

VOL. XL

JUNIO 1990

No. 2

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

(Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición)

**Organo Oficial de la
Sociedad
Latinoamericana
de Nutrición**

ISSN 004-0622

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 aquéllos 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

**INCAP
Apartado Postal 1188
Guatemala, Guatemala, C. A.**

**Colabore con su Revista, divulgándola y enviando
sus artículos para su publicación**

Arch. Latinoamer. Nutr.

ALAN-VE ISSN 0004-0622

Se autoriza la reproducción del material publicado en esta revista a condición de que se cite su procedencia y se envíen ejemplares de las publicaciones que contengan textos reproducidos a la Oficina Editorial de Archivos Latinoamericanos de Nutrición.

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XL

JUNIO, 1990

No. 2

CONTENIDO

	Página
EDITORIAL	143
ARTICULOS GENERALES	
Características químicas y bioquímicas de la biomasa microbiana. — <i>Carlos Rolz</i>	147
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION HUMANA	
La prevención de caries a través de un vehículo nutricional. — <i>Alberto Villa, Sonia Guerrero, Patricia Cisternas y Fernando Mönckeberg</i>	197
Hemoglobin-fortified biscuits: Bioavailability and its effect on iron nutriture in school children. — <i>Manuel Olivares, Eva Hertrampf, Fernando Pizarro, Tomás Walter, Marisol Cayazzo, Sandra Llaguno, Patricia Chadud, Nelson Cartagena, Virginia Vega, Mirna Amar and Abraham Stekel</i>	209
BIOQUIMICA NUTRICIONAL	
Biodisponibilidade de zinco em dieta regional de São Paulo. — <i>R.P. Dantas e S.M.F. Cozzolino</i>	221
Efecto del aumento de los ácidos grasos poliinsaturados (Omega 6) dietéticos en el contenido de glutatión hepático y actividad de gama glutamil transpeptidasa en riñón de ratas. — <i>Julia Araya, Gloria Vera, Héctor Araya y Nelly Pak</i>	231
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Avaliação sensorial e nutricional de macarrão suplementado com concentrado protéico de pescado. — <i>Neuza Maria Brumoro Costa, Dilson Teixeira Coelho e Mitsué Hironaka Bicudo</i>	240

Chemical composition of a mixture of single-cell protein obtained from <i>Kluyveromyces fragilis</i> and whey proteins. — Amanda Gálvez, María de Jesús Ramírez and Mariano García-Garibay.....	252
Efecto de los tratamientos caseros en la preparación de frijol pinto (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) sobre el contenido de taninos y valor nutritivo de las proteínas. — Francisco Goycoolea, Elvira González de Mejía, Jesús M. Barrón y Mauro E. Valencia	263
Estudio de las variaciones en macronutrientes y valor nutritivo de la proteína de una conserva de atún a los tres años de su preparación. — María Trinidad García Arias, Ana María Castrillón Díaz y María del Pilar Navarro Martos	275
 LATINFOODS - COMPOSICION DE ALIMENTOS	
Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from Northeastern Brazil. — Hana K. Arima and Delia B. Rodríguez-Amaya	284
Contenido de sodio, potasio y calcio en platillos típicos consumidos en Sonora, México. — María Isabel Grijalva Haro, Mauro E. Valencia y Jane Wyatt	293
NUEVOS LIBROS	303
NOTAS	305
ENTIDADES PATROCINANTES	308
INFORMACION PARA LOS AUTORES	309

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XL

JUNE, 1990

No. 2

CONTENTS

	Page
EDITORIAL	143
GENERAL ARTICLES	
Chemical and biochemical characteristics of microbial biomass products. — <i>Carlos Rolz</i>	147
RESEARCH PAPERS	
HUMAN NUTRITION	
Caries prevention through a nutritional vehicle. — <i>Alberto Villa, Sonia Guerrero, Patricia Cisternas and Fernando Mönckeberg</i>	197
Hemoglobin-fortified biscuits: Bioavailability and its effect on iron nutriture in school children. — <i>Manuel Olivares, Eva Hertrampf, Fernando Pizarro, Tomás Walter, Marisol Cayazzo, Sandra Llaguno, Patricia Chadud, Nelson Cartagena, Virginia Vega, Mirna Amar and Abraham Stekel</i>	209
NUTRITIONAL BIOCHEMISTRY	
Zinc bioavailability in the regional diet of São Paulo. — <i>R.P. Dantas and S.M.F. Cozzolino</i>	221
Effect of increasing dietary polyunsaturated fatty acids (Omega 6) on the content of glutathione in liver and gamma glutamyl transpeptidase activity in kidney, in rats. — <i>Julia Araya, Gloria Vera, Héctor Araya and Nelly Pak</i>	231
FOOD SCIENCE	
Nutritional and sensory evaluation of macaroni supplemented with fish protein concentrate. — <i>Neuza Maria Brumoro Costa, Dilson Teixeira Coelho and Mitsué Hironaka Bicudo</i>	240

Chemical composition of a mixture of single-cell protein obtained from <i>Kluyveromyces fragilis</i> and whey proteins. — Amanda Gálvez, María de Jesús Ramírez and Mariano García-Garibay.....	252
Effect of home-cooking treatments in the preparation of pinto beans (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) on the tannin content and nutritive value of proteins. — Francisco Goycoolea, Elvira González de Mejía, Jesús M. Barrón and Mauro E. Valencia	263
Study of the variations in macronutrients and nutritive value of the protein of canned tuna stored for three years after its preparation — María Trinidad García Arias, Ana María Castrillón Díaz and María del Pilar Navarro Martos	275
LATINFOODS - FOOD COMPOSITION	
Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from Northeastern Brazil. — Hana K. Arima and Delia B. Rodríguez-Amaya	284
Sodium, potassium and calcium contents in regional dishes consumed in Sonora, Mexico. — María Isabel Grijalva Haro, Mauro E. Valencia and Jane Wyatt	293
NEW BOOKS.....	303
NOTES	305
SPONSORING AGENCIES.....	308
INSTRUCTION TO AUTHORS	309

EDITORIAL

LA CIENCIA DE LA NUTRICION EN AMERICA LATINA

Desde hace ya algún tiempo se ha podido notar que el mayor número de artículos que se publican en Archivos Latinoamericanos de Nutrición corresponden al área de Ciencia y Tecnología de Alimentos, mientras que el número de artículos que enfocan el campo de la Nutrición propiamente dicho, es relativamente escaso y —lo que es más— con cierta tendencia a disminuir con el tiempo. Los siguientes datos constituyen prueba de esta aseveración. En 1987, del total de artículos publicados ese año, alrededor del 57% versaban sobre Ciencias de Alimentos, mientras que sólo cerca del 24% se centraban en Nutrición, y lo mismo ocurrió en 1988 y 1989.

Los artículos en Ciencia y Tecnología de Alimentos, sin embargo, en general tienen un componente nutricional, ya que el alimento objeto de estudio no sólo fue sometido a pruebas de procesamiento y evaluación sensorial, sino también ha sido sometido a cierto tipo de evaluación nutricional. Esto sugiere que en los científicos y tecnólogos de alimentos se ha creado conciencia de que el alimento es más que sólo un portador de sabor, funcionalidad y saciedad del hambre; el alimento también es un vehículo de nutrientes y nutrición. Por consiguiente, por ese lado el área de nutrición debe considerarse afortunada.

No obstante, lo que es preocupante es la poca cantidad de artículos que versan sobre la ciencia de la nutrición. En el pasado, como debemos manifestar, los artículos en este campo de interés eran relativamente abundantes, por lo general refiriéndose al problema de la deficiencia proteínico-calórica que existía antes, y que aún hoy persiste. Hoy día, el énfasis radica en el aplicar los conocimientos adquiridos para ayudar a la solución del problema, pero se ha generado muy poca nueva información al respecto. Todo ello es el reflejo del poco interés que en la actualidad se percibe en la ciencia de la nutrición, lo que también ha afectado el dinamismo que en algún tiempo existió en la Sociedad Latinoamericana de Nutrición.

El área de la Ciencia de la Nutrición presenta oportunidades en materia de investigación, pues además de los problemas de mala nutrición, ya son comunes o están en incremento los problemas nutricionales por exceso de consumo o por consumo inadecuado de alimentos. Algunos rubros que podrían investigarse son los efectos del consumo de aceites saturados de productos como palma africana que cada día abunda más y se encuentra disponible en la Región. Existen todavía deficiencias de vitamina A, pero poco se ha hecho por establecer la biodisponibilidad de las fuentes de carotenos de las que se dispone en América Latina. Existen también deficiencias en elementos como Zn y Fe, y el consumo de FD es relativamente alto en grandes sectores de la población. Cada día el consumo de los alimentos denominados "fast foods", fritos, aumenta, y no se sabe nada en cuanto al efecto que a largo plazo esto pueda

tener en la salud. En fin, existen muchos rubros de investigación en Nutrición Básica o Aplicada que ameritan ser estudiados. Para lograrlo se requiere de varias actividades, entre ellas la de renovar el interés en la Ciencia de la Nutrición en América Latina, y revivir el dinamismo que caracterizara a la SLAN, los centros de Nutrición, y las Universidades.

ALAN estará siempre presto a servir su propósito principal, que no es otro que el de mantener debidamente informados a los científicos interesados en Nutrición y ciencias afines, así como el de contribuir positivamente a una comunicación científica activa, que es tan necesaria y que juega un papel cuya importancia no puede menoscabarse, en el desarrollo de América Latina.

*Ricardo Bressani
Editor General*

***ARTICULOS
GENERALES***

CARACTERISTICAS QUIMICAS Y BIOQUIMICAS DE LA BIOMASA MICROBIANA

Carlos Rolz¹

Instituto Centroamericano de Investigación
y Tecnología Industrial (ICAITI),
Guatemala, Guatemala, C.A.

RESUMEN

La composición química y bioquímica de la biomasa microbiana determinará su potencial nutricional, el cual varía según las diferentes especies de microorganismos, la fuente de nutrientes, y la forma empleada para su crecimiento, así como también por efectos del proceso durante el propio crecimiento o posteriores durante la recuperación de la biomasa. Se detalla la composición química de los productos de biomasa microbiana producidos comercialmente o en instalaciones piloto demostrativas, clasificándolos según procedencia de algas, bacterias, levaduras u hongos. Finalmente, se reseña información sobre el efecto que algunos parámetros ejercen en la composición de la biomasa, que ilustra tendencias observadas experimentalmente, sin llegar a constituir una revisión exhaustiva de la literatura técnica.

INTRODUCCION

La biomasa de microorganismos ha sido considerada desde el punto de vista nutricional como una de las posibles fuentes no tradicionales de proteína. Este hecho se refleja en el término comúnmente empleado para identificarla: "PUC" (proteínas unicelulares), traducido literalmente del equivalente anglosajón "SCP" (single-cell protein), que fuera concebido y universalmente aceptado en dos reuniones de expertos, celebradas a nivel internacional (1, 2).

No obstante, aparte de la proteína, la biomasa microbiana contiene cantidades apreciables de carbohidratos y lípidos, generalmente

Manuscrito modificado recibido: 29-10-87.

¹ Jefe, División de Investigación Aplicada, Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI), Apartado Postal 1552, Guatemala, Guatemala, C.A.

como biopolímeros heterogéneos que forman parte de las diferentes estructuras intracelulares y de la pared celular. Dichos compuestos, juntamente con la proteína, son fuentes de energía o calorías de la dieta.

Por otro lado, y en menor cantidad están los ácidos nucleicos, las vitaminas y los minerales. En algunos casos se atribuye también la existencia de ciertos factores estimulantes del crecimiento no identificados, aun cuando como lo menciona Mateles (3), éste todavía es un tema de controversia entre diferentes especialistas.

Por todo lo expuesto, el término proteínas unicelulares ("PUC"), no sólo está incorrectamente aplicado, ya que hay microorganismos multicelulares de interés comercial, sino que es discriminante en cuanto al potencial nutricional del producto.

La composición química y bioquímica de la biomasa microbiana determinará su potencial nutricional. La misma varía naturalmente no sólo entre diferentes especies de microorganismos, sino también entre miembros de una sola especie. Aún más, la composición celular depende de la fuente de nutrientes empleada y de la forma de crecimiento utilizado, incluyendo algunos parámetros externos como la temperatura y otros efectos de procesamiento ulteriores a la recuperación de la biomasa. Finalmente, también existe la posibilidad de alterar la composición química por manipulación genética del microorganismo en cuestión.

Cualquier comparación entre microorganismos o entre microorganismos y otras fuentes proteínicas tradicionales o no tradicionales, no deja, pues, de ser ciertamente irrelevante si no se especifican en detalle todas las variables mencionadas. Aún con esa advertencia, brevemente se ilustran a continuación los rangos de composición de la biomasa microbiana, para luego describir en detalle los efectos de algunas variables sobre dichos valores.

DISTRIBUCION DE LOS MACROCOMPONENTES

La biomasa de microorganismos recuperada de cultivos en su fase exponencial de crecimiento usualmente consiste de 2-3% de ADN, 10-15% de ARN, 40-60% proteína, 15-20% de polisacáridos, y 10-15% de lípidos en base seca (4). Frecuentemente se ha citado la composición elemental de bacterias y levaduras como: carbono, 45-53%; oxígeno, 19-32%; nitrógeno, 7.5-14%; hidrógeno, 6.0-7.3%, y minerales 4.8-8.0%.

En la Tabla 1 se ofrecen las cifras correspondientes a los rangos en que se encuentran los principales macrocomponentes de la biomasa de algas, bacterias, hongos y levaduras. Como era de esperar, los rangos son bastante amplios y aún así no son limitantes por las razones antes expuestas. Los mayores contenidos proteínicos se logran con bacterias, las que también muestran una mayor proporción de ácidos nucleicos originados por una velocidad mayor de reproducción de su masa.

TABLA 1

COMPOSICION DE LOS MACROCOMPONENTES FRECUENTEMENTE
CITADOS DE LA BIOMASA MICROBIANA EN BASE SECA

Microorganismos	Proteína (N ₂ x 6.25)	Acidos nucleicos	Lípidos	Cenizas
Algas	45-73	3- 8	2-20	5-10
Bacterias	40-83	6-20	2-21	3-10
Hongos	30-50	4-13	2- 8	3-14
Levaduras	40-68	3-15	1-24	5-10

Referencias

- Kilhberg (5) Cuadro 1, p. 433. MacLennan *et al.* (70) Cuadro 1, p. 22.
 MacLaren (67) Cuadro 2, p. 595. Rehm (71) Cuadro 2, p. 311.
 Rogers (68) Cuadro 1, p. 111. Praeve y Faust (72) Cuadro 3, p. 555.
 Drews (69) Cuadro 2, p. 16. Roth (73) Cuadro 3, p. 124.

COMPOSICION QUIMICA DE PRODUCTOS
PRODUCIDOS INDUSTRIALMENTE

La composición química de los productos de biomasa microbiana se proporciona en las Tablas 2 a 5. A continuación se listan y han sido producidos comercialmente o en instalaciones piloto operadas por cierto tiempo prudencial.

Algas

[A]² Localizadas en el sudeste asiático operan fábricas pequeñas que cultivan algas, principalmente *Chlorella* sp, bajo condiciones autotróficas, heterotróficas y mezclas de ambos, diseñadas para su incorporación en ciertos alimentos dietéticos para humanos (8-10).

[B] En el Instituto de Tecnología de Israel (Technion), se ha desarrollado tecnología para producir biomasa de algas en lagunas con alta tasa de oxidación, empleando como substrato aguas negras municipales (11). Aunque existe una población mixta microbiana, bajo ciertas condiciones predomina una especie de alga sobre las demás. Científicos de la Organización de Investigación Agrícola, Centro Volcani en Bet Dagan han informado sobre la composición de biomasa, consistente principalmente de *Chlorella*, separada por centrifugación y deshidratada en un secador de tambores rotatorios (12, 13).

[C] En el Centro de Estudios de Microorganismos Autotróficos

² Las letras mayúsculas identifican a los diferentes productos en las Tablas correspondientes.

