas (*Pleurotus ostreatus*), como una alternativa para elevar la calidad de la dieta consumida por la población que basa su alimentación en los cereales.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Angella Sotelo López del Departamento de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su apoyo en el análisis de aminoácidos.

REFERENCIAS

1. Crisan EV, Sands A. Nutritional value. In: Chang ST, Hayes WA, editors. The biology and cultivation of edible mushrooms. New York: Academic Press, 1978:137-167.
2. Bano Z, Rajarathnam S. *Pleurotus* mushrooms. Part II Chemical composition, nutritional value post-harvest physiology, preservation and role as human food. CRC Crit Rev in Food Sci and Nutr 1988;27:87-158.
3. Muhammad W, Sattar A, Khan S. Composition of wild and cultivated mushrooms of Pakistan. Mush J Tropics 1988;27:87-158.

4. Ogawa T, Oka Y, Sasaoka K. Amino acid profiles of common cultivated mushrooms including the identification of N-N- γ -L-glutamyl 3-sulfo-L-alanyl glycine in *Flammulina velutipes*. J Food Sci 1987;52(1):135-136.
5. Hughes DH, Lynch DL, Somers GF. Chromatographic identification of the amino acids and carbohydrates in cultivated mushrooms *Agaricus cammpestris* L. ex Fries. J Agric Food Chem 1958;6:850-853.
6. Sato E, Aoyagi Y, Sugahara T. Contents of free amino acids in mushrooms. Nipp Shokkuhin Kogyo Gakkaishi 1985;32(7):509-521.
7. Alofe FV. Amino acids and trace minerals of three edible mushrooms from Nigeria. J Food Comp Anal 1991;4(2):167-174.
8. Altamura MR, Robins FM, Andreotti RE, Long L Jr., Haseistrom T. Mushroom ninhydrin-positive compounds. Amino acids, related compounds and other nitrogenous substances found in cultivated mushrooms, *Agaricus campestris*. J Agric Food Chem 1967;15:1040-1045.
9. Danell E, Eaker D. Amino acid and total protein content of edible mushrooms, *Cantharullus cibarius* (fries). J Sci Food Agric 1992;60:333-337.
10. Fujihara S, Kasuga A, Aoyagi Y, Sugahara T. Nitrogen-to-protein conversion factors for some common edible mushrooms. J Food Sci 1995;60:1045-1047.
11. Soto-Velazco C, Arias A, Fausto S. Elaboración de inóculos en bolsas de polipapel para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. In: Sociedad Mexicana de Micología editor. Memorias del IV Congreso Nacional de Micología. Tlaxcala, Tlax. México 1991:94.
12. Zadrazil F, Kurtzman RH. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. In Chang ST, Quimio TH, editors. Tropical mushrooms biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982;77-298.
13. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of the AOAC. 15th ed. Arlington, Virginia, USA. K. Herlich (Ed). 1990.
14. Bernarth FR, Venkatasubramanian K. Methods of enzyme immobilization. In: Demain AL, Solomon NA, editors. Manual of Industrial microbiology and biotechnology. Washington: American Society for Microbiology. 1986.
15. Meyers SP, Rutledge JP, Sonu SC. Variability in proximate analysis of different processed shrimp meals. Feedstuffs 1973;45(47):34.
16. Waters Division of Millipore. Silica Analytical Column. Care and use, Manual. Waters Publications, 1991.
17. Millipore Corporation. Waters AccQ. Tag Chemistry package. Instruction Manual. WAT 052 874, REVO. Milford, 1993.
18. Miller EL. Determination of the tryptophan content of feedingstuffs with particular reference to cereals. J Sci Fd Agric 1967;18:381-386.
19. Block RJ, Weiss KW. Estimation of amino acids in protein hydrolyzates by paper chromatography. In: Block RJ, Weiss KW, editors. Amino Acid Handbook. Springfield: Thomas C.C. publisher, 1956:71-109.
20. Hurrel RF, Lerman P, Carpenter KJ. Reactive lysine in foodstuffs as measured by a rapid dye-binding procedure. J Food Sci 1979;44:1221-1227.
21. FAO/WHO/UNU. Expert Consultation Energy & Protein Requirements. WHO Tech. Rep. Ser N° 724. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1985.
22. Hsu HW, Vavak DL, Satterlee LD, Miller GA. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. J Food Sc 1977;42:1269-1273.
23. Baker H, Frank O, Rusoff I, Morck RA, Hunter SH. Protein quality of foodstuffs determined with *Tetrahymena thermophila* and rat. Nutr Rep Inter 1978;17:525-536.
24. Montgomery DG. Diseño y análisis de experimentos. México: Grupo Editorial Iberoamericana, 1991.
25. Levai J. Nutritional and utilizable value of some cultivated mushrooms. Mushroom Sci 1989;XII:295-304.

Recibido: 27-08-1997

Aceptado: 14-12-1998,

Notas

I Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos “Tecnologías Sostenibles en la Industria de Alimentos”

Fecha: 19,20 y 21 de julio, 1999.

Lugar: San José, Costa Rica

Organizadores: CITA-Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. ASCOTA-Asociación Costarricense de Tecnología Alimentaria

Temario de sesiones técnicas:

- *Aseguramiento de la calidad en la producción de alimentos.* HACCP. ISO 9000. ISO 14000. Inocuidad de los alimentos.
- *Tendencias actuales en el desarrollo de productos* Tecnologías limpias. Aprovechamiento de desechos. Reducción y tratamiento de desechos. Empaque y vida útil de alimentos. Procesamiento y conservación de alimentos. Aspectos nutricionales.
- *Productividad y competitividad en la industria alimentaria* Análisis de mercado. Satisfacción del consumidor. Normalización y legislación alimentaria. Comercialización.
- *Producción sostenible de alimentos* Productos orgánicos. Seguridad y disponibilidad de alimentos. Proceso biotecnológicos. Eco-embalaje.
- *Análisis de alimentos en el marco de la globalización* Evaluación sensorial, química y microbiológica. Etiquetado nutricional. Aseguramiento de calidad en laboratorios.

Modalidades de presentación: Presentaciones orales y poster. Idiomas: El español será el idioma oficial del Congreso. Se recibirán ponencias en idioma inglés. Habrá traducción simultánea durante las sesiones plenarias.

Fecha límite de presentación de ponencias: 3 de febrero, 1999.