TABLA 2
COMPOSICION QUIMICA DE ALGAS PRODUCIDAS COMERCIALMENTE
O EN UNIDADES PILOTO

Macrocomponentes (g/100 g base seca)	Productos de biomasa			
	[A] <i>Chlorella</i> ^a	[B] <i>Chlorella</i> ^b	[C] <i>Scenedesmus</i> ^d <i>acutus</i> 8M	[D] <i>Scenedesmus</i> ^f <i>acutus</i> 273-3a
Proteína cruda	54-58	57.4	53.8	46-64
Proteína verdadera	40-41	-	43.9	48
Grasa	6-16	6.9	11.7	8-14
Fibra cruda	4	2.2	-	3-12
Extracto libre de nitrógeno	15-29	-	-	4-10
Ceniza	6-9	-	-	6-17
Acidos nucleicos	6	-	-	3-6
Clorofila	2-4	-	-	-
Carotenoides	0.3-0.5	0.12-0.26	0.49	0.4
Xantofila	-	0.65-1.10	-	-
<i>Vitaminas</i>				
(mg/100 g base seca)				
Tiamina	0.6-2.3	-	1.2	1.3- 8.2
Riboflavina	2-6	-	3.6	3.4-36.6
Piridoxina	> 0.1-3.2	-	1.1	2.5
Niacina	10-22	-	16.7	12
Acido pantoténico	>1-10	-	-	1.5
Acido fólico	> 0.1-4	-	-	0.7
Biotina	15-64 x 10 ³	-	-	20-200 x 10 ³
Cianocobalamina	trazas	-	trazas	0.04-0.44
Acido ascórbico	18-370	-	181	165
Provitamina A (UI)	82-91 x 10 ³	-	-	-
Gamatocoferol	26-33	-	18.5	14
<i>Minerales</i>				
(g/100 g base seca)				
Calcio	0.5 -0.8	0.2	0.6	0.5 -4.0
Fósforo	1.4 -1.8	1.17	-	0.55-3.1
Magnesio	1.7 -2.2	-	0.5	0.5
Sodio	0.03-0.04	-	0.1	0.05
Potasio	0.8 -1.0	-	1.3	1.0
Azufre	0.5 -1.0	-	-	0.5
Hierro (mg)	0.05-0.06	-	-	0.2-0.66
<i>Aminoácidos</i>				
(g/16 g nitrógeno)				
Alanina	4.2- 7.4	-	9.7	5.3-10.4
Arginina	5.8-10.2	6.2	6.3	4.6- 7.1
Aspartato	6.9- 8.8	-	11.1	6.5- 9.7
Cistina	0.7- 0.9	0.3	0.8	0.6- 1.6
Fenilalanina	3.2- 5.1	4.4	6.4	3.6- 5.8
Glutamato	8.0- 1.8	-	5.3	6.7-10.7
Glicina	4.9- 5.5	5.0	7.0	3.4- 6.2
Histidina	1.4- 3.0	1.9	2.3	1.5- 2.1
Isoleucina	3.1- 6.4	4.0	4.9	2.2- 4.6
Leucina	6.8- 9.7	7.5	10.6	5.0-10.1
Lisina	4.9- 9.4	5.9	6.9	5.0- 6.4
Metionina	1.0- 1.8	2.0	2.7	1.4- 2.1

(Continúa)

(Continuación Tabla 2)

Prolina	2.2- 6.4	-	5.3	3.1- 6.1
Serina	3.0- 4.1	-	4.8	3.2- 5.4
Treonina	3.6- 4.3	4.7	5.8	3.0- 5.8
Tirosina	2.6- 4.1	3.8	4.6	2.0- 3.6
Triptofano	1.0- 1.5	-	1.2	0.3- 1.8
Valina	4.8- 6.0	5.3	6.9	4.7- 7.4

Acidos grasos
(g/100 g de grasa)

Palmítico (16:0)	-	20.5 ^a	14.9 ^a	-
Palmitoléico (16:1)	-	10.9	1.2	-
Esteárico (18:0)	-	4.7	0.6	-
Oléico (18:1)	-	10.2	8.0	-
Linoléico (18:2)	-	14.9	19.7	-
Linoléico (18:3)	-	29.5	30.0	-

- a Tomado de los datos de *Chlorella regularis* S-50 crecida auto y heterotróficamente por Endo y Shirota (74). Complementado por datos de *Chlorella* sp de referencias japonesas citadas por Waslein (75), Cuadros 2a y 4 y Cuadros 1 al 3 de Mitsuda *et al.* (76).
- b Tomados de los Cuadros 1 al 3 de Lipstein y Hurwitz (12, 13) y Cuadro 2 de Yannai *et al.* (77).
- c Un ácido graso no identificado que se sospecha con cadena de 17 carbonos y un doble unión (17:1) contribuyó con 9.2%.
- d Tomado de Cuadro 1 de Battaglini *et al.* (15) y de datos de Capella *et al.* (78) según se encuentran anotados en el Cuadro 3 de Materassi *et al.* (79).
- e En *Scenedesmus acutus* 8M se informan también los ácidos grasos (16:3) y (16:4) con 4.3 y 20.3% respectivamente.
- f Tomado de Cuadros 1 y 2 de Soeder (80); Cuadros 1-4 de Becker (81); Cuadros 2 y 3 de Walz y Brune (82); Cuadro 2 de Becker (83); Cuadros 1-4 de Payer *et al.* (84), y Cuadros 1 y 2 de Klaf *et al.* (85).

TABLA 3

COMPOSICION QUIMICA DE BACTERIAS PRODUCIDAS COMERCIALMENTE O EN UNIDADES PILOTO

<i>Macrocomponentes</i> (g/100 g base seca)	Productos de biomasa						
	(A) <i>Spirulina</i> ^a	(B) <i>Spirulina</i> ^a	(C) <i>Leptothrix</i> ^a	(D) <i>Methylophilus</i> ^a	(E) <i>Corynebacterium</i> ^a	(F) <i>Methylomonas</i> ^a	(G) <i>Methylomonas</i> ^a
	marina	sp	sp	methylophilus	BVK-84	alana	methanolia
Proteína cruda	55-70	56	.	78	80	80-85	81
Proteína verdadera	48-61	.	.	64 ^a	71 ^a	69-73	67
Grasa	4-7	1	.	9.2	9.6	8-10	.
Fibra cruda	0.1-3.6	5.8	.	< 1.1	0	.	.
Extracto libre de nitrógeno	30	19.4
Ceniza	6.4-9.0	7.2	.	10.9	8.1	8-12	7.5
Acidos nucleicos	2.9-4.5	.	.	16.0 ^a	14.8	10-15	.
Clorofila	0.6-0.8	0.9
Carotenoides	0.4	0.3
Xantofila	0.1-0.2
<i>Vitaminas</i>							
(mg/100 g base seca)							
Tiamina	5.5	3.4	.	0.5	5.5	.	.
Riboflavina	4.0	3.0	.	4.0	11.5	.	.
Piridoxina	0.3	0.5	.	0.2	1.9	.	.
Niacina	11.8	.	.	5.7	38.9	.	.
Acido pantoténico	1.1	0.9	.	1.1	4.5	.	.
Acido fólico	0.05	0.03	.	1.5	0.2	.	.
Biotina	0.04	.	.	0.3	0.5	.	.
Cianocobalamina	0.02	.	.	< 0.01	0.06	.	.

(Continúa)

(Continuación Tabla 3)

Acido ascórbico
Beta caroteno	0.15-0.19
Gama tocoferol	19	13.9	.	.	7.2	.	.
Inositol	35	86.7	.	.	200.0	.	.
<i>Minerales</i>							
(g/100 g base seca)							
Calcio	0.10-0.23	0.08	.	1.4	0.08	0.1	.
Fósforo	0.76-0.98	0.78	.	2.7	2.4	2.4	.
Magnesio	0.14-0.19	.	.	0.24	0.35	.	.
Sodio	0.03-0.04	.	.	0.22	0.10	.	.
Potasio	1.3-1.5	.	.	0.20	0.70	.	.
Hierro	0.05-0.06	.	.	0.04	0.04	.	.
<i>Aminoácidos</i>							
(g/16 g nitrógeno)							
Alanina	5.0- 6.1	7.4	6.0- 9.8	6.9	5.8-6.9	.	.
Arginina	4.5- 9.3	6.6	3.0- 5.3	5.1	3.6-5.1	3.4	6.3
Aspartato	6.0-15.2	9.4	7.0-14.6	8.9	7.9-8.9	.	.
Cistina	0.6- 2.2	0.4	0.0- 1.0	0.7	0.6	.	0.7 ^l
Fenilalanina	2.8- 4.0	4.3	2.6- 4.2	3.6	3.6-3.8	5.1	4.3
Glutamato	8.2-21.9	15.0	9.1-14.6	10.6	8.4-9.7	.	.
Glicina	3.2- 4.0	5.0	3.4- 4.4	5.3	4.8-5.5	5.1	.
Histidina	0.9- 1.6	2.0	1.4- 2.5	1.8	1.2-1.9	2.6	1.8
Isoleucina	3.7- 4.5	5.7	4.1-13.2	4.6	4.1-4.5	3.6	5.2
Leucina	5.6- 7.7	8.7	1.5- 8.0	7.2	6.4-7.1	6.6	8.9
Lisina	3.0- 4.5	4.6	4.8-10.4	5.7	4.4-6.0	6.2	7.2
Metionina	1.6- 2.2	2.8	1.8- 2.2	1.9	1.9-2.3	2.5 ^l	2.5
<i>Prolina</i>	2.7- 3.2	3.6	2.4- 3.6	3.1	2.7-3.5	.	.
<i>Serina</i>	3.2- 4.3	4.8	2.3- 3.2	3.1	2.7-3.4	.	.
<i>Treonina</i>	3.2- 4.5	4.9	.	4.6	3.5-4.3	4.8	5.4
<i>Tirosina</i>	3.9	4.4	2.2- 4.2	3.1	2.6-3.5	5.1	3.6
<i>Triptofano</i>	0.9- 1.3	1.3	.	1.4	1.6-1.7	1.5	.
<i>Valina</i>	4.2- 6.0	6.3	4.2- 6.7	5.6	5.05-5.4	4.8	7.0
<i>Acidos grasos</i>							
(g/100 g de grasa)							
Láurico (12:0)	0.4
Mirístico (14:0)	1.0- 1.1	.	.	2.4	.	.	.
Palmitico (16:0)	33.4-37.1	.	.	38.8	48.3-50.4	41	.
Palmitoléico (16:1)	3.0- 3.6	.	.	34.1	36.1-37.1	51	.
Palmitolinoéico (16:2)	3.6- 4.3
Estearico (18:0)	trazas- 0.6
Oléico (18:1)	4.0- 5.3	.	.	5.9	1.3	.	.
Linoléico (18:2)	22.1-24.2	.	.	5.9	.	.	.
Linoléico (18:3)	18.1-21.0

a Tomado de Tabla 1 de Hernández y Shimada (86); Cuadros 1 al 5 de Durand-Chastel (87); Cuadro 1 de Santillán (88).

b Tomado de los Cuadros 1 y 2 y el Apéndice de Yoshida y Hoshii (89).

c Tomado del Cuadro 1 de Erdman (19).

d Información suministrada directamente por ICI, 12/7/83.

e Tomado de Cuadro 11 de Faust y Prave (20).

f Otros ácidos grasos presentes C12, C14:1, C15, C17, C18, C18:3.

g Tomado de Cuadros 5 al 8 de Ohkouchi *et al.* (28) y Cuadro 5 de Urakami *et al.* (90).

h Otros ácidos grasos presentes: C19:0, hidroxil 3-OH 10 y ciclopropano 17:0.

i La cifra correspondiente a metionina incluye la cistina según el texto en Faust *et al.* (20).

j Otros ácidos grasos presentes: C14, C17:1, C18, C:18:1, C18:2, C18:3, C19.

k Tomado de Cuadro 1 de Ericsson *et al.* (91) y Cuadro 1 de Mogren (92).

l Informado como Cisteina.

TABLA 4-A

COMPOSICION QUIMICA DE LEVADURAS PRODUCIDAS COMERCIALMENTE
O EN UNIDADES PILOTO

Macrocomponentes (g/100 g base seca)	Productos de biomasa				
	(A) <i>Kluyveromyces</i> ^a <i>fragilis</i>	(B) <i>Candida</i> ^a <i>intermedia</i>	(C) <i>Endomycopsis</i> ^f <i>fibuligera</i> más <i>Candida utilis</i>	(D) <i>Candida</i> ^b <i>lipolytica</i>	(E) <i>Candida</i> ^l <i>lipolytica</i>
Proteína cruda	51-55	41-9	48.0	60-70	58.4
Proteína verdadera	—	—	—	—	—
Grasa	3-7.5	5.9	3.0	1.5-10	9.6
Fibra cruda	—	—	1.0	—	2.9
Extracto libre de nitrógeno	27.5-32.5 ^b	—	36.5 ^c	20 ^c	—
Ceniza	6.5-8.5	16.7	5.5	6-7.9	5.1
Acidos nucleicos	2.7	—	4.0	—	4.5
<i>Vitaminas</i> (mg/100 g base seca)					
Tiamina	1.0-1.5	0.3	14.5	—	0.5
Riboflavina	2.5-5.0	7.6	8.0	—	4.2
Piridoxina	0.8-1.2	0.7	3.5	—	2.7
Niacina	35-45	22.2	43.0	—	13.0
Acido pantoténico	8-15	—	—	—	9.9
Acido fólico	1.8-2.0	—	2.0	—	—
Biotina	0.04-0.09	0.04	—	—	—
Cianocobalamina	0.5-1.5x10 ⁻³ _x	3.1x10 ⁻³	—	—	11.1x10 ⁻³
Acido ascórbico	20-30	—	—	—	—
Beta caroteno	—	—	—	—	—
Gama tocoferol	25-45	—	—	—	—
Inositol	—	—	—	—	—
<i>Minerales</i> (g/100 g base seca)					
Calcio	0.05-0.15	—	—	0.01-0.03	—
Fósforo	1.1-1.6	—	—	1.6-1.5	—
Magnesio	0.1-0.15	—	—	—	—
Sodio	0.1-0.25	—	—	—	—
Potasio	2.2-2.45	—	—	—	—
Hierro	0.6x10 ^{3c}	—	—	—	—
<i>Aminoácidos</i> (g/16 g nitrógeno)					
Alanina	5.1	5.2	—	—	—
Arginina	4.4	3.6	4.6	5.0-5.1	2.9
Aspartato	8.3	9.8	10.3	—	—
Cistina	1.3	1.7	1.0	0.9-1.1	—
Fenilalanina	3.4	4.0	5.4	4.3-4.8	4.7 ^a
Glutamato	13.1	14.7	13.8	—	—
Glicina	3.1	3.1	—	—	3.3

(Continúa)

(Continúa Tabla 4-a)

Histidina	1.7	—	2.0	2.1	2.9
Isoleucina	2.2	5.1	4.3	5.1-5.3	3.8
Leucina	5.2	7.8	7.8	7.4-7.8	4.6
Lisina	6.6	6.7	6.8	7.4-7.8	5.4
Metionina	0.9	1.3	1.5	1.6-1.8	1.2 ¹
Prolina	3.4	3.7	—	—	—
Serina	4.1	5.1	—	—	—
Tirosina	3.8	—	4.8	3.6-4.0	—
Treonina	4.0	5.7	5.4	4.9-5.4	3.4
Triptofano	1.0	—	1.8	1.3-1.4	0.3
Valina	2.8	5.3	4.2	5.8-5.9	3.4
<i>Acidos grasos</i>					
<i>(g/100 g de grasa)</i>					
Láurico (12:0)	0.2 ¹	—	—	—	—
Mirístico (14:0)	1.0	—	—	—	—
Palmítico (16:0)	19.2	—	—	—	—
Palmitoléico (16:1)	3.4	—	—	—	—
Esteárico (18:0)	2.8	—	—	—	—
Oléico (18:1)	32.8	—	—	—	—
Linoléico (18:2)	23.5	—	—	—	—
Linolénico (18:3)	8.8	—	—	—	—

Ver notas en Tabla 4-C

TABLA 4-B

COMPOSICION QUIMICA DE LEVADURAS PRODUCIDAS COMERCIALMENTE
O EN UNIDADES PILOTO

Macrocomponentes (g/100 g base seca)	Productos de biomasa				
	(G) <i>Candida</i> ^m <i>maltosa</i>	(H) <i>Pichia</i> <i>pastoris</i>	(I) <i>Candida</i> ^o <i>boldini</i>	(J) <i>Pichia</i> ^a <i>aganobi</i>	(J) <i>Torulopsis</i> ^a <i>methanoescule</i>
Proteína cruda	54.1	61.0	61.0-64.0	55.3	58.6
Proteína verdadera	—	57.0	—	—	—
Grasa	2.8	5.0	5.8	8.0	7.2
Fibra cruda	3.6	—	1.1	3.3	2.7
Extracto libre de nitrógeno	27.9	17.2 ¹	22.7-25.7	—	—
Ceniza	7.1	7.1	7.2	7.8	7.7
Acidos nucleicos	—	4.8	5.5	8.2	7.6
<i>Vitaminas</i>					
<i>(mg/100 g base seca)</i>					
Tiamina	—	—	—	13.7	10.8
Riboflavina	—	—	—	21.9	30.8
Piridoxina	—	—	—	1.6	1.8
Niacina	—	—	—	71.8	53.5

(Continúa)

(Continuación Tabla 4-b)

Acido pantoténico	—	—	—	6.4	3.5
Acido fólico	—	—	—	32.4x10 ³	150.0x10 ³
Biotina	—	—	—	50.7x10 ³	67.3x10 ³
Cianocobalamina	—	—	—	0.8x10 ³	4.8x10 ³
Acido ascórbico	—	—	—	—	—
Beta caroteno	—	—	—	—	—
Gama tocoferol	—	—	—	—	—
Inositol	—	—	—	800	600
<i>Minerales</i>					
(g/100 g base seca)					
Calcio	—	—	—	0.033	0.03
Fósforo	—	—	—	1.8	2.1
Magnesio	—	—	—	0.22	0.18
Sodio	—	—	—	0.1	0.1
Potasio	—	—	—	2.2	2.4
Hierro	—	—	—	0.034	0.03
<i>Aminoácidos</i>					
(g/16 g nitrógeno)					
Alanina	6.1	—	5.5	5.8	5.7
Arginina	4.5-5.1	—	5.5	5.0	4.5
Aspartato	9.4	—	11.3	9.2	9.4
Cistina	1.5-1.8	—	2.1	1.5	1.5
Fenilalanina	4.3-4.4	—	4.3	4.3	4.2
Glutamato	13.9	—	13.2	12.4	11.8
<i>Glicina</i>	4.8	—	4.1	4.6	4.4
<i>Histidina</i>	2.2-2.4	—	2.2	2.1	2.1
<i>Isoleucina</i>	4.6-5.4	—	4.8	4.7	4.7
<i>Leucina</i>	6.9-7.1	—	6.8	7.2	7.0
<i>Lisina</i>	7.0-7.5	4.1	7.2	6.5	6.5
<i>Metionina</i>	1.2-1.4	—	1.5	1.9	1.6
<i>Prolina</i>	4.4	—	3.5	3.2	3.7
<i>Serina</i>	4.7	—	4.6	4.9	4.4
<i>Tirosina</i>	3.3-3.8	—	4.1	4.1	3.7
<i>Treonina</i>	5.1-5.4	—	4.8	4.8	4.4
<i>Triptofano</i>	1.0-1.2	—	1.8	1.8	1.3
<i>Valina</i>	5.4-5.5	—	4.9	5.2	5.0
<i>Acidos grasos</i>					
(g/100 g de grasa)					
Láurico (12:0)	—	—	0.2 ^p	—	—
Mirístico (14:0)	—	—	0.2-0.3	—	—
Palmitico (16:0)	—	—	21.8-21.8	15.5	12.8
Palmitoléico (16:1)	—	—	18.7-22.6	7.3	1.9
Esteárico (18:0)	—	—	0.6-1.4	—	—
Oléico (18:1)	—	—	19.4-23.1	21.6	39.4
Linoléico (18:2)	—	—	29.2-29.9	34.2	34.2
Linolénico (18:3)	—	—	—	17.3	—

Ver notas en Tabla 4-C .

TABLA 4-C

COMPOSICION QUIMICA DE LEVADURAS PRODUCIDAS COMERCIALMENTE
O EN UNIDADES PILOTO

Macrocomponentes (g/100 g base seca)	Productos de biomasa					
	(J) <i>Hansenula</i> ^a <i>polymorpha</i>	(K) <i>Candida</i> ^r <i>Ethanothermophilus</i>	(L) <i>Cepa de</i> ^t <i>propiedad</i>	(M) <i>Candida</i> ^m <i>utilis</i>	(N) <i>Kluyveromyces</i> ^s <i>fragilis</i>	(O) <i>Hansenula</i> ^a <i>anómala</i>
Proteína cruda	55.0	55.8	62	57.5	45	64-70
Proteína verdadera	—	—	57	46.8	—	—
Grasa	8.1	7.6	5	6.5	—	0.7
Fibra cruda	4.0	0.3	—	4.5	—	0.6
Extracto libre de nitrógeno	—	24.0	18 ^m	21.5-22.5 ^r	—	25
Ceniza	8.5	8.4	11	8.12	—	9-10
Acidos nucleicos	7.1	—	—	—	8	5-8
<i>Vitaminas</i> (mg/100 g base seca)						
Tiamina	13.6	0.4	8.8	—	15	—
Riboflavina	53.6	3.4	21.2	4.9	5	—
Piridoxina	1.4	2.0	5.6	4.2	—	—
Niacina	84.5	39.5	64.0	38.7	40	—
Acido pantoténico	7.5	9.3	6.8	21.1	8	—
Acido fólico	49.0x10 ³	0.2	2.8	1.1	—	—
Biotina	25.9x10 ³	0.06	0.1	0.1	0.2	—
<i>Cianocobalamina</i>	1.1x10 ³	9.4x10 ⁴	0.4x10 ³	0.1x10 ³	50x10 ³	—
Acido ascórbico	—	—	—	—	—	—
Beta caroteno	—	—	—	—	—	—
Gama tocoferol	—	200	—	—	—	—
Inositol	1300	1200	342	0.5	225	—
<i>Minerales</i> (g/100 g base seca)						
Calcio	0.022	—	0.09	—	1.7	0.11
Fósforo	1.8	—	2.5	2.0	1.3	1.95
Magnesio	0.19	—	0.3	—	0.18	0.06
Sodio	0.1	—	0.01	—	0.7	0.2
Potasio	2.3	—	2.5	—	2.2	2.1
Hierro	0.03	—	0.034	—	0.45x10 ²	0.61x10 ²
<i>Aminoácidos</i> (g/16 g nitrógeno)						
Alanina	5.9	5.2	6.0- 7.1	5.9	—	—
Arginina	5.3	5.2	4.2- 6.1	7.2	3.2	3.6
Aspartato	9.7	9.7	10.2-11.4	8.0	—	—
Cistina	1.5	0.4	0.6- 0.9	0.6	—	—
Fenilalanina	4.6	4.9	3.9- 5.4	3.7	3.5	3.7
Glutamato	11.4	14.6	13.3-13.6	16.2	13.1	—
Glicina	4.6	4.7	4.9- 6.2	5.1	—	—
Histidina	2.3	1.3	2.4- 2.6	2.0	2.0	1.5

(Continúa)

(Continuación Tabla 4-c)

Isoleucina	4.7	5.2	4.9-6.7	4.3	4.3	5.1
Leucina	7.2	7.2	7.7-8.6	7.0	7.5	6.4
Lisina	6.7	7.2	6.8-7.4	7.2	6.9	10.4
Metionina	1.6	1.6	1.2-1.8	1.9	1.4	1.3
Prolina	4.1	3.2	3.9-4.8	4.1	—	—
Serina	4.6	4.3	2.9-4.7	4.3	—	—
Tirosina	4.2	2.9	3.5-4.8	3.3	3.2	—
Treonina	4.7	4.9	4.3-5.1	4.7	5.2	4.5
Triptofano	1.4	1.3	1.1	—	1.8	1.3
Valina	5.6	6.1	5.8-7.4	5.3	4.8	5.4
<i>Acidos grasos</i>						
<i>(g/100 g de grasa)</i>						
Láurico (12:0)	—	—	—	—	—	—
Mirístico (14:0)	—	0.2	—	—	—	—
Palmítico (16:0)	48.3	11.2	8	—	—	—
Palmitoléico (16:1)	36.1	8.8	7	—	—	—
Esteárico (18:0)	—	1.9	1	—	—	—
Oléico (18:1)	—	29.3	37	—	—	—
Linoléico (18:2)	—	23.2	37	—	—	—
Linolénico (18:3)	—	23.1	9	—	—	—

a Datos tomados directamente del panfleto informativo de Protibel publicado por Bel Industries, Division Produits Industriels des Fromageries. B.P. 29208 75361 Cedex 08, Francia.

b Dichos valores se refieren específicamente a carbohidratos, distribuidos así: 47% glucogalactanos, 20% galactoman-

ano, 17: de glucomanano y de glicógeno.

c Se informa también los valores siguientes: zinc 0.45×10^3 y cobre 0.25×10^3 g/100 g y una serie de microelementos.

d Se informa también de la presencia de ácido butírico (C4), pentadecanóico (C15), heptadecanóico (C17), araquidónico (C20) y elcosenóico (C20:1).

e Tomado de los Cuadros 10 y 11 de Meyrath y Bayer (22).

f Tomado de los Cuadros 2 y 3 de Skogman (23).

g Informado como carbohidratos.

h Tomado de Cuadro 1 de Shaclady (93), Cuadros 1 y 2 de Shaclady (94, 95), Cuadros 1 y 2 de Shaclady (98) y Cuadro 3 de Levi *et al.* (97).

i Las levaduras que emplean carbohidratos como sustratos, aunque no están libres de ácidos grasos con número impar de átomos de carbono, generalmente poseen una mayoría de ácidos grasos con un número par de átomos de carbono. Sin embargo, la biomasa que se ha reproducido en alcanos contiene cantidades significativas de ácidos grasos con una longitud de su cadena similar a la del sustrato empleado (97).

j Tomado del Cuadro 2 de Birckenstaedt *et al.* (25).

k Datos de fenilalanina más tirosina.

l Dato de metionina más cistina.

m Tomado del Cuadro 3 de Takata (96) y Cuadro 3 de Levi *et al.* (97).

n Informado como carbohidratos.

o Tomado de los Cuadros 1-3 de Cardini *et al.* (99) y Cuadro 2 de Cardini *et al.* (100).

p Se informa de la presencia en proporciones pequeñas de ácidos cáprico, tridecanóico, pentadecanóico, heptadeca y heptadecanóico.

q Tomado de los Cuadros 5 al 8 de Onkouchi *et al.* (28).

r Tomado de los Cuadros 2 y 3 de Masuda *et al.* (29) y Cuadros 2, 3 y 5 de Masuda (30).

s Se informa de la presencia de pequeñas cantidades de ácidos tetradecanóico y heptadecanóico.

t Información suministrada directamente por Corporación Provesta, 15/7/83.

u Informado como carbohidratos.

v Se informa la presencia de pequeñas cantidades de heptadecanóico y trazas de mirístico, pentadecanóico, hexadecanóico, heptadecanóico, monadecanóico y monadecanóico.

w Información suministrada directamente por Pure Culture Products, Inc., 6/9/83.

x Informado como carbohidratos (por diferencia).

y Información suministrada directamente por Amber Laboratories, 29/7/83.

z Tomado de Cuadro 1 de Heisel (101) y Cuadro 1 (102).

COMPOSICION QUIMICA DE BACTERIAS PRODUCIDAS COMERCIALMENTE O EN UNIDADES PILOTO

Macrocomponentes (g/100 g base seca)	Productos de biomasa					
	[A] <i>Agaricus</i> ^a sp	<i>Pleurotus</i> ^a sp	[B] <i>Fusarium</i> ^a <i>graminearum</i>	[C] <i>Paecilomyces</i> ^d <i>variotti</i>	[D] <i>Chaetomium</i> ^a <i>cellulolyticum</i>	
Proteína cruda	16.4-62.4	12.7-43.4	54.1 (56.4) ^f	48-63	39	
Proteína verdadera	-	-	42.9 (48.1)	-	-	
Grasa	0.4- 8.0	1.0- 9.4	1.0 (12.4)	1-4	2	
Fibra cruda	4.8-12.4	7.5-27.8	14.7 (24.6)	6-9	18	
Extracto libre de nitrógeno	26.7-81.2 ^b	46.6-81.8 ^b	- (2.7)	25-35	-	
Cenizas	7.7-12.0	5.8-15.8	6.1 (3.8)	5-8	11	
Acidos nucleicos	-	-	6-13 (1.1)	7-10	-	
Clorofila	-	-	-	-	-	
Carotenoides	-	-	-	-	-	
Xantofila	-	-	-	-	-	
<i>Vitaminas</i> (mg/100 g base seca)						
Tiamina	0.3-8.9	4.8	- (0.04)	0.6-0.08	-	
Riboflavina	3.7-5.2	4.7	- (0.9)	3.6-7.0	-	
Piridoxina	trazas	-	- (0.5)	1.0-2.5	-	
Niacina	42.5-57.0	108.7	- (1.4)	27.8-48.8	-	
Acido pantoténico	trazas	-	- (1.0)	2.6-6.0	-	
Acido fólico	trazas	-	- (0.03)	1.2-2.0	-	
Biotina	trazas	-	- (0.07)	0.2	-	
Cianocobalamina	-	-	- (0.08)	-	-	
Acido ascórbico	26.5-81.9	0	-	-	-	
Beta caroteno	-	-	-	-	-	
Gama tocoferol	-	-	-	-	-	
<i>Minerales</i> (g/100 g base seca)						
Calcio	0.02-8.04	0.03	0.14 (0.2)	0.25-0.30	0.14	
Fósforo	0.79-1.53	1.55	1.58 (1.1)	1.8	1.63	
Magnesio	-	-	- (0.1)	0.1	0.12	
Sodio	0.64-2.45	0.84	0.05 (0.02)	0.1	-	
Potasio	1.21-4.76	3.79	- (0.03)	1.0-1.4	3.05	
Hierro	< 0.01-0.13	0.02	0.03 (trazas)	0.02	-	
<i>Aminoácidos</i> (g/16 g nitrógeno)						
Alanina	7.0	6.8	- (6.3)	5.9	6.3	
Arginina	6.6	5.7	- (7.7)	6.1-6.5	5.5	
Aspartato	8.5	9.1	- (9.9)	8.1	8.6	
Cistina	1.1	4.6	1.8 (0.8)	0.6-1.0	1.2	
Fenilalanina	4.3	3.1	4.4 (4.8)	3.7-4.2	6.6	
Glutamato	13.6	15.4	- (11.5)	12.0	10.7	
Glicina	4.8	4.4	- (4.6)	4.2	4.4	
Histidina	2.4	1.7	- (3.9)	2.2	2.1	
Isoleucina	4.2	4.8	4.8 (5.1)	3.8-4.6	3.8	

(Continúa)

(Continuación Tabla 5)

Leucina	6.7	6.8	6.5	(8.3)	6.7-7.1	6.4
Lisina	6.8	4.5	7.5	(8.1)	6.1-6.6	6.1
Metionina	1.8	1.4	1.9	(2.2)	1.3-1.6	1.8
Prolina	5.7	4.4	-	(4.7)	4.0	5.9
Serina	4.7	4.6	-	(5.1)	4.4	5.1
Treonina	4.8	4.4	5.1	(5.5)	4.2-4.8	5.7
Tirosina	2.9	3.0	4.1	(3.9)	3.2-3.5	4.3
Triptofano	1.8	1.1	-	(1.7)	1.4-1.5	1.6
Valina	4.5	5.0	7.2	(5.9)	4.6-5.1	4.4

Acidos grasos
(g/100 g de grasa)

Láurico (12:0)
Mirístico (14:0)
Palmitico (16:0)	.	.	.	(18.46)	.	.
Palmitoléico (16:1)
Esteárico (18:0)	.	.	.	(2.97)	.	.
Oléico (18:1)	.	.	.	(16.09)	.	.
Linoléico (18:2)	63-74	.	.	(50.41)	.	.
Linoléico (18:3)	.	.	.	(12.07)	.	.

- a Tomado de los Cuadros 1 al 3 de Crisan y Sands (34) y el Cuadro 3 de Hayes y Wright (35).
b Informado como carbohidratos.
c Tomado del Cuadro 6 de Anderson (103) y del Cuadro 3 de Duthie (104).
d Tomado de Cuadro de Romantschuk (36), Cuadro 1 de Romantschuk y Lehtomaki (37), Cuadro 2 de Heger (105), Cuadro 2 de Kiihinen *et al.* (106) y Cuadro 1 de Jaervinen *et al.* (107), Cuadros 1, 2 y 6 de Salo (108), Cuadro 1 de Lehtomaki (109).
e Información proporcionada directamente por Envirocon Ltd (#300-475 W Georgia St., Vancouver BC V6B 4M9, Canadá).
f Información proporcionada directamente por RHM Research Limited (The Lord Rank Research Centre, Lincoln Road, High Wycombe, Bucks HP12 3QR, England) Acidos nucleicos como ARN, fibra cruda como fibra de detergente neutro y extracto libre de nitrógeno como azúcares solubles en agua.

del Instituto de Microbiología Agraria y Técnica de la Universidad de Florencia, Italia, se ha producido biomasa de algas en plantas piloto, como parte de un programa más amplio de purificación de efluentes (14).

La composición química del alga *Scenedesmus acutus* 8M preservada por criodeshidratación ha sido discutida por Battaglini *et al.* (15) de la Facultad Agraria de Perugia, Italia.