Para más información dirigirse a: Congreso, Fax: 00506-253-3762/2800352/2259885. Correo electrónico: citaucr@cariari.ucr.ac.cr

XIX IVACG Meeting Vitamin A and other Micronutrients Biologic Interactions and Integrated Interventions Durban, South Africa 8-11 March 1999

Program Overview

The XIX IVACG Meeting program includes 165 presentations representing the collaborative efforts of many

individuals and organization. These presentations will challenge participants to refine techniques and approaches to eliminate vitamin A deficiency. During poster sessions, plenary sessions, discussion periods, and social events, you will have an opportunity to share your perspectives and gain practical insights into these complex issues.

XIX IVACG Meeting events begin on Sunday, 7 March, with early registration continues and meeting sessions begin on Monday, 8 March. The meeting concludes at 1700 on Thursday, 11 March.

IVACG Secretariat: ILSI Human Nutrition Institute. 1126 Sixteenth Street, NW, Washington, DC 20036-4810 USA. Phone: 202-659-9024; Fax: 202-659-3617; Email: omni@ilsi.org

Local Organizing Committee: PO Box 3024; Durban 4000 South Africa, Phone: 27-31-305-6161; Fax: 27-31-304-4939; Email: carolher@sasa.org.za

INACG Symposium

The International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG) will host a one-day symposium on 12 March 1999 in Durban, South Africa. This meeting follows the XIX International Vitamin A Consultative Group (IVACG) Meeting scheduled for 8-11 March 1999.

The INACG symposium will include presentations from invited speakers and poster sessions. Up to 40 poster presentations will be selected from submitted abstracts on the following topics:

- Biomedical approaches to reduce iron deficiency and anemia, including daily vs weekly iron supplementation, malaria control, and inclusion of other micronutrients, such as vitamin A, in iron supplements.
- Food and community approaches to reduce iron deficiency and anemia.
- Methods for assessing iron deficiency and anemia.
- Impact of iron deficiency and anemia on human health and economic development.

To receive a poster application or other information about the INACG symposium, contact the INACG Secretariat by Phone: 202-659-9024; Facsimile: 202-659-3617, or Email: OMNI@ilsi.org. Financial assistance to attend the INACG symposium is not available.

Congreso Conjunto SEN/NS
Regulación del Peso Corporal y Obesidad
Aspectos Metabólicos y Clínicos
Universidad de Navarra,
Pamplona 8-11 Septiembre 1999

Información general

Enviar 8 copias dirigidas al Nutrition Society Secretary de la Oficina de Londres y especificar "Abstract NS/SEN Meeting". El abstract debe ajustarse a los "Proceedings Editor's Directions".

El folleto del programa de Comunicaciones Orales, Porters y Abstracts será enviado con el acuse de recibo de las inscripciones, en el mes de Agosto.

Información sobre comunicaciones: Oficina de resúmenes, 10 Cambridge Court, 210 Shepherds Bush Road, London W6 7NJ, United Kingdom. Telephone: +44 171 602 0228; Facsimile: +44 171 602 1756.

Comité Local: Dr. J Alfredo Martínez, Dept. Physiology & Nutrition, Universidad de Navarra 31008 Pamplona, España. Telephone: +34-948-425600; Facsimile: +34-948-425649; e-mail: jalfmtz@unav.es

CARTA DE BRASÍLIA

**Carta aberta aos governantes e à sociedade brasileira
 Pelo Direito Constitucional à Alimentação Saudável**

Os Nutricionistas, demais Profissionais e Estudantes de Nutrição participantes do XV Congresso Brasileiro de Nutrição, reunidos em Brasília, DF, de 22 a 26 de agosto de 1998, publicamente denunciam:

O Quadro de Insegurança Alimentar que ainda é um grave problema no Brasil, exige dos governos brasileiros Urgência nas medidas estratégicas e na retomada dos compromissos firmados nas diversas Conferências Internacionais realizadas com o objetivo de solucionar esta questão o em especial na I Conferência de Segurança Alimentar, realizada no Brasil, em julho de 1994, e reafirmada pelo governo brasileiro na Reunião da Cúpula Mundial de Alimentação, realizada em Roma, em novembro de 1996.

Para prevenir e combater a fome crônica, a desnutrição proteico-calórica, o sobrepeso e a obesidade, as carências nutricionais de ferro, iodo, vitamina A, que ainda prevalecem nas diversas faixas etárias econômicas da população brasileira, são necessários Planos e Programas de Nutrição eficazes dos governos federal, estaduais e municipais, em parceria com as equipes multiprofissionais, transdisciplinares e as entidades representativas dos cidadãos de todo o país.

A Saúde e a Nutrição da população brasileira também exigem prioridade na agenda e na vontade política dos governantes brasileiros.

Além disso, para que se possa atingir resultados práticos

para a promoção da Nutrição do povo brasileiro, recomendamos:

- que as autoridades da área econômica considerem efetivamente o impacto que as medidas por elas adotadas provocam sobre a Segurança Alimentar e Nutricional Sustentável do país;
- que as áreas de planejamento do governo federal adotem e aloquem recursos para uma estratégia de desenvolvimento social que permita reduzir as desigualdades e promovam o desenvolvimento econômico sustentável no país;
- que governos e sociedade continuem combatendo as práticas clientelistas e eleitoreiras do poder público, impedindo que os Programas Sociais como o PRODEA (Programa de Distribuição Emergencial de Alimentos), Programa de Combate à Desnutrição e a Merenda Escolar sejam utilizados como instrumentos de submissão dos beneficiados;

A impossibilidade Ética e Moral de aceitarmos conviver com a fome e a má-nutrição em um país como a nosso, deve considerar e atualizar as recomendações da I Conferência Nacional de Segurança Alimentar, resultado de um grande movimento social instalado no país, determinando a criação do CONSEA - Conselho Nacional de Segurança Alimentar em 1994 e que aponta para a adoção urgente das seguintes medidas estratégicas:

- a garantia do direito à alimentação adequada a todos os habitantes do país como um direito inalienável, reconhecido na Carta Magna Brasileira;
- a adoção governo federal, de uma política de alimentação e nutrição, que contemple dentre outros, os seguintes itens:
 - * a promoção do desenvolvimento rural integrado e sustentável, com ênfase para a agricultura familiar e a agroecologia;
 - * o desenvolvimento de modelos alternativos de geração de renda com estímulo à criação de pequenas empresas, ao associativismo, ao cooperativismo e as iniciativas de Crédito Popular;
 - * a promoção de Política de abastecimento alimentar popular, com preços justos em áreas urbanas de baixa renda, articulando o produtor, pequenos varejistas e consumidor;
 - * a implementação de iniciativas sociais a favor de todos os excluídos garantindo as condições de desenvolver atividades produtivas;
 - * a promoção de práticas alimentares e estilos de vida saudáveis, através de campanhas na mídia que obedeçam as Normas para Comercialização de Alimentos Industrializados, que deverão ser criadas com o objetivo de impedir o marketing danoso,

- abusivo e questionável em relação a alimentação saudável;
- * a garantia legal da qualidade biológica, nutricional, sanitária e tecnológica dos alimentos para todos os consumidores;
 - * a elaboração de um Código de Conduta sobre o Direito Humano Básico à alimentação adequada;
 - * o estabelecimento de uma Convenção Global de Soberania e Segurança Alimentar e Nutricional Sustentável;
 - * o fortalecimento de Fórum Global de Segurança Alimentar e Nutricional Sustentável.

Como recomendações gerais, reforçamos:

- a garantia do acesso universal, gratuito e igualitário à Educação e à Saúde como um dever do Estado e um direito de todos os cidadãos.

Brasília, 26 de agosto de 1998

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO
CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS
FEDERAÇÃO NACIONAL DE NUTRICIONISTAS

Información para los autores

Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas ¹

Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas ²

En enero de 1978, un pequeño grupo de directores de revistas médicas generales se reunieron en Vancouver, Canadá, para fijar pautas con respecto a la presentación de los manuscritos enviados a ellas. El grupo, que se ha ampliado y actualmente es conocido como el Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (o también como el Grupo de Vancouver), se ha venido reuniendo cada año desde entonces y sus inquietudes se han hecho más generales. El comité ha elaborado cuatro ediciones de los *Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas*; la presente edición, que es la cuarta, fue ligeramente enmendada en enero de 1993³.

RESUMEN DE LOS REQUISITOS

El manuscrito se mecanografiará a doble espacio, incluidos la página del título (página inicial, portada), el resumen, el texto, los agradecimientos, las referencias, los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones.

Cada componente del manuscrito empezará en página aparte,

siguiendo esta secuencia: página del título; resumen y palabras clave; texto; agradecimientos; referencias; cuadros (cada uno, junto con el título y las notas al pie, en página aparte); y pies o epígrafes de las ilustraciones.

Las ilustraciones se presentarán en forma de impresiones fotográficas de buena calidad, en papel satinado, sin montar y generalmente de 127 x 173 mm, sin exceder de 203 x 254 mm.

Las copias del manuscrito y de las ilustraciones en el número requerido (véanse las instrucciones de la revista) se remitirán en un sobre de papel resistente. El manuscrito irá acompañado de una carta explicatoria, según se describe más adelante en "Presentación del manuscrito a la revista", y de los permisos necesarios para reproducir material ya publicado o para usar ilustraciones en las que se pueda identificar a alguna persona.

Síganse las instrucciones de la revista con respecto a la cesión de los derechos de autor. Los autores conservarán copia de todo lo enviado.

PUBLICACION PREVIA Y DUPLICADA

La mayoría de los directores de revista no desean considerar para publicación un manuscrito acerca de un trabajo que ya se ha dado a conocer en un artículo publicado o que se ha descrito en un artículo propuesto o aceptado para publicación en otra parte, ya sea un medio impreso o electrónico. Por lo general, esta norma no impide considerar un artículo rechazado por otra revista o una comunicación completa que sigue a la publicación, por lo común bajo la forma de un resumen, de un informe preliminar. Tampoco impide considerar un artículo presentado en una reunión científica si éste no aparece íntegramente en las actas de la reunión o una publicación semejante. Las informaciones periodísticas acerca de la reunión no se considerarán en general como infracciones de esta regla, pero no habrán de ampliarse mediante datos suplementarios o copias de los cuadros o las ilustraciones. Cuando se propone un artículo para publicación, el autor está obligado a informar plenamente al director de la revista acerca de cualquier presentación del documento a otras revistas o cualquier informe anterior que pudiera considerarse publicación previa o duplicada de un mismo trabajo o de uno muy semejante. Junto con el manuscrito se incluirán copias de los documentos pertinentes para ayudar al director a decidir la manera de hacer frente a este asunto.

Rara vez se justifica la publicación múltiple, que se define como el acto de publicar más de una vez los mismos resultados

¹ Versión española basada en: *International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals.* JAMA 1993;269:2282-6.

Este documento no está protegido por derechos de autor. Puede copiarse o reimprimirse sin autorización, siempre y cuando se haga sin fines de lucro.

Las consultas y observaciones deben dirigirse a Kathleen Case, Secretariat Office, Annals of Internal Medicine, Independence Mall West, Sixth Street at Race, Philadelphia, PA 19106-1572.

Traducción: Dr. Gustavo A. Silva, traductor y redactor médico, miembro de la American Medical Writers Association, el Council of Biology Editors y la European Association of Science Editors. Dirección postal: 5313 King Charles Way, Bethesda, MD 20814, Estados Unidos de América.

² *Actualmente se hallan representadas en el comité las siguientes revistas y publicaciones: Annals of Internal Medicine, British Medical Journal, Canadian Medical Association Journal, The Journal of the American Medical Association, The Lancet, The Medical Journal of Australia, The New England Journal of Medicine, New Zealand Medical Journal, Tidsskrift for den Lægeforening, The Western Journal of Medicine e Index Medicus.*

³ *Artículo original publicado en el Bol of Sanit Panam 116(2):146-59, 1994.*

de un estudio, aunque la redacción se cambie. Una posible justificación es la publicación secundaria en otro idioma, siempre y cuando se cumplan las siguientes condiciones:

1. Se informará cabalmente a los directores de las dos revistas involucradas; el director de la publicación secundaria tendrá en su poder una fotocopia, reimpresso o manuscrito de la versión primaria.
2. Se respetará la precedencia de la publicación primaria dejando transcurrir un intervalo de por lo menos dos semanas antes de sacar a la luz la versión secundaria.
3. El artículo secundario estará dirigido a un grupo diferente de lectores y no será simplemente una traducción del primario; incluso, a menudo basta con una versión resumida.
4. La versión secundaria reflejará fielmente los datos y las interpretaciones de la primaria.
5. Mediante una nota colocada al pie de la primera página de la versión secundaria, se informará a los lectores, los colegas de los autores y los organismos de documentación que el artículo se ha editado y se destina a un público nacional en paralelo con la versión primaria, basada en los mismos datos e interpretaciones. Este podría ser un texto apropiado para dicha nota: "El presente artículo está basado en un estudio que se dio a conocer primero en (título de la revista y referencia completa)".