[D] Desde 1970 el Gobierno de la República Federal de Alemania apoyó la transferencia de tecnología para cultivar algas desarrollada en Dortmund, grupo que ya no se encuentra activo y que en parte fue trasladado al Institut für Biotechnologie en Julich, hacia condiciones locales encontradas en India, Tailandia y Perú. Una de las algas producidas fue *Scenedesmus acutus* 273-3a cuya composición química representativa se encuentra anotada en la Tabla 2.

Bacterias

[A] El alga verde-azul (o cianobacteria) *Spirulina* sp se produce en varios lugares. En el Lago Texcoco, cercano a la ciudad de México, se cultiva la *S. maxima* o *S. geitleri* J. de Toni en los canales del caracol, o evaporador solar de la compañía Sosa Texcoco, S.A. El producto listado en la Tabla 3 ha sido preservado mediante deshidratación por aspersión en corriente de aire caliente.

[B] La Compañía Dainippon Ink & Chemicals, Inc. del Japón ha experimentado con la producción de biomasa de *Spirulina* sp preservada por deshidratación con aire.

[C] En el campo de los alimentos fermentados (16, 17) las bacterias lácticas juegan un papel muy importante en el desarrollo de los caracteres organolépticos propios de dichos productos (18), aunque poco se ha publicado de la composición química de dicha biomasa y sus características nutricionales. La distribución de aminoácidos, recientemente informada por Erdman *et al.* (19), se detalla en la Tabla 3.

[D] La empresa Imperial Chemical Industries (ICI) ha desarrollado un proceso comercial para producir biomasa de la bacteria *Methylophilus methylotrophus* en metanol, como substrato. El producto comercial se denomina "Pruteen" y se produce en una planta piloto de 50,000 tpa² que se completó en 1980.

[E] La compañía Mitsubishi Gas Chemical Co. Inc. en Tokio, Japón, ha operado una planta piloto en cooperación con Hitachi, Ltd., en la cual se ha producido biomasa de varias cepas de bacterias capaces de metabolizar el metanol.

[F] Las firmas Hoechst AG y Uhde GmbH de la República Federal de Alemania patrocinadas por el Ministerio de Investigación y Tecnología de ese país, han operado una planta piloto de 1000 tpa en la que han producido biomasa de bacterias en metanol. El producto se denomina "Probion" (20).

² tpa = Toneladas métricas por año.

[G] Por otra parte, la empresa Norprotein de investigación y desarrollo fue formada por la compañía sueca AB Marabou y el grupo químico noruego Norsk Hydro a.s., con el fin de desarrollar tecnología para producir biomasa bacteriana a partir de metanol. El desarrollo llegó a una planta piloto pequeña, pero en 1978/79 se decidió suspender el proyecto.

[H] Un proyecto conjunto entre Exxon y Nestec, utilizó la bacteria *Acitenobacter calcoaceticus* y como substratos etanol y carbohidratos. Se operó a escala de planta piloto y se llevaron a cabo extensas pruebas toxicológicas, así como de procesamiento para desarrollo de productos alimenticios. El proyecto fue cancelado hace varios años.

[I] Asimismo, la compañía Shell desarrolló un proceso para producir biomasa de un cultivo mixto de bacterias, empleando como substrato metano y gas natural. El proceso se llevó a una escala de pequeña planta piloto en el Centro de Investigaciones de Sittingbourne, Inglaterra.

[J] Por último, en el Instituto de Investigación Científica de Kuwait se ha llevado a escala de planta piloto, un proceso de cultivo mixto en metanol con dos bacterias termotolerantes localmente aisladas (21).

Levaduras

[A] La compañía Bel Industries en París, Francia, ha desarrollado tecnología para producir biomasa de *Kluyveromyces fragilis* en suero de queso desproteinizado. El producto se denomina "Protibel", se ha producido desde 1956 en una fábrica localizada en Vendome, y en 1977 se construyeron dos plantas más en Sable sur Sarthe y en Saint-Brice en Cogles, Francia. La biomasa es separada por centrifugación en dos etapas con un lavado con agua intermedio. Luego existen dos alternativas: a) filtración, plasmólisis, secado en tambores rotatorios, compactación y empaque, y b) concentración y plasmólisis seguida de deshidratación en aire caliente y empaque.

[B] En Klagenfurt, Austria, se encuentra en operación una empresa que produce biomasa de *Candida intermedia*, empleando el proceso llamado Vienna-Unterhartner-Molkerei (22). No se separa la biomasa, sino que el efluente del biorreactor se concentra hasta una humedad final de 12%, después de una termolisis.

[C] El proceso Symba utiliza dos levaduras, *Endomycopsis fibuliger* y *Candida utilis* en efluentes de naturaleza amilácea desarrollado por la Compañía del Azúcar de Suecia y la compañía de ingeniería suiza Chemap Co. La planta funcionó en Suecia en el período 1973-1979 (23).

[D] La British Petroleum desarrolló tecnología en el período 1963-1978 para producir biomasa de levaduras empleando hidrocarburos como substratos. La cepa de levadura empleada fue *Candida lipolytica* y el producto comercial se denominó "Toprina". Se operó una planta asociada a la refinería Lavera en Francia en un proceso no aséptico, empleando gas-oil como substrato. Otra planta en Grangemouth, Escocia, se operó como proceso alterno con n-parafi-

nas como sustrato y en un proceso aséptico. La escala de producción llegó a ser de 100,000 toneladas por año. Se han citado razones económicas por el aumento en los precios del petróleo, así como decisiones negativas de los Gobiernos de Italia y Japón como resultado de la presión de grupos de consumidores y de seguridad en la composición del producto, como las principales causas de que esta tecnología haya sido abandonada por la Compañía que la desarrolló. Si fueron con certeza éstas las únicas razones, o si hubo otras de carácter político-económico, debido a la franca competencia en el mercado europeo y japonés de este producto con la harina de soya en las formulaciones de concentrados para animales, es muy difícil o prácticamente imposible de confirmar. Quiera que no, la incógnita de la duda persistirá y las plantas comerciales construidas por las compañías italianas: Italproteina y Liquichimica así como las de British Petroleum, quedan como testigos de este desarrollo tecnológico.

[E] Durante los años 1970 a 1973, un consorcio de compañías que consiste de Hoechst, Uhde y Gelsenberg, desarrollaron un proceso para producir levaduras, usando N-parafinas como sustrato. La cepa escogida fue la *Candida lipolytica* FH-H-5027 (24). La biomasa producida en una planta piloto de 20 tpa se separa por centrifugación en dos etapas; luego sufre una termólisis, y finalmente se deshidrata en un secador por aspersión en aire caliente (25).

[F] La empresa japonesa Dainippon Ink and Chemicals Inc. (DIC), llevó a cabo una investigación a escala de laboratorio y planta piloto en los años 1960 y 1970, con el objeto de desarrollar tecnología para producir biomasa de levadura en N-parafinas. En marzo de 1975 se formó una nueva compañía denominada Roniprot, entre DIC y CIMCCL (Centrala Industriala de Medicamente, Cosmetice, Coloranti si Lacuri) de Rumanía, la cual instaló una planta de 60,000 tpa en la ciudad de Curtea de Arges, la cual se encuentra en operación. La biomasa de la levadura *Candida paraffinica* se separa por centrifugación en varias etapas con lavados con agua intermedios, se termoliza, se concentra en un evaporador, y se seca por aspersión en aire caliente (26).

[G] Kanegafuchi Chemical Industry Co. Ltd. de Japón desarrolló una tecnología para producir *Candida maltosa* en N-parafinas y diseñó la planta de Liquichimica SpA.

[H] El Instituto Francés del Petróleo (IFP) por su parte, estudió el proceso de producir levaduras de N-parafinas desde el comienzo de la década de los años 60 (27). Sin embargo, desde 1972 se ha cambiado de sustrato poniendo énfasis en el metanol. El microorganismo empleado es la *Pichia pastoris* IFP 206, cultivada a 35°C a un pH entre 3 y 3.5. La biomasa se separa en un decantador primario, filtra y lava con agua. La suspensión entonces se termoliza y se deshidrata con aspersión en aire caliente. El desarrollo se ha hecho en conjunto con Elf, CFR y Technip. Se han operado tres plantas piloto localizadas en Francia, Austria e India.

[I] Las compañías Societa Italiana Resine-SIR SpA y Euteco Impianti SpA de Milán, Italia, desarrollaron la tecnología para

producir *Candida boidini* SIR L170 en metanol en la década de los años 70, y han operado por varios años una planta piloto continua.

[J] Por otro lado, en Tokio, Japón, la compañía Mitsubishi Gas Chemical Co. Inc. desarrolló desde 1969, conjuntamente con el Instituto de Investigaciones en Fermentación de MITI del Gobierno japonés, tecnología para producir levadura de metanol en forma continua. En 1974 se construyó una planta piloto que operó juntamente con Hitachi Ltd y se emplearon tres cepas de levaduras: *Pichia aganobi* y-1023, *Torulopsis methanoescule* MT-8 y *Hansenula polymorpha* U-32. La biomasa se recupera por centrifugación, se termoliza y se deshidrata en aspersión en aire caliente. El polvo seco se granula, mezclándolo con la crema de levadura separada en la centrifuga (28).

[K] Asimismo, la Mitsubishi Petrochemical Co. ha desarrollado la tecnología para producir biomasa de las levaduras *Candida ethanotermophilum* y *C. acidothermophilum* en etanol. La biomasa se recupera por centrifugación en dos etapas con un lavado intermedio con agua; luego se concentra en un filtro rotatorio al vacío, para finalmente, deshidratarse por aspersión en aire caliente. Se operó una planta piloto de 50 tpa (29, 30).

[L] La Corporación Provesta subsidiaria de la Compañía Philips Petroleum ha desarrollado también tecnología para producir biomasa de levaduras en metanol o etanol (aunque el proceso puede ser empleado con glucosa o sacarosa). La cepa de levadura es de propiedad de la Compañía, obtenida a través de mutaciones, y está adaptada a un crecimiento continuo a altas densidades (120 a 150 gl⁻¹) lo que permite que todo el flujo del fermentador sea pasteurizado y secado por aspersión en aire caliente. El producto final destinado a la alimentación animal generalmente se comparte y se granula. El nombre comercial del producto es "Provesteen".

[M] Pure Culture Products, Inc. es una subsidiaria de Amoco Chemical Corp. que a su vez pertenece a la Compañía Standard Oil de Indiana, y opera desde 1975 una planta comercial con una capacidad nominal de 7,500 tpa para producir *Candida utilis* usando etanol como sustrato. La biomasa que se produce continuamente se separa por centrifugación, se pasteuriza y se deshidrata por aspersión en aire caliente. Luego el producto se procesa para obtener productos destinados al consumo humano, como ingrediente que proporciona ciertas características de sabor, funcionales y/o nutricionales. Los productos comerciales se denominan "Torutein", "Toruway" (mezclado con suero de leche), "Boost", "Zyest" (autolizados), "Pur-Cultur" y "Chezyer".

[N] La Compañía Amber Laboratories, que es propiedad de Universal Food Corporation, produce biomasa de *Kluyveromyces fragilis* en suero de leche. La biomasa se produce en forma de lotes con adición continua de sustrato, se recupera por centrifugación, se inactiva por pasteurización, y se deshidrata por aspersión en aire caliente. El producto comercial se conoce como "Nutrex 540".

[O] La Compañía Linde AG ha desarrollado tecnología para producir *Hansenula anomala* en etanol, empleando oxígeno puro. La densidad celular es de 100 gl⁻¹. La biomasa se recupera por centrifu-

gación o filtrado para luego deshidratarse en un secador al vacío de dos etapas especialmente diseñado en el cual el producto se granula. Existe en operación una planta piloto en Hoellriegelskreuth y una planta experimental de 120 tpa.

[P] En varios países de economía centralizada la producción de levaduras es una industria de gran volumen, principalmente en Rusia, Checoslovaquia, República Democrática Alemana, y Cuba. En el primero se emplean como substrato licores hidrolizados de madera e hidrocarburos. En el último se usan las mieles finales de ingenio; se produce también una miel enriquecida con biomasa mezclándose durante la formulación de concentrados para animales (31).

[Q] La Compañía Tate y Lyle (Research and Development Ltd) ha diseñado y construido una planta para tratar efluentes de una fábrica de confites empleando una cepa de *Candida utilis*. La capacidad es de 1-1.5 toneladas diarias del producto seco en un deshidratador de tambores rotatorios (32). La tecnología fue desarrollada desde el laboratorio y planta piloto (33).

Hongos

[A] La producción de setas y su consumo por el humano es una actividad distribuida en prácticamente todo el globo terráqueo. Algunas especies se producen en forma controlada y en algunos casos con un grado alto de mecanización. Por otro lado, otras se recogen de sus ecosistemas en donde crecen en una forma silvestre y natural. Entre ambos extremos existe una gran variedad de casos. La composición química de su biomasa varía influenciada por muchos factores como lo explican Crisan y Sands (34) y Hayes y Wright (35). De estos autores se ha resumido la información de *Agaricus sp.* y de *Pleurotus sp.*

[B] La compañía Rank-Hovis-McDougall ha desarrollado un proceso para producir hongos filamentosos para consumo humano de carbohidratos especialmente hidrolizados de almidón, y se ha operado una planta piloto durante varios años. La biomasa de *Fusarium graminearum* A315, que es una de las cepas de hongos finalmente escogidas, se separa por filtración, se lava y se seca por aspersión en aire caliente. Luego, la biomasa se procesa y acondiciona para lograr propiedades funcionales especiales.

[C] En Finlandia, con el patrocinio del grupo privado SITU se desarrolló en 1963 la tecnología para producir el hongo filamentoso *Paecilomyces varioti* en los licores residuales del proceso sulfito para elaborar papel. Se encuentra una planta en operación en Manta. Durante algunos años funcionó otra planta en Jamsanroski. La producción es continua y la biomasa se recupera en un filtro rotatorio en donde se lava, luego se prensa para eliminar agua, y se deshidrata con aire caliente (36, 37).

[D] La compañía Envirocon Ltd de Vancouver, Canadá, ha construido una planta piloto de media tonelada por día para crecer el hongo *Chaetomium cellulolyticum* en efluentes de plantas de papel. El proceso es el denominado Waterloo por ser científicos del Depar-

tamento de Ingeniería Química de dicha universidad, los inventores del mismo (38, 39). La operación, tanto por tandas como semicontinua, se encuentra sujeta a optimización, y el producto está evaluándose en pruebas de alimentación animal.

Efecto de Algunos Parámetros sobre la Composición

Es un hecho conocido que durante el crecimiento por tandas de los microorganismos, la concentración de nutrientes en el medio disminuye; a su vez la velocidad específica de crecimiento varía antes y después de la fase exponencial. Recientemente, Martini, Martini y Miller (40) evaluaron para ocho especies diferentes de levaduras la variación en el contenido total y la distribución de aminoácidos, así como el contenido de ARN al tomar muestras en: a) la parte media del crecimiento exponencial; b) la parte final de la fase exponencial, y c) la fase estacionaria. Como puede observarse en la Tabla 6, hubo tendencia a disminuir en los contenidos de aminoácidos totales y ARN. El descenso de este último parámetro fue más significativo en *K. fragilis*, *S. castelli*, *C. utilis* y *S. uvarum*. En cuanto a los aminoácidos individuales, se observó una tendencia general hacia un ligero descenso, más marcado en triptofano, glutamato, lisina, prolina y arginina. El ARN en la célula juega un papel primario en la síntesis proteínica. Lógico es entonces, que mientras más rápida sea esa síntesis proteínica, más alto sea el contenido de ARN. El primer factor es proporcional a la velocidad específica de crecimiento, por lo que el descenso que muestra la Tabla 6 para el ARN ya había sido previsto. Datos para *C. utilis* en cultivo continuo han sido presentados por Alroy y Tannenbaum (41) y Paredes, Camargo y Ornelas (42). Nótese cómo el descenso de ARN con la velocidad de crecimiento influye sobre el cociente ARN:contenido total de aminoácidos. Dichos valores son representativos de los informados anteriormente en la literatura. Los cambios leves en el contenido de los aminoácidos específicos no son fácilmente explicables. Como comentan Alroy y Tannenbaum (43, 44) era de prever algún cambio si existiese un grupo de proteínas, como las proteínas de los ribosomas, que debido a su interacción con los ácidos nucleicos, tuviesen una relación definida entre su composición y su función. Estos autores también encontraron una disminución de la lisina y la arginina al disminuir la tasa específica de crecimiento en *C. utilis*. Los datos de Martini, Martini y Miller (40) son interesantes ya que muchos esquemas no tradicionales de producción de biomasa, aplicables a sustratos renovables en países tropicales, se han desarrollado empleando esquemas de operación por tandas. Estos datos permiten definir un criterio alternativo para fijar el tiempo de cada tanda como aquél en el que se minimice el cociente ARN:aminoácidos, por los problemas nutricionales que presentan los ácidos nucleicos.

Magalhaes, Vairo y Borzani (45, 46) estudiaron el efecto de la adición de nitrógeno a mieles de purga convertidas a etanol por levaduras, sobre el contenido de aminoácidos de la biomasa de levaduras resultante. El contenido total de aminoácidos aumentó en un 40%

TABLA 6

**VARIACION DE ALGUNOS COMPONENTES NITROGENADOS
EN ESPECIES DE LEVADURAS DURANTE SU FASE DE
CRECIMIENTO***

Cepa de levadura	Fase de crecimiento	Contenido total de aminoácidos	Contenido de ARN	Cociente ARN: aminoácidos	Lisina	Triptofano	Glutamato	Prolina	Alanina
<i>K. fragilis</i> UCD 71.58	MFE ^b	44.4	14.0	0.32	1.9	0.7	5.2	1.8	3.3
	FFE	44.6	12.7	0.28	1.8	0.9	5.7	1.9	3.4
	FE	41.4	9.3	0.22	1.7	0.6	4.4	1.4	2.9
<i>S. cerevisiae</i> UCD C88	MFE	34.5	6.3	0.18	2.9	0.3	4.9	1.7	2.3
	FFE	29.2	6.1	0.21	2.1	0.4	3.9	1.3	2.0
	FE	33.3	5.8	0.17	1.9	0.4	4.0	1.4	2.3
<i>C. utilis</i> UCD C35	MFE	43.3	9.1	0.21	1.8	0.6	5.8	1.7	3.1
	FFE	39.4	6.9	0.18	1.7	0.4	4.9	1.5	3.0
	FE	39.0	6.2	0.16	1.6	0.5	4.2	1.6	2.9
<i>C. castelli</i> UCD 58.7	MFE	42.4	12.7	0.30	2.0	0.4	5.9	1.5	2.8
	FFE	42.4	8.9	0.21	2.1	0.4	5.1	1.5	2.6
	FE	38.8	7.9	0.20	1.5	0.3	4.4	1.4	2.6
<i>S. uvarum</i> IMAT-PG1802	MFE	51.1	14.0	0.27	2.2	0.5	7.2	2.1	3.7
	FFE	50.4	11.2	0.22	2.5	0.4	6.7	2.0	3.2
	FE	49.0	11.2	0.23	2.3	0.4	5.7	1.9	3.3

(Continúa)

(Continuación Tabla 6)

<i>S. ludwigi</i> IMAT-PG2675	MFE	36.6	7.5	0.20	2.1	0.2	5.4	1.2	2.3
	FFE	33.6	7.2	0.21	1.5	0.4	4.4	1.1	2.4
	FE	33.3	7.0	0.21	1.4	0.3	4.6	1.1	2.4
<i>P. membranafaciens</i> UCD 57.22	MFE	35.4	8.5	0.24	1.6	0.4	5.2	1.5	3.2
	FFE	32.5	7.9	0.24	1.6	0.5	3.7	1.3	2.5
	FE	33.9	6.3	0.19	1.5	0.4	3.9	1.3	2.5
<i>L. starkeyi</i> UCD 51.55	MFE	31.6	5.2	0.16	1.2	0.3	7.4	1.2	1.9
	FFE	23.2	5.2	0.22	1.0	0.3	2.5	0.7	1.7
	FE	23.4	5.5	0.24	0.9	0.4	4.4	0.6	1.5

a Tomado de Martini *et al.* (40). Datos expresados como g/100 g¹ de peso seco celular.

b MFE = Media fase exponencial (velocidad específica de crecimiento máxima; FFE = Final fase exponencial (inicio del descenso de la tasa específica de crecimiento; FE = Fase estacionaria = Tasa específica de crecimiento menor).

al emplear sulfato de amonio y en un 59% al emplear urea. Los aminoácidos que más aumentaron fueron la alanina y el glutamato, según se aprecia en la Tabla 7. Los esquemas productores de etanol y biomasa a partir de mieles de purga son una alternativa interesante para los países tropicales, por lo que los datos obtenidos por Borzani y colaboradores en São Paulo, Brasil, son de mucho interés. Santos Oliveira (47) encontró que la adición de 400 µg de pantotenato de calcio al inicio de una tanda de crecimiento de *Candida utilis* en mieles de purga de caña con la adición de nitrógeno (inorgánico u orgánico), incrementaban el contenido de cenizas, levemente el nitrógeno proteínico y la riboflavina (ver Tabla 8). Nótese también en la misma Tabla 8 que el nitrógeno inorgánico se transforma más eficientemente en proteína celular que los aminoácidos presentes en el medio, aunque la distribución de algunos aminoácidos de interés permanece casi igual en ambos casos. Jigami, Suzuki y Nakasato (48) han demostrado que la fuente de carbono y energía afecta el contenido de lípidos neutros y la distribución de ácidos grasos de los componentes

TABLA 7

CAMBIO DE ALGUNOS AMINOACIDOS DE LA LEVADURA DE DESTILERIA AL SUPLEMENTAR MIELES DE PURGA DE CAÑA CON NITROGENO INORGANICO^a

Aminoácido	Más sulfato de Control ^b	amonio ^c	Más urea ^d
Alanina	1.88	3.79	4.50
Arginina	1.42	2.02	2.38
Aspartato	3.53	4.50	4.71
Fenilalanina	1.54	1.72	1.85
Glicina	1.44	1.91	2.07
Glutamato	3.83	6.89	8.52
Histidina	0.67	0.79	1.08
Isoleucina	1.41	1.93	2.16
Leucina	2.29	2.98	3.24
Lisina	2.45	3.36	3.60
Metionina	0.46	0.54	0.68
Prolina	1.18	1.50	1.64
Serina	1.76	2.16	2.45
Tirosina	1.30	2.62	1.70
Treonina	1.79	2.16	2.38
Valina	1.88	2.49	2.74

a Tomado de Magalhaes *et al.* (45). Datos expresados como %.

b Concentración de nitrógeno: 0.56 g l⁻¹ (cantidad original presente en las mieles).

c Adición de sulfato de amonio hasta llegar a 1.20 g l⁻¹.

d Adición de urea hasta llegar a 1.20 g l⁻¹.

TABLA 8
EFFECTO DE LA ADICION DE PANTOTENATO DE CALCIO SOBRE ALGUNOS
PARAMETROS ANALITICOS DE LA BIOMASA DE LEVADURA^a

Item	Fuente de nitrógeno							
	Amoníaco		Sulfato de amonio		Urea		Acido glutámico	
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
Cenizas, %	9.56	11.55	9.22	8.89	7.70	11.15	7.49	8.46
Nitrógeno proteínico, %	5.61	6.07	5.31	5.30	5.97	5.85	4.44	4.34
Riboflavina, g/1000 g	53.8	68.0	54.0	73.0	58.0	64.0	49.0	55.0
Lisina, g/16 g nitrógeno	7.8	9.4	8.7	8.9	8.7	8.8	9.4	9.2
Metionina g/16 g nitrógeno	1.8	1.8	1.7	1.5	1.4	1.3	1.9	1.8
Triptofano g/16 g nitrógeno	1.1	1.2	1.5	1.4	1.0	1.1	1.6	1.6

(1) Sin pantotenato de calcio.

(2) Con pantotenato de calcio.

a Tomado de los Cuadros 2, 3, 4 y 6 de Santos Oliveira (47).

lípidos individuales de la biomasa de *Candida guilliermondii*. Células crecidas en 0.8% p/v de metanol a 30°C en presencia de 0.025% de sulfato de amonio contenían 12% de lípidos totales, 67% de los cuales eran lípidos neutros. En cambio al crecer en glucosa (0.74%) o etanol (0.53% p/v), la biomasa contenía 21-22% de lípidos totales, 80% de los cuales eran lípidos neutros. La distribución de ácidos grasos puede observarse en la Tabla 9; el efecto del etanol es aumentar el ácido oleico y reducen el contenido de ácido palmítico. El metanol disminuye drásticamente el ácido oleico, aumentando el palmítoleico y el linoleico. Los efectos de diferentes fuentes de carbono y nitrógeno en la composición química de los lípidos en biomasa de hongos filamentosos también han sido estudiados recientemente por Bhatia y Arneja (49) en *Fusarium oxysporum*, y Farag *et al.* (50) en *Tolyposporium ehrenbergii* y *Sphacelatheca reiliana*. Estos datos son de interés por la posibilidad de diseñar sistemas en los cuales pueda producirse simultáneamente biomasa microbiana como fuente de lípidos y proteína. Farag *et al.* (50) han discutido las características similares y de variabilidad en la composición de ácidos grasos encontrados en diferentes especies de hongos. Los ácidos grasos saturados palmítico, esteárico y araquídico y los insaturados (16:1, 18:1 y 18:2) estuvieron presentes en todas las especies. El ácido oléico fue el componente individual mayoritario. La fracción insaponificable de la grasa a su vez estuvo formada por una fracción de hidrocarburos, que constituyó el 30 al 81%, y una fracción de esteroides.

Weaver, Kroger y Kneebone (51) analizaron el contenido de proteína y aminoácidos de nueve cepas representativas de las cuatro variedades de la especie comercial de ceta *Agaricus bisporus* (Lange) producidos en el Estado de Pensilvania. El contenido de proteína cruda varió entre 19.4 y 38.8% en base seca. La sumatoria de aminoácidos entre 19.8 y 30.6 en % en base seca. En la Tabla 10 se observa la distribución de aminoácidos entre las cepas, la que da una idea de la variación esperada y de la importancia que tiene el escoger adecuadamente la cepa a emplear.

Cuando la temperatura del medio disminuye, la insaturación de los ácidos grasos debería aumentar y la longitud de las cadenas de los ácidos grasos debería disminuir con el objeto de mantener las grasas en estado líquido. Moon y Hammond (52) y Okuyama *et al.* (53) han obtenido datos experimentales de este efecto con levaduras. Los primeros autores, trabajando con *Candida curvata* y *Trichosporon cutaneum*, encontraron que la insaturación era levemente mayor a 15°C que a temperaturas cercanas a 30°C con excepción de la cepa *T. cutaneum* 40. El cociente palmitato: estearato que debería subir al bajar la temperatura se mantuvo constante o decreció con excepción de *T. cutaneum* 24, en el que sí subió. Los segundos autores encontraron que en *Saccharomyces cerevisiae* a 30°C este cociente es de 1.5 subiendo hasta 5.5 a 5°C. Chavant, Sancholle y Montant (54) resumen los datos experimentales para hongos filamentosos termófilos, mesófilos y psicrófilos, que confirman ambas tendencias. La insaturación se manifiesta generalmente con un aumento en la proporción de ácidos grasos 18:2 y 18:3. Por otro lado las membranas de bacterias

TABLA 9
COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS EN % DE LA FRACCION DE TRIGLICERIDOS
EN LA BIOMASA DE *C. guilliermondii*^a

Fuente de carbono ^b	Acidos grasos									
	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1	18:2	18:3
G	0.2	0.1	17.2	5.6	0.6	1.6	2.4	47.5	19.5	5.4
E	0.2	0.1	11.1	3.8	— ^c	0.2	2.7	57.7	19.8	4.5
M	0.6	0.2	14.4	10.9	—	0.9	0.8	33.4	35.5	3.3

a Tomado del Cuadro 2 de Jigami *et al.* (48).

b G = glucosa, E = etanol, M = metanol.

c No fue detectado.

TABLA 10
COMPOSICION DE AMINOACIDOS DE NUEVE CEPAS DE
Agaricus bisporus^a

Aminoácidos	Cepa									Promedio
	D26	324	310	340	318	348	322	321	341	
Alanina	9.7	8.6	10.7	9.1	10.7	9.5	10.9	8.8	9.1	9.6
Arginina	5.3	6.0	4.1	5.8	4.3	5.5	5.0	6.5	6.0	5.5
Aspartato	11.2	10.9	11.2	11.2	10.2	10.5	10.5	10.3	10.1	10.7
Fenilalanina	4.6	4.4	4.7	4.5	4.7	4.3	4.2	4.3	4.1	4.4
Glicina	4.9	4.9	5.7	5.3	5.0	5.0	4.6	5.0	5.0	5.1
Glutamato	14.3	18.5	16.3	18.1	14.5	17.1	18.3	17.0	19.1	17.2
Histidina	2.2	2.5	1.6	2.0	1.7	2.2	2.2	2.3	2.3	2.2
Isoleucina	4.7	4.3	4.6	4.3	4.3	4.1	4.0	3.9	4.0	4.3
Leucina	7.2	7.0	7.9	7.5	7.7	7.1	6.7	7.3	6.7	7.2
Lisina	12.1	10.8	8.1	8.4	7.7	9.8	10.9	11.2	10.9	10.0
Prolina	5.6	5.4	4.8	5.6	10.4	6.1	5.4	5.7	5.4	6.1
Serina	5.1	4.8	5.8	5.3	5.4	5.3	5.1	5.6	4.6	5.2
Treonina	5.0	4.7	5.6	5.2	5.1	4.7	4.8	4.7	4.3	4.9
Tirosina	2.6	2.5	2.9	2.3	2.5	2.3	2.1	2.2	2.1	2.2
Valina	5.5	4.8	5.9	5.1	5.8	5.3	5.3	5.1	5.2	5.3

a. Tomado de los Cuadros 1 y 4 de Weaver *et al.* (51). Datos expresados como g/100 g proteína.

termoacidofílicas, como el grupo *Caldariella*, están formadas por lípidos no comunes basados en tetraéteres macrocíclicos que contienen pares de cadenas isoprenóicas bifuncionales (55) que, al parecer, son característicos en las denominadas "arcaeobacterias" (56). El caso de buscar microorganismos termofílicos es de interés para países tropicales, en donde los costos de enfriamiento pueden llegar a duplicarse en el caso de operar a temperaturas mesofílicas. Hamdan y Salman (21) ofrecen perfiles de algunos aminoácidos en función de la temperatura para una bacteria aislada localmente y crecida en metanol en cultivo continuo. Los resultados muestran una tendencia a maximizar el contenido de los mismos alrededor de 44°C.

La propagación de la biomasa en ciertos substratos puede inducir a la acumulación de compuestos que generalmente se encuentran en muy pequeñas cantidades. Tal el caso de la acumulación de ácidos grasos de carbono impar en la grasa de levaduras, que han empleado como fuente de carbono y energía parafinas o alcanos de cadena con un número de átomos de carbono impar. Estos datos pueden observarse en la Tabla 11, en la que se compara la distribución de ácidos grasos de varias cepas de levaduras y en donde puede observarse la alta proporción de C15:0 y C17:1 en *C. rugosa* crecida en alcano C15. En principio este hecho causó alarma por sus posibles efectos adversos nutricionales, pero los mismos se minimizaron al encontrarlos también en diversos alimentos.

La fracción insaponificable es generalmente elevada en hongos y puede llegar a ser mayoritaria, como se ilustra en la Tabla 12. El ergosterol es el esteroles más frecuentemente encontrado y mayoritario. Los esteroides I, II y IV se encuentran también en las levaduras, y conforman el 89% de la fracción esteroideal de *Candida tropicalis* crecida en n-alcanos (57).