Los directores no aceptarán la publicación múltiple que discripe de la definición anterior. Si los autores transgreden esta regla, tendrán que atenerse a las medidas editoriales del caso.

La divulgación preliminar, generalmente por conducto de los medios de comunicación de masas, de la información científica contenida en un artículo ya aceptado pero aún sin publicar representa una infracción de las normas de muchas revistas. En contadas ocasiones, y sólo mediante previo acuerdo con el director, puede aceptarse la diseminación preliminar de datos; por ejemplo, cuando se trata de precaver a la gente contra ciertos riesgos para la salud pública.

PREPARACION DEL MANUSCRITO

Mecanografíese o imprímase el manuscrito en papel bond blanco de 216 x 279 mm o de la medida estándar ISO A4 (212 x 297 mm), con márgenes de por lo menos 25 mm. Escríbase solamente sobre una cara del papel. Utilícese doble espacio a lo largo de todo el manuscrito o impreso de computadora, incluidos la página del título, el resumen, el texto, los agradecimientos, las referencias, cada uno de los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones. Cada uno de los siguientes componentes comenzará en hoja aparte: página del título, resumen y palabras clave, texto, agradecimientos, referencias, cada uno de los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones. Numérense las páginas en forma consecutiva, empezando por la del título. Sobre el ángulo superior o inferior derecho de cada página anótese el número correspondiente.

PAGINA DEL TITULO

La primera página contendrá: a) el título del artículo, que será conciso pero informativo; b) nombre y apellido(s) de cada autor, acompañados de sus grados académicos más importantes y su

afiliación institucional; c) nombre del departamento o departamentos y la institución o instituciones a los que se debe atribuir el trabajo; d) declaraciones de descargo de responsabilidad, si las hay; e) nombre y dirección del autor que se ocupará de la correspondencia relativa al manuscrito; f) nombre y dirección del autor a quien se dirigirán las solicitudes de separatas, o nota informativa de que los autores no las proporcionarán; g) origen del apoyo recibido en forma de subvenciones, equipo o medicamentos; y h) título abreviado (titulillo) que no pase de 40 pulsaciones (contando caracteres y espacios), el cual se colocará, debidamente rotulado, en la última línea de la página inicial.

AUTORIA

Todas las personas designadas como autores habrán de cumplir con ciertos requisitos para tener derecho a la autoría. Cada autor debe haber participado en el trabajo en grado suficiente para asumir responsabilidad pública por su contenido.

Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial por lo que se refiere a: a) la concepción y el diseño del estudio, o el análisis y la interpretación de los datos; b) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte importante de su contenido intelectual; y c) la aprobación final de la versión que será publicada. Los requisitos a, b y c tendrán que cumplirse siempre. La participación que consiste meramente en conseguir financiamiento o recoger datos no justifica que se le conceda a nadie el crédito de autor. Tampoco basta con ejercer la supervisión general del grupo de investigación. Toda parte del artículo que sea decisiva con respecto a las conclusiones principales deberá ser responsabilidad de por lo menos uno de los autores.

En un artículo de autor corporativo (colectivo) se especificará quiénes son las personas principales que responden del documento; a los demás individuos que colaboraron en el trabajo se les concederá un reconocimiento por separado (véase "Agradecimientos").

Los directores de revista podrán solicitar a los autores que justifiquen la asignación de la autoría.

Cada vez con más frecuencia, los ensayos multicéntricos se atribuyen a un autor corporativo. Todos los miembros del grupo que sean nombrados como autores, bien sea en la línea a continuación del título o en una nota a pie de página, deben satisfacer plenamente los criterios de autoría definidos en los *Requisitos uniformes*. Los miembros del grupo que no los satisfagan deben ser mencionados, con su autorización, en la sección de agradecimientos o en un apéndice (véase "Agradecimientos").

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

La segunda página incluirá un resumen (que no excederá las 150 palabras de extensión si es un resumen ordinario o las 250 si es uno estructurado). En él se indicarán los propósitos del estudio o investigación; los procedimientos básicos (la selección de los sujetos de estudio o los animales de laboratorio, los métodos de observación y analíticos); los resultados más importantes (proporcionense datos específicos y, de ser posible, su significación estadística); y las conclusiones principales. Hágase hincapié en los aspectos nuevos o importantes del estudio o las observaciones.

A continuación del resumen agréguese, debidamente rotuladas, de 3 a 10 palabras o frases cortas clave que ayuden a los indizadores a clasificar el artículo, las cuales se publicarán junto

con el resumen. Utilícense para este propósito los términos de la lista *Medical Subject Headings* (MeSH) [Encabezamientos de materia médica] del *Index Medicus*; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en los MeSH, podrán usarse las expresiones corrientes.

TEXTO

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que llevan estos encabezamientos: introducción, métodos, resultados y discusión. En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas divisiones a fin de hacer más claro el contenido, sobre todo en las secciones de resultados y discusión. Es probable que otro tipo de artículos —como los informes de casos, las revisiones y los editoriales— exijan otra estructura. Para mayor orientación, los autores deberán consultar la revista en la que pretenden publicar.

Introducción

Expresé el propósito del artículo. Resuma el fundamento lógico del estudio u observación. Mencione las referencias estrictamente pertinentes, sin hacer una revisión extensa del tema. No incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.

Métodos

Describa claramente la forma como se seleccionaron los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos los testigos). Identifique los métodos, aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Proporcione referencias de los métodos acreditados, incluidos los de índole estadística (véanse más adelante); dé referencias y explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos; describa los métodos nuevos o sustancialmente modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos los medicamentos y productos químicos utilizados, sin olvidar nombres genéricos, dosis y vías de administración.

Ética

Cuando informe sobre experimentos en seres humanos, señale si los procedimientos seguidos estuvieron de acuerdo con las normas éticas del comité (institucional o regional) que supervisa la experimentación en seres humanos o con la Declaración de Helsinki de 1975, enmendada en 1983. No use el nombre, las iniciales ni el número de clave hospitalaria de los pacientes, especialmente en el material ilustrativo. Cuando dé a conocer experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución, las del Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos o cualquier ley nacional acerca del cuidado y el uso de animales de laboratorio.

Estadística

Describa los métodos estadísticos con detalle suficiente para que el lector versado en el tema y que tenga acceso a los datos

originales pueda verificar los resultados informados. Siempre que sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de error o incertidumbre de la medición (por ej., intervalos de confianza). No dependa exclusivamente de las pruebas de comprobación de hipótesis estadísticas, tales como el uso de los valores *P*, que no transmiten información cuantitativa importante. Analice la elegibilidad de los sujetos de experimentación. Proporcione los detalles del proceso de aleatorización. Describa los medios utilizados para enmascarar las observaciones (método ciego), indicando los resultados que dieron. Informe sobre las complicaciones del tratamiento. Especifique el número de observaciones. Mencione las pérdidas de sujetos de observación (por ej., las personas que abandonan un ensayo clínico). Siempre que sea posible, las referencias sobre diseño del estudio y métodos estadísticos serán de trabajos vigentes (indicando el número de páginas), más bien que de los artículos originales donde se describieron por vez primera. Especifique cualquier programa de computación de uso general que se haya empleado.

Las descripciones generales de los métodos utilizados deben aparecer en la sección de métodos. Cuando resuma los datos en la sección de resultados, especifique los métodos estadísticos que se emplearon para analizarlos. Limite el número de cuadros y figuras al mínimo necesario para explicar el tema central del artículo y para evaluar los datos en que se apoya. Use gráficas en vez de los cuadros subdivididos en muchas partes; no duplique los datos en las gráficas y los cuadros. Evite el uso no técnico de términos de la estadística, tales como "al azar" (que entraña el empleo de un método de aleatorización), "normal", "significativo", "correlación" y "muestra". Defina los términos, las abreviaturas y la mayor parte de los símbolos estadísticos.

Resultados

En el texto, los cuadros y las ilustraciones, presente los resultados siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto los datos de los cuadros o las ilustraciones; destaque o resuma tan solo las observaciones importantes.

Discusión

Haga hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de ellos. No repita con pormenores los datos u otra información ya presentados en las secciones de introducción y resultados. Explique en la sección de discusión el significado de los resultados y sus limitaciones, incluidas sus consecuencias para la investigación futura. Relacione las observaciones con otros estudios pertinentes. Establezca el nexo de las conclusiones con los objetivos del estudio, pero absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que no estén completamente respaldadas por los datos. No reclame ningún tipo de precedencia ni mencione trabajos que no estén terminados. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales. Cuando sea apropiado, puede incluir recomendaciones.

AGRADECIMIENTOS

En un lugar adecuado del artículo (como nota al pie de la primera página o como apéndice del texto; véanse los requisitos de la revista) una o varias declaraciones especificarán a las colaboraciones que deben ser reconocidas pero que no justifican la

autoría, tales como el apoyo general del jefe del departamento; b) la ayuda técnica recibida; c) el agradecimiento por el apoyo financiero y material, especificando la índole del mismo; d) las relaciones financieras que puedan suscitar un conflicto de intereses.

Las personas que colaboraron intelectualmente pero cuya participación no justifica la autoría pueden ser citadas por su nombre, añadiendo su función o tipo de colaboración; por ejemplo, "asesor científico", "revisión crítica de la propuesta para el estudio", "recolección de los datos", "participación en el ensayo clínico". Estas personas deberán conceder su permiso para ser nombradas. Los autores se responsabilizan de obtener la autorización por escrito de las personas mencionadas por su nombre en los agradecimientos, pues los lectores pueden inferir que estas respaldan los datos y las conclusiones.

El reconocimiento por la ayuda técnica recibida figurará en un párrafo separado de los testimonios de gratitud por otras contribuciones.

REFERENCIAS

Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. En este, en los cuadros y en las ilustraciones, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Las referencias citadas solamente en cuadros o ilustraciones se numerarán siguiendo una secuencia que se establecerá por la primera mención que se haga en el texto de ese cuadro o esa figura en particular.

Emplee el estilo de los ejemplos que aparecen más adelante, los cuales están basados en el formato que la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos usa en el *Index Medicus*. Abrevie los títulos de las revistas de conformidad con el estilo utilizado en dicha publicación. Consulte la *List of Journals Indexed in Index Medicus* [Lista de revistas indizadas en Index Medicus], que se publica anualmente como parte del número de enero y como separata.

Absténgase de utilizar los resúmenes como referencias. Tampoco cite como referencias las "observaciones inéditas" y las "comunicaciones personales". En cambio, puede usted insertar en el texto (entre paréntesis) las referencias a comunicaciones escritas, no verbales. Asimismo, incluya en las referencias los artículos aceptados aunque todavía no estén publicados; en este caso, indique el título de la revista y agregue "En prensa". La información sobre manuscritos presentados a una revista pero que aún no han sido aceptados cítela en el texto como "observaciones inéditas" (entre paréntesis).

Los autores verificarán las referencias cotejándolas contra los documentos originales.

Se presentan a continuación una serie de ejemplos de formas correctas de referencias.

Artículos de revistas científicas

1. **Artículo ordinario (Inclúyase el nombre de todos los autores cuando sean seis o menos; si son siete o más, anótese sólo el nombre de los seis primeros y agréguese "et al."):**

4 Evidentemente, por "extranjero" se entiende aquí en relación con el idioma inglés, pues los ejemplos de referencias bibliográficas se han trasladado directamente del original, sin adaptarlas. (N. del T.).

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrograph study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980 Aug;79(2):311-4.

Como opción, si una revista utiliza la paginación continua, lo largo de un volumen, podrán omitirse el mes y el número.

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrograph study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4.

Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Li LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.

2. **Autor corporativo:**

The Royal Marsden Hospital Bone-marrow Trans-plantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

3. **No se indica el nombre del autor:**

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.