Es indudable que las setas u hongos perfectos comestibles tienen importancia en la dieta humana y un enorme potencial como fuente de nutrientes. Los compuestos nitrogenados no-proteínicos presentes en los mismos están formados principalmente por aminoácidos libres, quitina, ácidos nucleicos, amoníaco, algunas aminas, sales cuaternarias de amonio, volátiles y ciertas vitaminas (58). Estos compuestos nitrogenados no-proteínicos pueden oscilar desde 10-13 en *Boletus edulis*, hasta 50-53% del nitrógeno total en *Tricholoma nodum* (58). Li y Chang (59) encontraron que la cantidad de ácidos nucleicos en *Agaricus bisporus*, *Pleurotus cystidiosus*, *Pleurotus sajor-caju* y *Volvariella volvacea* variaba desde 2.6 hasta 4.1% en base seca, lo que los hace los microorganismos con menor porcentaje relativo. De las vitaminas que contienen nitrógeno, la niacina, el ácido pantoténico, la riboflavina y la tiamina son mayoritarias (58). Aun cuando las setas no son las mejores fuentes de estas vitaminas, pueden llegar a ser importantes, por ejemplo en dietas vegetarianas o pobres en alimentos de origen animal. Makinen, Kurkela y Parikka (60) han estudiado el contenido de tiamina en nueve variedades diferentes, encontrando que varía desde 0.39 hasta 1.1 mg/100 g¹ de materia seca. Dicho contenido es una función de las operaciones post-cosecha y de procesamiento posteriores, tema que se discutirá en otra oportu-

TABLA 11
DISTRIBUCION DE ACIDOS GRASOS EN ALGUNAS LEVADURAS
EN DIFERENTES SUBSTRATOS^a

Acido graso	<i>Candida rugosa</i> ^b (fase exponencial)		<i>Lipomyces kononenkoae</i> ^c (fase estacionaria inicial)		<i>Candida boidini</i> ^d (fase estacionaria tardía)		<i>Hansenula polymorpha</i> ^d (fase estacionaria tardía)	
	Glucosa	Alcano C ₁₆	Alcano C ₁₅	Almidón soluble	Metanol	Glucosa	Metanol	Glucosa
10:0	t	0.71	t	-	-	-	-	-
10:1	t	-	-	-	-	-	-	-
11:0	t	t	t	-	-	-	-	-
11:1	t	-	-	-	-	-	-	-
12:0	t	t	t	t	0.5	t	1.0	t
12:1	-	-	-	-	-	-	-	-
12:2	0.55	0.30	-	-	-	-	-	-
13:0	-	-	t	1.3-1.8	-	-	-	-
13:1	-	-	0.88	-	-	-	-	-
14:0	t	t	t	0.8-1.1	0.6	1.0	t	0.2
14:1	t	-	-	t	0.4	t	t	-
15:0	0.42	t	31.59	t	0.2	t	0.2	t
15:1	-	-	1.56	-	-	-	-	-
16:0	10.57	23.90	t	20.0-25.3	18.7-19.2	19.0	13.5-14.8	15.6
16:1	7.31	28.97	t	4.7- 8.8	17.5-28.8	19.9	2.5-4.5	6.3
16:2	0.51	3.93	-	2.0- 4.2	3.0- 3.1	2.9	1.7-2.1	t
17:0	t	-	2.24	t	-	-	t	-
17:1	0.70	1.27	32.53	-	-	-	-	-
18:0	1.52	0.87	25.81	1.6- 3.7	2.3-3.1	5.0	1.9-4.7	7.5
18:1	28.02	13.71	1.62	33.5-46.9	29.8-30.5	10.9	38.3-52.3	24.9
18:2	48.49	21.46	3.77	6.3-25.7	13.2-28.4	41.3	22.9-35.5	41.2
18:3	-	-	-	-	0.4	t	1.8-2.3	4.2

- a Expresados como % de la materia grasa total.
b Tomado de los Cuadros 1-3 de Iida *et al.* (110).
c Tomado del Cuadro 3 de Hossack y Spencer-Martins (111).
d Tomado del Cuadro 2 de Rattray y Hambleton (112).

TABLA 12
DISTRIBUCION DE ESTEROLES EN HONGOS^a

Hongo	Lípidos totales ^b	Materia ^c insaponificable	Esteroles ^d					
			I	II	III	IV	V	VI
1. <i>Piptorus betulinus</i>	17.6	74.8	-	73.4	26.6	.	.	.
2. <i>Coriolus pargamenus</i>	0.7	25.0	59.3	.	.	40.7	.	.
3. <i>Coriolus versicolor</i>	0.5	50.0	49.0	31.0	.	20.0	.	.
4. <i>Coriolus heteromorphus</i>	2.1	17.2	.	70.1	29.9	.	.	.
5. <i>Formitopsis cytisina</i>	1.0	40.0	73.3	26.7
6. <i>Formitopsis pinicola</i>	2.1	16.4	70.8	.	.	29.2	.	.
7. <i>Microporus flabelliformis</i>	1.5	12.5	68.4	.	31.6	.	.	.
8. <i>Gloephyllum saepiarium</i>	0.3	51.4	45.4	34.2	.	20.4	.	.
9. <i>Cryptoderma citrinum</i>	1.5	10.0	57.5	22.1	.	20.4	.	.
10. <i>Grifola frondosa</i>	1.5	50.0	80.3	.	.	19.7	.	.
11. <i>Hygrocybe punicea</i>	3.6	11.2	78.8	.	21.2	.	.	.
12. <i>Lampteromyces japonicus</i>	15.6	24.7	45.6	.	54.4	.	.	.
13. <i>Leucopaxillus giganteus</i>	2.9	22.5	85.9	.	7.3	.	6.8	.
14. <i>Lentinus edodes</i>	5.3	26.9	83.6	.	16.4	.	.	.
15. <i>Flamulina velutipes</i>	5.0	15.5	45.3	14.1	10.5	.	.	30.1
16. <i>Amanita caesarea</i>	11.0	7.0	82.5	.	17.5	.	.	.
17. <i>Coprinus atramentarius</i>	2.5	18.1	24.5	.	75.5	.	.	.
18. <i>Russula foetens</i>	.	10.7	70.9	.	29.1	.	.	.
19. <i>Russula nigricans</i>	7.4	8.9	83.8	.	16.2	.	.	.
20. <i>Russula senecis</i>	5.8	26.5	84.5	.	.	15.5	.	.

a Tomado de los Cuadros 2 y 5 de Yokokawa (113) y de los Cuadros 1 y 2 de Yokokawa y Mitsuohshi (114).

b Como % de la materia seca.

c Como % de los lípidos totales.

d Como % de la fracción esteroideal; I = ergosterol; II = ergosta-7,22-dien-3 β -ol; III = ergosta-5,7-dien-3 β -ol; IV = ergosta-7-en-3 β -ol; V = colestá-7-en-3 β -ol; VI = ergosta 5,8,22-trien-3 β -ol.

tunidad. Los mismos aminoácidos que conforman la proteína son los que generalmente ocurren como aminoácidos libres, llegando a representar entre 0.5 y 2.0 de la materia seca (58). También están presentes aminoácidos no comunes y ciertos derivados de éstos, por ejemplo la agaritina o derivado que contienen el grupo funcional de las fenilhidrazinas y que a menudo se encuentra en el hongo comercial *A. bisporus* (61). Existen también aminor volátiles y otros compuestos azufrados derivados del nitrofenil (58); sin embargo, los compuestos volátiles que conforman el aroma característico de las setas son una mezcla muy compleja en la que la mayoría son los alcoholes y cetonas de ocho carbonos conjuntamente con el alcohol y aldehído bencílico, el hexanol y el 3-metilbutanol (62). Estos compuestos se originan enzimáticamente de ácidos grasos insaturados C_{18} (63). La asimilación de metales presentes en los substratos y su traslado hacia las partes fructificantes ha sido tema de interés especialmente enfocado a metales tóxico-pesados como el mercurio y el cadmio. Brunnert y Zadrazil (64) recientemente estudiaron este fenómeno en varios hongos y demostraron que son capaces de acumular cadmio y mercurio a niveles bastante elevados. La asimilación depende de la variedad de setas, la concentración en el substrato, y el grado de biodegradación del mismo.

El contenido de vitaminas de algunos microorganismos fotosintéticos (algas y cianobacterias) cultivados en el laboratorio se exponen en la Tabla 13. La biomasa de estos microorganismos supera en su contenido de tiamina, riboflavina, ácido fólico y caroteno a muchas hortalizas. Tienen aproximadamente igual o un poco menor el contenido de ácido ascórbico. No obstante, las cifras absolutas de estos compuestos dependen de las condiciones de cultivo y, en muchos casos existe un equilibrio entre la excreción al medio de cultivo y la asimilación del medio hacia la célula, por ejemplo el caso de la acumulación de riboflavina por la levadura *Candida guilliermondii* (65). Cuando las levaduras *Candida lipolytica* y *Candida boidini* se desarrollaron en diferentes substratos con la adición de nitrógeno, fósforo, magnesio y extracto de levadura, mostraron contenidos similares de cenizas, y no se encontraron diferencias significativas en la concentración de los elementos (66), (Tabla 14).

La literatura técnica sobre los aspectos de la variación de la composición química de la biomasa microbiana como causa directa de las condiciones generales de cultivo es extensa, y los ejemplos que en este trabajo han sido mencionados brevemente sirven como una pequeña muestra.

TABLA 13
CONTENIDO VITAMINICO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS FOTOSINTETICOS^a

Microorganismo	Vitaminas					
	Acido ascórbico	Caroteno	Tiamina	Riboflavina	Acido fólico	Acido nicotínico
Algas						
<i>Chlorella vulgaris</i>	242	166	4.3	5.9	1.67	29.2
<i>Platimonas viridis</i>	54	153	2.0	3.0	.	.
Cianobacterias						
<i>Synechococcus elongatus</i>	195	186	2.0	4.1	5.5	16.9
<i>Spirulina platensis</i>	212	234	4.8	6.6	6.7	9.1
<i>Cyanidium caldarium</i>	66	112	2.2	4.8	0.2	31.4

^a Tomado del Cuadro 1 de Bayanova y Trobachev (115). Expresados como mg% de materia seca.

TABLA 14

**ELEMENTOS MINERALES EN LA BIOMASA DE *C. lipolytica* Y *C. boidini*
COMPARADA CON LEVADURA DE PANIFICACION COMERCIAL^a**

Elemento	Levadura de panificación (<i>S. cerevisiae</i>)	<i>C. lipolytica</i>		<i>C. boidini</i>			
		Glucosa	C ₁₅ +C ₁₆ ^b	Glucosa	Xilosa	Etanol	Metanol
K	20,100	10,800	11,700	20,500	19,200	10,400	15,500
Na	592	116	78	74	91	64	64
Mg	1,246	572	1,088	2,760	1,739	1,395	2,636
Ca	392	294	135	253	245	373	434
P	23,800	29,300	30,500	39,500	34,200	35,200	39,600
Fe	56	66	112	149	120	109	253
Ca	5	8	4	12	15	32	21
Zn	294	59	59	193	167	135	204
Cd	0.3	0.5	0.8	1.3	2.5	1.2	2.6
S	2,100	1,200	1,800	2,100	2,000	1,600	1,700
Cenizas, %	5.9	4.4	4.9	7.4	7.5	5.3	5.9

a Tomado del Cuadro 1 de Mannino y Cavazzoni (65). Datos expresados en ppm base seca.

b Mezcla en partes iguales de pentadecano y esadecano.

SUMMARY

CHEMICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF MICROBIAL BIOMASS PRODUCTS

The nutritional potential of microbial biomass products is determined by their chemical and biochemical characteristics. The same vary according to the microbial species, the source of nutrients employed for their growth, the operational mode of bioreactor and, finally, due to processing effects during growth or in the unit operations employed for its recovery. In this review, a detailed chemical description is given for those microbial biomass products from algae, bacteria, yeast and fungi, which have been either commercially produced or produced for demonstration purposes in pilot installations. Lastly, the effect of some operational parameters over the biomass chemical composition are illustrated in order to show general tendencies that have been experimentally observed, without a claim to be an exhaustive literature review of all aspects involved.

AGRADECIMIENTOS

El autor desea agradecer el patrocinio parcial del Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico de la Organización de Estados Americanos (OEA), dentro del Proyecto Multinacional de Tecnología de Alimentos.

BIBLIOGRAFIA

1. Mateles, R.I. & S.R. Tannenbaum. *Single Cell Protein*. Cambridge, MA, The MIT Press, 1968.
2. Tannenbaum, S.R. & D.I.C. Wang. *Single Cell Protein II*. Cambridge, MA, The MIT Press, 1975.
3. Mateles, R.I. The physiology of single cell protein (SCP) production. In: *Microbial Technology Society for General Microbiology Symposium 29*. A.T. Bull, D.C. Ellwood and C. Ratledge (Eds.). Cambridge, England, Society for General Microbiology, 1979, p. 29.
4. Rose, A.A. History and scientific basis of large scale production of microbial biomass. In: *Microbial Biomass*. A.H. Rose (Ed.). London, England, Academic Press, 1979, p. 24.
5. Kihlberg, R. The microbe as a source of food. *Ann. Rev. Microbiol.*, 26: 427, 1972.
6. Tannenbaum, S.R., C.L. Cooney, A.M. Demain & L. Havergerg. Non-photosynthetic SCP. In: *Protein Resources and Technology: Status and Research Needs*. M. Milner, N.S. Scrimshaw & D.I.C. Wang (Eds.). Westport, Conn., The Avi Publishing Co., 1978, p. 502.
7. Forage, A.J. Utilization of agricultural and food processing wastes containing carbohydrates. *Chem. Soc. Rev.*, 8: 309, 1979.
8. Enebo, L. Growth of algae for protein: State of the art. *Chem. Eng. Prog. Symp. Series 65*: 80, 1969.
9. Tsukada, O. & T. Kawahara. Mass culture of *Chlorella* in Asian countries. In:

- Biological Solar Energy Conversion.** A Mitsui, Sh. Myachi, A. San Pietro and S. Tamura (Eds.). New York, N.Y., Academic Press, 1977, p. 363.
10. Kawaguchi, K. Microalgae production systems in Asia. In: **Algae Biomass.** G. Shelef and J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 25.
 11. Shelef, G., Y. Azov, R. Moraine & G. Oron. Algal mass production as an integral part of a wastewater treatment and reclamation system. In: **Algae Biomass.** G. Shelef and J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 163.
 12. Lipstein, B. & S. Hurwitz. The nutritional and economic value of algae for poultry. In: **Algae Biomass.** G. Shelef and J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 667.
 13. Lipstein, B. & S. Hurwitz. The nutritional value of algae for poultry. Dried *Chlorella* in broiler diets. *British Poultry Sci.*, 21: 23, 1980.
 14. Balloni, W., C. Filpi & G. Florenzano. Recent trends in the research on wastewater reclamation by photosynthetic bacterial and algal systems. In: **Algae Biomass.** G. Shelef and J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 217.
 15. Battaglini, M., A. Grandi, C. Paoletti & B. Pushparaj. Sull'uso di biomasse di *Scenedesmus acutus* 8M come concentrato proteico sostitutivo in razioni alimentari per canigli in accrescimento. *Zoot. Nutr. Anim.*, 5: 211, 1979.
 16. Rose, A.H. **Fermented Foods.** London, Academic Press, 1982.
 17. Steinkraus, K.H. Traditional food fermentations as industrial resources. *Acta Biotechnol.*, 3: 3, 1983.
 18. Carr, J.G., C.V. Cutting & G.C. Whiting. **Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food.** London, Academic Press, 1975.
 19. Erdman, M.D., W.G. Bergen & C.A. Reddy. Amino acid profiles and presumptive nutritional assessment of SCP from certain lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 901, 1977.
 20. Faust, U. & P. Preva. Biomass from methane and methanol. In: **Biotechnology.** H.J. Rehm and G. Reed (Eds.). Verlag Chemie, Weinheim., 1983, p. 83.
 21. Hamdan, I.Y. & A.J. Salman. Developing SCP for animal feeding in Kuwait. Presented at the Federation of Arab Research Council Meeting held at Amman, Jordan, November 20-24, 1982.
 22. Meyrath, J. & K. Bayer. Biomass from whey. In: **Microbial Biomass, Economic Microbiology 4.** A.H. Rose (Ed.). London, Academic Press, 1979, p. 207.
 23. Skogman, H. Production of Symba yeast from potato waste. In: **Food from Waste.** G.G. Birch, K.J. Parker and J.T. Worgan (Eds.). London, Applied Science Publishers, 1976, p. 167.
 24. Knecht, R., P. Prave, R. Seipenbusch & D.A. Sukatsch. Microbiology and biotechnology of SCP produced from n-paraffin. *Proc. Biochem.*, 12: 11, 1977.
 25. Birchenstaedt, J.W., U. Faust & W. Sambeth. Production of SCP from n-paraffin-processes and products. *Proc. Biochem.*, 12: 7, 1977.
 26. Suzuki, Y. Dainippon ink and chemical projects for producing SCP from n-paraffin. Presentado en el Simposio Internacional sobre SCP APRIA. Paris, Enero 28-30, 1981.
 27. Decerle, Ch., S. Franchowiak & C. Gatellier. How IFP makes food yeast. *Hydrocarb. Proc.*, 48: 109, 1969.
 28. Ohkouchi, H., H. Iesaka & I. Nagai. The MGC methanol-SCP process. *Proc. OAPEC Symp. Petroprotein, Kuwait*, p. 333, 1980.