4. **Artículo en idioma extranjero⁴:**

Massone L, Borghi S, Pestarino A, Piccini R, Gambini C. Localisations palmaires purpuriques de la dermatite herpétiforme. *Ann Dermatol Venerol* 1987;114:1545-7.

5. **Suplemento de un volumen:**

Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 Suppl 5:75-8.

6. **Suplemento de un número:**

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Paine SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

7. **Parte de un volumen:**

Hanly C. Metaphysics and innateness: a psycho-analytic perspective. *Int J Psychoanal* 1988;69(Pt 3):389-99.

8. **Parte de un número:**

Edwards L, Meyskens F, Levine N. Effect of oral isotretinoin on dysplastic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1989;20(2 Pt 1):257-60.

9. **Número sin volumen:**

Baumeister AA. Origins and control of stereotyped movements. *Monogr Am Assoc Ment Defic* 1978;(3):353-84.

10. **Sin número ni volumen:**

Danoek K. Skiing in and through the history of medicine. *Nord Medicinhist Arsb* 1982:86-100.

11. **Paginación en números romanos:**

Ronne Y. Ansvarsfall. Blodtransfusion till fel patient. *Vardfacket* 1989;13:XVI-XXVII.

12. **Indicación del tipo de artículo, según corresponda:**

Spargo PM, Manners JM. DDAVP and open heart surgery [letter]. *Anaesthesia* 1989;44:363-4.

Fuhrman SA, Joiner KA. Binding of the third component of complement C3 by *Toxoplasma gondii* [abstract]. *Clin Res* 1987;35:475A.

13. **Artículo que contiene una retractación:**
Shishido A. Retraction notice: Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retraction of Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. In: *Jpn J Med Sci Biol* 1979;32:53-65]. *Jpn J Med Sci Biol* 1980;33:235-7.
14. **Artículo retirado por retractación:**
Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retracted by Shishido A. In: *Jpn J Med Sci Biol* 1980;33:235-7]. *Jpn J Med Sci Biol* 1979;32:53-65.
15. **Artículo que contiene un comentario sobre otro trabajo:**
Piccoli A, Bossatti A. Early steroid therapy in IgA neuropathy: still an open question [comment]. *Nephron* 1989;51:289-91. Comment on: *Nephron* 1988;48:12-7.
16. **Artículo que ha sido comentado en otro trabajo:**
Kobayashi Y, Fujii K, Hiki Y, Tateno S, Kurokawa A, Kamiyama M. Steroid therapy in IgA nephropathy: a retrospective study in heavy proteinuric cases [see comments]. *Nephron* 1988;48:12-7. Comment in: *Nephron* 1989;51:289-91.
17. **Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas:**
Schofield A. The CAGE questionnaire and psychological health [published erratum appears in *Br J Addict* 1989;84:701]. *Br J Addict* 1988;83:761-4.

Libros y otras monografías

18. **Individuos como autores:**
Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2nd rev ed. London: S Paul, 1986.
19. **Directores o compiladores como autores:**
Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlag, 1988.
20. **Organización como autor y editor:**
Virginia Law Foundation. The medical and legal implications of AIDS. Charlottesville: The Foundation, 1987.
21. **Capítulo de libro:**
Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974:457-72.
22. **Actas de conferencias:**
Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.
23. **Artículo presentado a una conferencia:**
Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, editors. *Indoor air and human health. Proceeding of the Seventh Life Sciences Symposium*; 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985:69-78.
24. **Informe científico o técnico:**
Akutsu T. Total heart replacement device. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Heart and Lung Institute;

1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-69-2185-4.

25. **Tesis doctoral:**
Youssef NM. School adjustment of children with congenital heart disease [dissertation]. Pittsburgh (PA): Univ of Pittsburgh, 1988.
26. **Patente:**
Harred JF, Knight AR, McIntyre JS, inventors. Dow Chemical Company, assignee. Epoxidation process. US patent 3,654,317. 1972 Apr 4.
- Otros trabajos publicados**
27. **Artículo de periódico:**
Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. *The Washington Post* 1989 Aug 7;Sect A:2(col 5).
28. **Material audiovisual:**
AIDS epidemic the physician's role [videorecording]. Cleveland (OH): Academy of Medicine of Cleveland, 1987.
29. **Archivo de computadora:**
Renal system [computer program]. MS-DOS version. Edwardsville (KS): Medi-Sim, 1988.
30. **Documentos legales:**
Toxic Substances Control Act: Hearing on S776 Before the Subcomm. on the Environment of the Senate Comm. on Commerce, 94th Congr., 1st Sess. 343 (1975).

31. **Mapas:**
Scotland [topographic map]. Washington: National Geographic Society (US), 1981.
32. **Libro de la Biblia:**
Ruth 3:1-18. The Holy Bible. Authorised King James version. New York: Oxford Univ Press, 1972.
33. **Diccionarios y obras de consulta semejantes:**
Ectasia. Dorland's illustrated medical dictionary. 27th ed. Philadelphia: Saunders, 1988:527.
34. **Obras clásicas:**
The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. Londond: Rex, 1973.

Trabajos inéditos

35. **En prensa:**
Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. *Science*. In press.

CUADROS

Mecanografía o imprima cada cuadro a doble espacio y en hoja aparte. No presente los cuadros en forma de impresiones fotográficas. Numérelos consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada uno. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilídense los símbolos siguientes en la secuencia que se indica: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡,

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como

la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros.

Cerciórese de que cada cuadro sea citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde.

Incluir un número excesivo de cuadros en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto.

Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para ser publicados, queden depositados en un servicio de archivo, como el National Auxiliary Publications Service (NASP) [Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares] en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Sea como fuere, dichos cuadros se presentarán junto con el artículo.

ILUSTRACIONES (FIGURAS)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan $127 \infty 173$ mm, sin exceder de $203 \infty 254$ mm. Las letras, números y símbolos serán claros y uniformes en todas las ilustraciones; tendrán, además, un tamaño suficiente para que sigan siendo legibles incluso después de la reducción necesaria para publicarlas. Los títulos y las explicaciones detalladas se incluirán en los pies o epígrafes, no sobre las propias ilustraciones.

Al reverso de cada figura pegue una etiqueta de papel que lleve anotados el número de la figura, el nombre del autor y cuál es la parte superior de la misma. No escriba directamente sobre el dorso de las figuras ni las sujete con broches para papel, pues se rompen y quedan marcadas. Las figuras no se doblarán ni se montarán sobre el cartón.

Las fotomicrografías incluirán en sí mismas un indicador de la escala. Los símbolos, flechas y letras usados en éstas contrastarán claramente con el fondo.

Si se usan fotografías de personas, éstas no deberán ser identificables; de lo contrario, habrá que anexar un permiso por escrito para poder utilizarlas.

Las figuras se numerarán en forma consecutiva de acuerdo con su primera mención en el texto. Si la figura ya fue publicada, se reconocerá la fuente original y se presentará la autorización por escrito que el titular de los derechos de autor concede para reproducirla. Este permiso es necesario, independientemente de quién sea el autor o la editorial; la única salvedad son los documentos considerados como de dominio público.

En el caso de las ilustraciones en color, averigüe si la revista necesita negativos, transparencias o impresiones fotográficas. La inclusión de un diagrama en el que se indique la parte de la fotografía que debe reproducirse puede resultar útil a la redacción. Algunas revistas publican ilustraciones en color únicamente si el autor paga el costo extra.

Pies o epígrafe de las ilustraciones

Los pies o epígrafes de las ilustraciones se mecanografiarán o imprimirán a doble espacio, comenzando en hoja aparte e identificándolos con los números arábigos correspondientes. Cuando se utilicen símbolos, flechas, números o letras para referirse a ciertas partes de las ilustraciones, será preciso identificar y aclarar el significado de cada uno en el pie o epígrafe. En las fotomicrografías habrá que explicar la escala y especificar el método de tinción.

UNIDADES DE MEDIDA

Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se expresarán en unidades del sistema métrico decimal (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos y submúltiplos.

Las temperaturas se consignarán en grados Celsius. Los valores de presión arterial se indicarán en milímetros de mercurio.

Todos los valores hemáticos y de química clínica se presentarán en unidades del sistema métrico decimal y de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). La redacción de la revista podrá solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores agreguen unidades alternativas o distintas de las del SI.

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

Utilice únicamente abreviaturas ordinarias. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura, ésta irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

PRESENTACION DEL MANUSCRITO A LA REVISTA

Envíe por correo el número requerido de copias del manuscrito en un sobre de papel resistente; si es necesario, proteja las copias y las figuras metiéndolas entre dos hojas de cartón para evitar que las fotografías se doblen durante la manipulación postal. Meta las fotografías y transparencias en su propio sobre de papel resistente.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de presentación que proporcione: a) información acerca de la publicación previa o duplicada, la presentación del manuscrito a otra revista o la publicación de cualquier parte del trabajo, según lo expresado en líneas arriba; b) una manifestación de las relaciones financieras o de otro tipo que pudieran desembocar en un conflicto de intereses; c) una declaración de que el manuscrito ha sido leído y aprobado por todos los autores, que se ha cumplido con los requisitos de la autoría expuestos anteriormente en el presente documento y, más aún, que cada uno de los autores cree que el manuscrito representa un trabajo honrado; y d) el nombre, la dirección y el número telefónico del autor corresponsal, quien se encargará de comunicarse con los demás autores en lo concerniente a las revisiones y a la aprobación final de las pruebas de imprenta. La carta incluirá cualquier información suplementaria que pueda resultar útil para el director, tal como el tipo de artículo que el manuscrito representa para esa revista en particular y si el autor (o los autores) estaría(n) dispuesto(s) a sufragar el costo de reproducir las ilustraciones en color.

El manuscrito se acompañará de copias de los permisos concedidos para reproducir material ya publicado, para usar ilustraciones o revelar información personal delicada sobre individuos que puedan ser identificados, o para nombrar a ciertas personas por su colaboración.

MANUSCRITOS EN DISQUETE

Tratándose de artículos que están cercanos a la aceptación final, algunas revistas piden que los autores proporcionen los manuscritos en forma electrónica (en disquetes) y pueden aceptar una variedad de formatos de procesamiento de textos o archivos (también llamados "ficheros") de texto (ASCII).

Al presentar disquetes, los autores deben:

1. Cerciorarse de incluir un impreso de la versión del manuscrito en disquete.
2. Incluir en el disquete solamente la versión más reciente del manuscrito.
3. Poner muy claramente el nombre del archivo.
4. Rotular el disquete con el formato y el nombre del archivo.
5. Facilitar información sobre el software y el hardware empleados.

En las instrucciones de la revista dirigidas a los autores, éstos deben consultar cuáles son los formatos que se aceptan, las convenciones para denominar los archivos y disquetes, el número de copias que han de enviarse, y otros detalles del caso.

Revistas participantes

Las revistas que han notificado al Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas su disposición a que se les envíen manuscritos preparados de conformidad con las versiones anteriores de los Requisitos uniformes del Comité mencionan este hecho en sus instrucciones a los autores. La lista completa de ellas puede solicitarse a la Oficina de la Secretaría en *Annals of Internal Medicine*.

WWW. *Kellogg's* -latino.com

¡Entra al mundo de la nutrición...

ahora en español y portugués!

¡En Kellogg's seguimos cumpliendo nuestro compromiso con la nutrición! Por eso ahora lanzamos al ciberespacio una página de internet www.kelloggs-latino.com en la que los profesionales de la salud y los consumidores encontrarán información actualizada de lo más relevante sobre salud y nutrición.