29. Masuda, Y., M. Nahanishi & Y. Sakakura. Make SCP from ethanol. *Hydrocarb. Proc.*, 55: 113, 1976.
30. Masuda, Y. Single cell proteins. *Technocrat.* 11: 11, 1978.
31. Rolz, C. & A.E. Humphrey. Microbial biomass from renewables: Review of alternatives. *Adv. Biochem. Eng.*, 21: 1, 1982.
32. Davy, C.A.E., D. Wilson & J.C.M. Lyon. In: *Advances in Biotechnology*. M. Moo-Young and R.W. Robinson (Eds.). Toronto, Pergamon Press, 1981, p. 343.
33. Forage, A.J. Recovery of yeast from confectionary effluent. *Process Biochem.*, 13: 8, 1978.
34. Crisan, E.V. & A. Sands. Nutritional value. In: *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. T.S. Chang and V.A. Hayes (Eds.). New York, Academic Press, 1978, p. 137.
35. Hayes, W.A. & S.H. Wright. Edible mushroom. In: *Microbial Biomass Economic Microbiology 4*. A.H. Rose (Ed.). London, Academic Press, 1979, p. 142.
36. Romantschuk, H. The Pekilo process: Protein from spent sulphite liquor. In: *Single Cell Protein II*. S.R. Tannenbaum and D.I.C. Wang (Eds.). Cambridge, The MIT Press, 1975, p. 344.
37. Romantschuk, H. & M. Lehtomaki. Operational experiences of first full-scale Pekilo SCP mill application. *Proc. Biochem.*, 13: 16, 1978.
38. Moo-Young, M., A.J. Daugulis, D.S. Chahal & D.G. Macdonald. The Waterloo process for SCP production from waste biomass. *Process Biochem.*, 14: 38, 1979.
39. Moo-Young, M., A. Ling & D.G. Macdonald. New process changes pulp mill waste to animal food. *Pulp Paper Canada*, 81: T125, 1980.
40. Martini, A., A.E. Martini & A.W. Miller. Variations of cellular nitrogen components of different yeasts during growth. *J. Sci. Food Agr.*, 30: 1012, 1979.
41. Alroy, Y. & S.R. Tannenbaum. The influence of environmental conditions on the macromolecular composition of *Candida utilis*. *Biotechnol. Bioeng.*, 15: 239, 1973.
42. Paredes O., E. Camargo & A. Ornelas. Influence of specific growth rate on biomass yield, productivity and composition of *C. utilis* in batch and continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 31: 487, 1976.
43. Alroy, Y. & S.R. Tannenbaum. Considerations in predicting phenotypic modifications in amino acid profiles of total cell protein of microorganisms. *Biotechnol. Bioeng.*, 19: 1145, 1977.
44. Alroy, Y. & S.R. Tannenbaum. Phenotypic modifications in amino acid profiles of cell residues of *C. utilis* and *E. aerogenes*. *Biotechnol. Bioeng.*, 19: 1155, 1977.
45. Magalhaes, M.M. dos A., M.L.R. Vairo & W. Borzani. Ethanol fermentation of blackstrap molasses: Influence of nitrogen source addition on the amino acids content of the residual yeast. *J. Ferment. Technol.*, 57: 534, 1979.
46. Magalhaes, M.M. dos A., M.L.R. Vairo & W. Borzani. Effect of nitrogen source addition to the mash on the protein content of the residual yeast in ethanol fermentation of blackstrap molasses. *Rev. Bras. Tecnol.*, 11: 13, 1980.
47. Santos Oliveira, J. Influence du pantothenate dans la croissance et composition chimique de la levure *Candida utilis*. *Ind. Aliment. Agr.*, 91: 93, 1982.
48. Jigami, Y., O. Suzuki & S. Nakasato. Comparison of lipid composition of *C. guilliermondii* grown on glucose, ethanol and methanol as the sole carbon source. *Lipids*, 14: 937, 1979.
49. Bathia, I.S. & J.S. Arneja. Effect of different cultural conditions on the chemical composition of lipids of *F. oxysporum*. *J. Sci. Fd. Agric.*, 29: 611, 1978.
50. Farag, R.S., F.A. Khalil, H. Salem & L.H.M. Ali. Various sugars and nitrogen sources effects on fungal lipid production. *Grasas y Aceites*, 34: 108, 1983.

51. Weaver, J.C., M. Kroger & L.R. Kneebone. Comparative protein studies of nine strains of *Agaricus bisporus*. *J. Fd. Science*, 42: 364, 1977.
52. Moon, N.J. & E.G. Hammond. Oil production by fermentation of lactose and the effect of temperature on the fatty acid composition. *J. Am. Of. Chem. Soc.*, 15: 683, 1978.
53. Okuyama, H., M. Saito, V. Joshi, S. Gunsberg & S.J. Wakil. Regulation by temperature of the chain length of fatty acids in yeast. *J. Biol. Chem.*, 254: 12281, 1979.
54. Chavant, L., M. Sancholle & C. Montant. Influence de la temperature sur la biosynthese des acides gras de deux champignons filamenteux. *Phytochem.*, 18: 1471, 1979.
55. De Rosa, M., A. Gambacorta, B. Nicolaus & J. Bu'Lock. Complex lipids of *Caldariella acidophila*, a thermoacidophile archaeobacterium. *Phytochem.*, 19: 821, 1980; Effects of temperature on other lipid composition of *Caldariella acidophila*. *Phytochem.*, 19: 827, 1980; Structural regularities in tetraether lipids of *Caldariella* and their biosynthetic and phyletic implication. *Phytochem.*, 19: 833, 1980.
56. Kushwasa, S.C., M. Kates, G.D. Sprott & I.C.P. Smith. Novel complex polar lipids from the methanogenic archaeobacterium *Methanospirillum hungatei*. *Science*, 211: 1163, 1981.
57. Sica, D., L. Boniforti & G. di Giacomo. Sterols of *C. tropicalis* grown on n-alkanes. *Phytochem.*, 21: 234, 1982.
58. Kurkela, R., J. Koivurinta & R. Kuusinen. Non-protein nitrogen compounds in the higher fungi. *Food Chem.*, 5: 109, 1980.
59. Li, G.S.F. & S.T. Chang. The nucleic acid content of some edible mushrooms. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 15: 237, 1982.
60. Makinen, S., R. Kurkela & T. Parikka. On the thiamine content of some edible mushrooms. *Karstenia*, 18: 29, 1978.
61. Speroni, J.J., R.B. Beelman & L.C. Schisler. Factors affecting the agaritine content in cultivated mushroom *A. bisporus*. *J. Food Prot.*, 46: 506, 1983.
62. Grove, J.F. Volatile compounds from the mycelium of the mushroom *A. bisporus*. *Phytochem.*, 20: 2021, 1981.
63. Tressl, R., D. Bahri & K.H. Engel. Formation of eight carbon and ten carbon components in mushrooms (*A. campestris*). *J. Agric., Food Chem.*, 30: 89, 1982.
64. Brunnert, H. & F. Zadrazil. The translocation of mercury and cadmium into fruiting bodies of six higher fungi. A comparative study on species specificity in five lignocellulolytic fungi and the cultivated mushroom *A. bisporus*. *Eur. J. Appl. Microbiol., Biotechnol.*, 17: 358, 1983.
65. Straube, G. Riboflavin accumulation by cell of the yeast *Pichia* (*Candida*) *guilliermondii*. *Z. Allg. Mikrobiol.*, 20: 215, 1980.
66. Mannino, S. & V. Cavazzoni. Mineral content of *Candida* yeasts grown on different substrates. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 13: 34, 1980.
67. MacLaren, D.D. SCP-an overview. *Chem. Technol.*, 5: 594, 1975.
68. Rogers, P.L. SCP from food and agricultural wastes. *Food Technol. Australia*, 30: 109, 1978.
69. Drews, G. Mikroorganismen-eiweiss fur die ernahrung. *Naturwiss. Rundsch.*, 32: 11, 1979.
70. MacLennan, D.G., J.S. Gow & D.A. Stringer. Methanol-bacterium process for SCP. *Process Biochem.*, 8: 22, 1973.
71. Rehm, H.J. Biotechnologie der einzeller-protein Gewinnung. *Ernaehrungswiss.*, 23: 307, 1976.
72. Praeve, P. & U. Faust. Biotechnology. *Chem. Br.*, 14: 552, 1978.

73. Roth, F.X. Mikroorganismes als proteinsquelle in der tierernahrung. *Kraftfutter*, 62: 122, 1979.
74. Endo, H. & M. Shirota. Studies on the heterotrophic growth of *Chlorella* in a mass culture. In: *Proc. IV IFS: Ferment. Technol. Today*, 1972, p. 533.
75. Waslien, C.I. Unusual sources of protein for man. *Crit. Rev. Food Science Nutr.*, 6: 77, 1975.
76. Mitsuda, H., K. Yasumoto & H. Nakamura. A new method for obtaining protein isolates from *Chlorella* algae, *Torula* yeasts and other microbial cells. *Chem. Eng. Prog. Symp. Series*, 65: 93, 1969.
77. Yannai, S., S. Mokady, K. Sachs, B. Kantarowitz & Z. Berk. Certain contaminants in algae and in animals fed algae-containing diets and secondary toxicity of the algae. In: *Algae Biomass*. G. Shelef and G. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 756.
78. Capella, P., C. Paoletti & R. Matterassi. Sulla composizione dei lipidi algali in confronto a quella dell'olio di oliva, con particolare riguardo all'insaponificabile. *Riv. Ital Sost. Grasse*, 54: 271, 1977.
79. Matterassi, R., C. Paoletti, W. Balloni & G. Florenzano. Some considerations on the production of lipid substances by microalgae and cyanobacteria. In: *Algae Biomass*. G. Shelef and J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 619.
80. Soeder, C.J. Massive cultivation of microalgae - Results and prospects. *Hydrobiol.*, 72: 197, 1980.
81. Becker, E.W. Algae mass cultivation-production and utilization. *Process Biochem.*, 16: 10, 1981.
82. Walz, O.P. & H. Brune. Studies on some nutritive effects of the green algae *Scenedesmus acutus* with pigs and broilers. In: *Algae Biomass*. G. Shelef and C.J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 733.
83. Becker, E.W. Comparative toxicological studies with algae in India, Thailand and Pure. In: *Algae Biomass*. G. Shelef and J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 767.
84. Payer, H.D., W. Pabst & K.H. Runkel. Review of the nutritional and toxicological properties of the green alga *Scenedesmus obliquus* as a single cell protein. In: *Algae Biomass*. G. Shelef and J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 787.
85. Klafs, H.J., S. Reungmaniphytoon & P. Paramadilok. The protein quality of algae produced in Thailand as determined by biological assays with rats. Fifth Report Kasetsart University IFRPD Algae Project, Bangkok, 1975/76.
86. Hernández, I.T. de & A.S. Shimada. Estudios sobre el valor nutritivo del alga *Spirulina maxima*. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 28: 196, 1978.
87. Durand-Chastel, H. Production and use of *Spirulina* in Mexico. In: *Algae Biomass*. G. Shelef and C.J. Soeder (Eds.). Amsterdam, Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980, p. 51.
88. Santillán, C. Mass production of *Spirulina*. *Experientia*, 38: 40, 1982.
89. Yoshida, M. & H. Hoshii. Nutritive value of *Spirulina*, green algae for poultry feed. *Jap. Poultry Science*, 17: 27, 1980.
90. Urakami, T., I. Terao & I. Nagai. Process for producing bacterial single cell protein from methanol. In: *Microbial Growth on C1 Compounds*. H. Dalton (Ed.). London, Hayden, 1981, p. 349.
91. Ericsson, M., L. Ebbinghaus & M. Lindblom. SCP from methanol: Economic aspects of the Norprotein process. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 31: 33, 1981.

92. Mogren, H. SCP from methanol- The Norprotein process. *Process Biochem.*, **14**: 2, 1979.
93. Shalady, C.A. Hydrocarbon-grown yeasts in nutrition. In: *Protein as Human Food*. R.A. Lawrie (Ed.). Westport, Conn., The Avi Publishing Co., 1970, p. 317.
94. Shalady, C.A. SCP from hydrocarbons as animal feed ingredients. *Process Biochem.*, **9**: 9, 1974.
95. Shalady, C.A. Response of livestock and poultry to SCP. In: *Single-Cell Protein*. P. Davis (Ed.). London, Academic Press, 1974, p. 115.
96. Shalady, C.A. Value of SCP for animals. In: *Single-Cell Protein II*. S.R. Tannenbaum and D.I.C. Wang (Eds.). Cambridge, The MIT Press, 1975, p. 489.
97. Levi, J.D., J.L. Shennan & G.P. Ebbon. Biomass from liquid n-alkanes. In: *Microbial Biomass Economic Microbiology*. A.H. Rose (Ed.). London, Academic Press, 1979, p. 361.
98. Takata, T. From n-paraffins to proteins. *Hydrocarb. Proc.*, **48**: 99, 1969.
99. Cardini, G., L. Di Fiore & A. Zotti. Caratteristiche di un lievito coltivato su metanolo. *Chim. Ind.*, **57**: 381, 1975.
100. Cardini, G., L. Cavalli & B. Calcagno. Caratteristiche di un lievito coltivato su metanolo. Composizione degli acidi grassi. *Chim. Ind.*, **58**: 173, 1976.
101. Heisel, M. Gewinnung von Single-Cell-Protein durch Hefe-Fermentation unter Verwendung von Sauerstoff. *Chem. Ing. Tech.*, **52**: 60, 1980.
102. Anon. Protein from biotechnology. *Food Eng. Intl.*, **8**: 31, 1983.
103. Anderson, C., J. Longton, C. Maddix, G.W. Scammell & G.L. Solomons. The growth of microfungi on carbohydrates. In: *Single Cell Protein II*. S.R. Tannenbaum and D.I.C. Wang (Eds.). Cambridge, Mass., The MIT Press, 1975, p. 314.
104. Duthie, I. Animal feeding trials with a microfungus protein. In: *Single Cell Protein II*. S.R. Tannenbaum and D.I.C. Wang (Eds.). Cambridge, Mass., The MIT Press, 1975, p. 505.
105. Heger, J., Z. Frydrych & J. Vavak. The effect of methionine supplementation on the nutritive value of yeast and Pekilo protein. *Biol. Chem. Veterinaria*, **16**: 233, 1980.
106. Kiishinen, T., J. Makela & J. Kangas. The Finnish SCP Pekilo and Silva in the feeding of fur-bearing animals. *Scientifur*, **4**: 32, 1980.
107. Jaervinen, R., R. Savonen, A. Ahlstrom & T. Alaviuhkola. Physiological effects of Pekilo SCP on pigs. *J. Sci. Agric. Soc. Finl.*, **52**: 14, 1980.
108. Salo, M.L. Chemical composition and feed value of the Pekilo. In: *Research Reports of Pekilo-Symposium*. T. Kiishinen (Ed.). Tikkurila, 1979, p. 9.
109. Lehtomaki, M. The variation of the chemical composition of Pekilo product. In: *Research Reports of Pekilo-Symposium*. T. Kiishinen, (Ed.), Tikkurila, 1979, p. 21.
110. Iida, M., H. Kobayashi & H. Iizuka. Cellular fatty acids derived from normal alkanes. *Z. Allg. Mikrobiol.*, **20**: 449, 1980.
111. Hossack, J.A. & I. Spencer-Martins. Lipid composition of the yeast *L. kononenkoe*. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **5**: 273, 1978.
112. Rattray, J.B.M. & J.E. Hambleton. The lipid components of *Candida boidini* and *Hansenula polymorpha* grown on ethanol. *Can. J. Microbiol.*, **26**: 190, 1980.
113. Yokokawa, H. Fatty acid and sterol compositions in mushrooms of ten species of Polyporaceae. *Phytochem.*, **19**: 2615, 1980.
114. Yokokawa, H. & T. Mitsuhashi. The sterol composition of mushrooms. *Phytochem.*, **20**: 1349, 1981.
115. Bayanova, Y.I. & I.N. Trobachev. Comparative evaluation of the vitamin composition of some unicellular algae and higher plants grown under artificial conditions. *Appl. Biochem. Microbiol.*, **17**: 292, 1981.

TRABAJOS DE INVESTIGACION

LA PREVENCIÓN DE CARIES A TRAVÉS DE UN VEHÍCULO NUTRICIONAL

*Alberto Villa¹, Sonia Guerrero², Patricia Cisternas³
y Fernando Mönckeberg³*

**Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA)
Universidad de Chile
Santiago, Chile**

RESUMEN

Con el propósito de evaluar la prevención de caries a través de un importante elemento de la nutrición infantil como es la leche, se estudiaron las posibilidades biológicas, tecnológicas y de costos relativos cuando ésta se suplementa con fluoruro (F), utilizando monofluorofosfato de sodio (MFP) como fluorante en dicho producto. A través de encuestas y análisis químicos, se determinó el rango de ingesta de F en la población preescolar chilena de nivel socioeconómico bajo y bajo-medio, obteniéndose valores de 0.15-0.35 mg F/día.