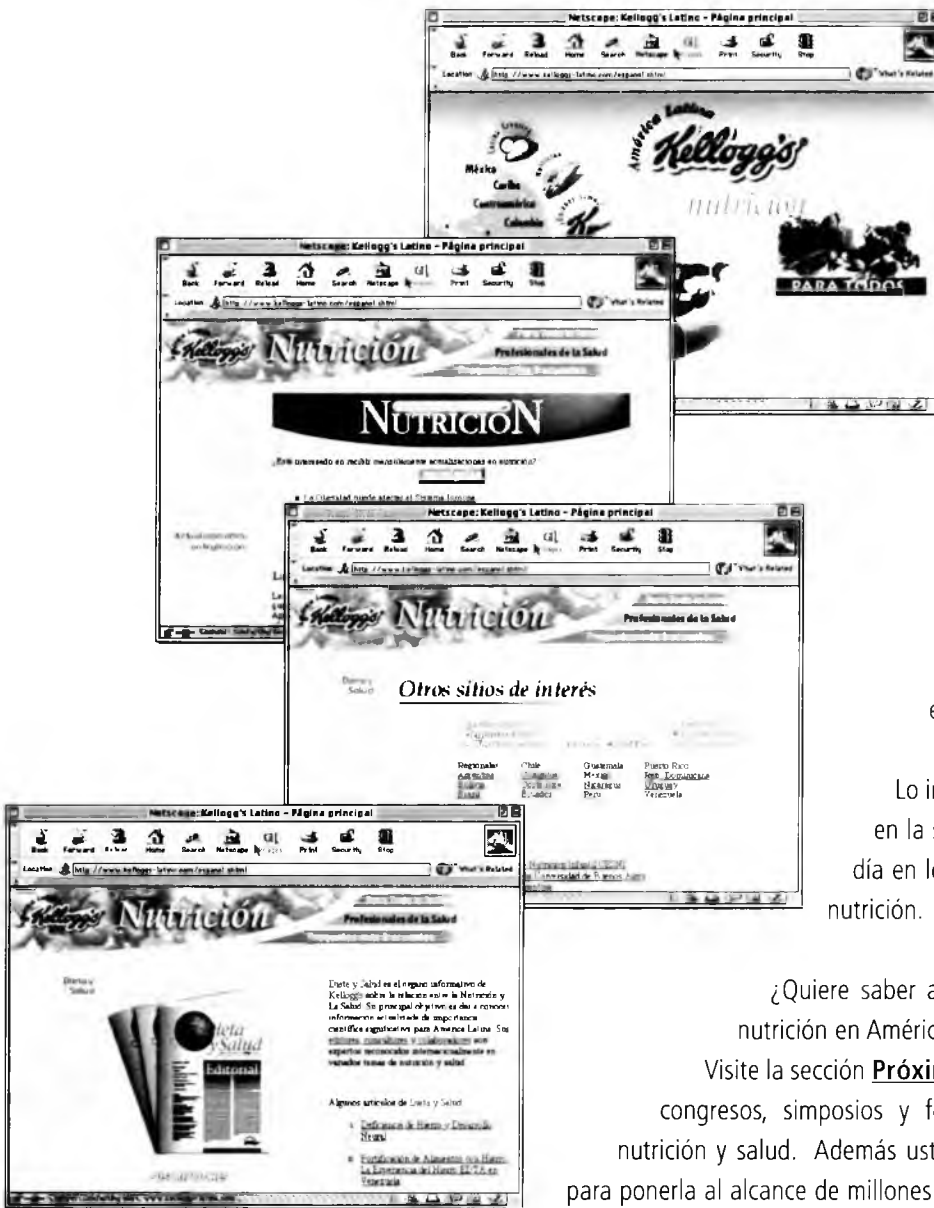
La revista **Dieta y Salud**, órgano informativo de Kellogg's sobre la relación entre la nutrición y la salud está ahora en línea. Todos los números anteriores donde destacados científicos han hecho completas revisiones acerca de temas de nutrición están disponibles en esta sección.

Lo invitamos a visitarnos y a suscribirse a la lista de correos en la sección **Actualizaciones de Nutrición**, para estar al día en lo que acontece en el dinámico mundo de la salud y la nutrición.

¿Quiere saber acerca de los próximos eventos científicos de salud y nutrición en América Latina y el mundo?

Visite la sección **Próximos Eventos** donde encontrará información acerca de congresos, simposios y foros nacionales e internacionales relacionados con nutrición y salud. Además usted podrá publicar su próximo evento en esta sección para ponerla al alcance de millones de visitantes de toda América Latina.

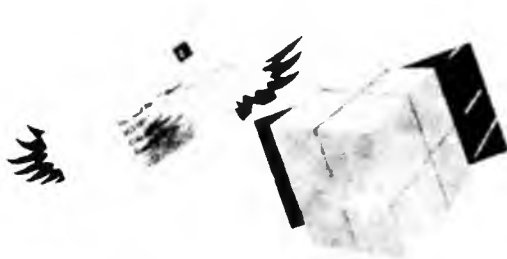
En la sección **Otros Sitios de Interés en Salud y Nutrición** encontrará enlaces a otras páginas relacionadas en América Latina, incluyendo instituciones oficiales, organizaciones profesionales y organizaciones no gubernamentales que trabajan en el área. Adicionalmente podrá acceder las páginas on-line de prestigiosas revistas científicas sobre nutrición y salud y revisar los artículos más recientes.



¡Todo esto ahora en español y portugués!
Kellogg's... Cumpliendo nuestro compromiso con la nutrición
¡Ahora en Internet!

**En Venezuela y hacia y desde todo el mundo,
en IPOSTEL le ofrecemos**

**SERVICIOS TRADICIONALES de Cartas, Impresos y
Encomiendas.**



... y además contamos con novedosos

SERVICIOS EXPRESOS



A nivel nacional ofrecemos: EEE (Entrega Especial Expresa) es un servicio que le permite enviar documentos y encomiendas a todo el Territorio del país de una forma expresa, económica y segura.



EMS, (Express Mail Service), es un servicio tipo courier que le permite enviar documentos y mercancías a nivel internacional, respondiendo a su necesidad de entrega en tiempo breve y a los precios más económicos del mercado.

SERVICIOS ELECTRONICOS

CORREO ELECTRONICO Y KIOSCO INTERNET

Ipostel habilitó para aquellos usuarios que les gusta navegar en el mundo de la red, kioscos de internet, ubicados en Altamira, C.C.C.T y los Ruices, los cuales disponen de computadoras de fácil acceso a todas aquellas personas interesadas en explorar dentro del campo de la comunicación.



AUTOMATIZACION DE TAQUILLA

La automatización de taquillas cuenta con modernos accesorios como balanza electrónica e impresora de recibos; esta permite mejorar la atención en las taquillas postales y simultáneamente establecer un control eléctrico de los ingresos por venta de servicios.



SEGURIDAD Y RASTREO POR CODIGO DE BARRA

El Código de barra permite registrar los datos más importantes de los envíos EMS entrantes y salientes, este sistema actualmente es utilizado a nivel internacional, para envíos EMS.



Un Mundo de Servicios para Usted...

Artes Finales: Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 993.81.43

Portada: Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 285.85.29

Impresión: Editorial Texto C.A., Caracas, Venezuela
Teléfonos (02) 62.24.85 - 62.87.30