Se determinó la absorción relativa de F a partir de los elementos dietarios que lo contienen en mayor proporción, obteniéndose valores de 0.58 y 0.32 en ayunas y co-administrado con alimentos sólidos con té, respectivamente, y un valor de 0.34 para el pescado, considerándose que el valor de absorción del F (como fluoruro de sodio) en agua y en ayunas, es de 1.00. El estudio en cuestión demostró que la absorción de F (como MFP) en leche, es equivalente a la de F (como FNa) en agua.

Se estimaron los costos relativos (para la situación en Chile) de la fluoración de leche y de la fluoración de aguas, encontrándose que la fluoración de la leche es por lo menos 1,000 veces más económica que la fluoración de agua.

Se concluye que para la prevención de caries, la fluoración de leche es una alternativa más económica y viable que la fluoración de aguas, para algunos países en vías de desarrollo.

Manuscrito modificado recibido: 13-2-89.

1 Profesor Asociado, Unidad de Bioquímica Farmacológica del INTA.

2 Profesor, Unidad de Odontología de la citada Institución.

3 Director, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.

INTRODUCCION

La incidencia de caries en Chile, medida a través del índice de piezas dentarias cariadas, obturadas o perdidas (índice COP) es de 15.2 para la población mayor de 15 años (1). Por lo masiva, esta situación constituye un importante problema de salud pública.

Existe consenso a nivel mundial que la suplementación con fluoruro desde muy temprana edad contribuye significativamente a la reducción de la incidencia de caries (2), generando en las piezas permanentes un esmalte dentario más resistente al ataque de los diversos agentes cariogénicos. Si esta suplementación se combina con medidas educativas adecuadas de higiene oral y consumo de dietas en las que se minimicen los componentes cariogénicos, sería posible resolver en gran medida el problema antes señalado.

En muchos países desarrollados que cuentan con los recursos económicos y de infraestructura necesarios, la suplementación de fluoruro se ha venido llevando a cabo a través de agua potable. Sin embargo, esta forma de suplementación ha generado controversia y, en particular, bajo las condiciones chilenas se ha estimado que esta técnica resultaría costosa y poco eficiente (3).

Teniendo en cuenta la existencia del Programa Nacional de Alimentación Complementaria (PNAC) que distribuye productos lácteos en forma gratuita a un 80% de la población infantil aproximadamente (4), se consideró pertinente estudiar la viabilidad que tendría fortificar con fluoruro un producto nutricional que está dirigido precisamente al grupo etario que más beneficio obtiene de esta suplementación, i.e. los preescolares.

Los principales objetivos del presente estudio ha sido obtener datos de la ingesta de fluoruro a través de la dieta habitual de la población infantil; determinar la biodisponibilidad o absorción de dicho elemento en aquellos alimentos que lo contienen en mayor cantidad; hacer una estimación de costos comparativos para la fluoración de leche respecto de la fluoración de aguas, y determinar las propiedades de un nuevo agente fluorante, el monofluorofosfato de sodio (MFP) en leche, ya que los datos de la literatura internacional (5, 6) indican que la leche no es un vehículo adecuado para suplementación con fluoruro cuando el agente fluorante es el fluoruro de sodio (FNa).

MATERIAL Y METODOS

El estudio de ingesta de fluoruro a través de la dieta de preescolares chilenos pertenecientes a un estrato socioeconómico medio se llevó a cabo a través de encuestas alimentarias de recordatorio de 24 horas, aplicadas a los padres de los niños. La cantidad de alimentos proporcionada por la Junta Nacional de Jardines Infantiles (JUNJI) se tomó de las pautas de alimentación que dicha Institución suministra por igual a todos los niños. Se obtuvieron muestras de las

diferentes dietas, y se determinó la concentración de fluoruro total de las mismas. Se establecieron también las concentraciones de fluoruro en diversos elementos líquidos de las dietas.

Se seleccionaron los elementos dietarios con mayor concentración de fluoruro para estimar la biodisponibilidad de este elemento. Dichas determinaciones fueron realizadas en animales de laboratorio y en niños preescolares de 3 a 5 años. Asimismo, se determinó la biodisponibilidad o absorción relativa del MFP en leche respecto de la del FNa en agua, tanto en ratas como en preescolares. Las determinaciones analíticas de fluoruro en alimentos, bebidas, tejido óseo, orina, etc. han sido descritas en detalle en trabajos previos (7-9).

Asimismo, los aspectos inherentes a los estudios de biodisponibilidad y sus detalles experimentales han sido también expuestos en otra publicación (9).

RESULTADOS

Los resultados que se detallan en la Tabla 1 indican las concentraciones de fluoruro total soluble (F) en diferentes bebidas de consumo habitual por la población infantil. Se puede advertir claramente que de todas ellas, el té es la bebida que contiene la concentración más alta de F, seguida de ciertas leches especiales de consumo muy escaso por parte de la mayoría de la población infantil. La leche Purita Cereal es el producto que distribuye el PNAC, y según se observa, su contenido de F es relativamente bajo.

La Tabla 2 muestra las concentraciones de fluoruro total en diferentes alimentos, simples o compuestos, de consumo habitual entre la población infantil, expresadas como microgramos por gramo (base seca), y como miligramos el fluoruro ingerido por 100 gramos del alimento, tal como éste se sirve. Los productos marinos acusan los valores más altos, por lo que es importante determinar la biodisponibilidad de F en ellos.

La frecuencia de consumo de diferentes alimentos por preescolares de nivel socioeconómico medio y bajo, respectivamente, se aprecia en las Tablas 3 y 4. A partir de los datos expuestos en las Tablas 1 a 4, se puede estimar la ingesta promedio diaria de F en niños menores de seis años.

La Tabla 5 muestra la estabilidad del F (como MFP) en la leche en polvo preparada a escala piloto, durante seis meses, en el Centro Tecnológico de la Leche, Universidad Austral de Chile, habiéndose mantenido el producto en bolsas de polietileno cerradas. En todas las fechas señaladas al ser reconstituidas las muestras con agua potable, un panel (que incluía tres niños) encontró muy aceptables las características organolépticas del producto. La Tabla 6 indica las biodisponibilidades de F (como MFP) en leche, relativa al F (como FNa) en agua, y en ayunas, que es considerada como 100% biodisponible (10) en experimentos de dosis múltiples con animales de laboratorio, y en dosis única con niños preescolares, cuando ambos agentes fluorantes son ingeridos juntamente con los alimentos sólidos o en

TABLA 1
CONCENTRACION DE F EN BEBIDAS

Muestra	Conc. F (mg x lt)	± DE
Agua potable	0.15 - 0.26	± 5% (a)
Agua potable Va. región (fluorada)	0.71 - 1.12	± 3% (a)
Coca-Cola	0.08	± 0.01 (b)
Orange Crush	0.12	± 0.01 (b)
Jugo Sip Sup	0.15	+ 0.01 (b)
Andifrut	0.13	+ 0.01 (b)
Agua tónica Canada Dry	0.05	± 0.02 (b)
Bilz	0.05	± 0.01 (b)
Ginger Ale Scheppes	0.11	± 0.01 (b)
Fanta	0.11	+ 0.02 (b)
Sprite	0.09	± 0.02 (b)
Té (infusiones preparadas con té de diferentes marcas, precios y tipos, con agua potable no fluorada)	1.20 - 3.9	± 3% (a)
Leche Dos	1.10	± 0.04 (c)
Calo Choc	0.60	± 0.02 (c)
Loncoleche enriquecida	0.45	± 0.02 (d)
Loncoleche natural	0.05	± 0.01 (d)
Loncoleche descremada	0.05	± 0.01 (d)
Leche Purita Dos Alamos para lactantes y embarazadas	0.13	± 0.01 (c)
Purita Cereal (La Estampa)	0.13	± 0.01 (c)

- (a) Rango y desviación estándar porcentual para 30-40 muestras obtenidas a lo largo de tres meses.
- (b) Valores medios de tres determinaciones.
- (c) Productos en polvo reconstituidos con agua potable del Area Metropolitana.
- (d) Leches fluidas.

ayunas. Además, se indica la absorción relativa del F en té y jurel tipo salmón enlatado, en niños preescolares, comparada con el F (como FNa) en agua y en ayunas (para los detalles de estas determinaciones véase ref. 9).

Finalmente, la Tabla 7 incluye estimaciones de costos de agente fluorante para las condiciones chilenas, para un sistema de fluoración de aguas a nivel nacional, excluyendo la Región I y II en el extremo norte del país, dado que el contenido natural de F del agua potable hace innecesario tal procedimiento. Estas estimaciones están

TABLA 2

INGESTA DE FLUORURO A TRAVES DE LOS ALIMENTOS

Muestra	$\mu\text{g F/g}$ base seca	Mat. seca %	mg F ingerido* 100 g prep.
Puré de garbanzos	0.70	90.1	0.063
Pescado c/salsa blanca	0.95	84.0	0.080
Pescado al jugo	0.53	86.2	0.046
Pollo arvejado	1.01	83.1	0.084
Arroz	0.22	81.0	0.018
Porotos c/tallarines	0.20	87.2	0.017
Consomé con huevo	0.46	93.2	0.043
Galletas de trigo	0.20	98.6	0.020
Arroz con leche	0.20	94.2	0.019
Pan	0.22	85.0	0.019
Tallarines	0.22	92.5	0.020
Charquicán con cochayuyo	0.91	92.5	0.084
Puré de lentejas	0.20	89.2	0.018
Colado/pescado	1.20	16.3	0.020
Colado pollo/verdura	7.14	15.2	0.108
Colado carne/verdura	0.68	17.4	0.012
Picado carne, fideo, verdura	1.48	15.5	0.023
Picado pollo, verdura/arroz	11.10	16.6	0.184
Huevo duro (clara)	1.10	13.6	0.015
Huevo duro (yema)	0.20	46.9	0.009
Pera	1.55	15.6	0.024
Sopa de verduras	1.77	12.6	0.022
Puré c/huevo	0.82	26.5	0.022
Sopa de verduras con pollo	1.74	14.8	0.026
Crema verdura c/pollo	1.81	16.0	0.029
Carbonada seca c/pollo	3.00	14.4	0.043
Carbonada seca c/huevo	0.97	19.2	0.019
Sopa de verduras c/huevo	1.36	13.1	0.018
Charquicán c/huevo	0.87	19.6	0.017
Porotos c/mote	0.77	22.7	0.017
Lentejas c/arroz	0.80	20.9	0.017
Jurel tipo salmón enlatado	26.80	70.0	1.880
Carne vacuno*	0.34	70.1	0.010
Fiambres (cecinas)*	0.75	57.0	0.030
Pescado (merluza)	1.71	80.2	0.035
Congrio	0.88	81.4	0.018
Almejas	3.03	75.1	0.740

* Valores promedio de 10 muestras de diferentes cortes o tipos.

TABLA 3

**TABLA DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE DIFERENTES ALIMENTOS
EN PREESCOLARES DE NIVEL SOCIOECONOMICO MEDIO**

Alimento	\bar{x} Consumo (g/día)	Alimento	\bar{x} Consumo (g/día)
Leche pasteurizada	379.20	Leche polvo 18% MG	3.60
Yoghurt	56.80	Queso (Guda)	9.90
Queso rallado	0.14	Huevo	33.20
Carne (asiento)	5.90	Carne (filete)	5.60
Carne (lomo)	16.90	Pollo	25.60
Jamón	0.65	Paté	0.28
Merluza o pescado	11.80	Porotos	11.10
Garbanzo	1.70	Lenteja	8.60
Arroz	37.40	Avena	2.50
Maizena	0.07	Pan hallulla	32.60
Pan molde	10.10	Pan marraqueta	126.00
Fideos	1.30	Tallarines	20.90
Galletas oblea	3.30	Galletas tritón	2.50
Galletas vino	2.90	Acelga	1.70
Betarraga	1.90	Cebolla	3.40
Choclo	3.10	Lechuga	4.00
Poroto verde	7.90	Tomate	86.60
Zapallo	5.90	Papa	30.70
Zanahoria	1.50	Manzana	106.50
Durazno	15.50	Melón tuna	11.80
Naranja	9.60	Palta	2.60
Pepino dulce	1.40	Pera	8.30
Plátano	21.30	Tuna	6.70
Uva	21.50	Almendra	0.97
Caldo de ave	5.60	Milo	3.40
Colado pollo/verdura	2.60	Azúcar	19.30
Miel	0.27	Mermelada damasco	1.50
Mermelada durazno	1.80	Aceite	8.30
Mantequilla	4.90	Mayonesa	0.13
Jalea	0.69	Jugos	19.40*
Coca-Cola	57.10*	Chocolate	0.36*
Té	150.00*	Polenta	0.41
Margarina	3.36	Manjar	0.20

* ml/día.

TABLA 4

TABLA DE FRECUENCIA DE CONSUMO EN PREESCOLARES DE ALIMENTOS PROVISTOS POR LA JUNJI

Alimento	Frecuencia	Cantidad
Leche o sustituto	Diaria	500 cc
Frutas	2 veces/semana	100 g c/vez
Carne (vacuno, pescado, etc.)	2 veces/semana	30 g c/vez
Verdura y/o papas	Diaria	150 g c/vez
Cereales farináceos	Diaria	40 g c/vez
Huevo	1 vez/semana	50 g
Postre de leche	1 vez/semana	100-150 g/ración
Jalea	2 veces/semana	20 g c/vez
Pan	Diaria	25 g
Aceite	Diaria	13 g
Jugo	Diaria	150 cc
Galleta u otro	Diaria	40 g

TABLA 5

VALORES DE CONCENTRACION DE FLUORURO TOTAL EN LECHE EN POLVO EN FUNCION DEL TIEMPO

Fecha análisis	Conc. F (mg/kg) ± DE
20.05.87 (Valor inicial)	26.3 ± 0.8
27.05.85	27.2 ± 0.6
11.06.87	26.9 ± 0.4
17.06.87	27.0 ± 0.5
30.06.87	26.1 ± 0.5
07.07.87	26.9 ± 0.3
23.07.87	27.2 ± 0.3
06.08.87	26.8 ± 0.5
27.08.87	26.9 ± 0.4
14.09.87	27.2 ± 0.4
30.09.87	27.3 ± 0.4
13.10.87	27.0 ± 0.5
30.10.87	26.9 ± 0.6
13.11.87	27.5 ± 0.3

NOTA: En todos los casos las muestras fueron analizadas por triplicado. El resultado teórico esperado según dosificación es 26.0 mg/kg.

TABLA 6

BIODISPONIBILIDADES RELATIVAS DE F

Grupo	MFP (leche)	FNa (agua)	F (té)	F (pescado)
Animales (ayunas)	0.98 (a)	1.00 (a)	0.58 (b)	
Animales (con alimento sólido)	1.00	0.53 (b)	0.32 (b)	
Niños (ayunas)	0.998 (a)	1.00 (a)		N.C.
Niños (con alimento sólido)	1.00	0.58 (b)		0.34 (b)

(a) Diferencias no significativas (prueba "t").

(b) Diferencias significativas; $P < 0.001$ (prueba "t").

N.C. = No corresponde.

basadas en datos oficiales (11, 12) y en el caso de fluoración de leche, a través del PNAC. Se indican las hipótesis de cálculo.

DISCUSION

A partir de los valores informados en las Tablas 1-4, es factible estimar que en la Región Metropolitana, la ingesta típica promedio de F para preescolares de los niveles socioeconómicos bajo y bajo-medio, se encuentra en el rango de 0.15-0.35 mg diarios, rango que está por debajo de los niveles recomendados para prevención de caries (13). Cuando se tiene en cuenta que la absorción ponderada a través del tracto gastrointestinal es aproximadamente 0.5 veces el valor de la ingesta de F, nos encontramos que desde un punto de vista cariostático, existe un claro déficit de F en la dieta infantil. En consecuencia, para una protección anticaries eficaz, se hace necesario suplementar con dosis óptimas de F, a los niños menores de 6-8 años. Estudios previos (5, 6) habían señalado que la leche no era un vehículo adecuado de fluoración dado que el F (como FNa) era mal absorbido. No obstante, los resultados que se detallan en la Tabla 6 (9) indican que cuando se utiliza MFP como agente fluorante en leche, la absorción de F es completa. Los requerimientos de estabilidad del agente de fortificación son muy adecuados (Tabla 5), y la empresa láctea patrocinante de este estudio ha implementado satisfactoriamente los aspectos tecnológicos para procesar el nuevo producto en escala industrial. Estos hechos demuestran la factibilidad técnica y biológica de utilizar un vehículo nutricional infantil importante como es la leche, para suplementar el F necesario para la prevención de caries.

TABLA 7

COSTOS ANUALES DE AGENTE FLUORANTE

Caso I: Fluoración de aguas

Datos de cálculo:

- a) El volumen de agua potable promedio diario por habitante es de 450 litros (11).
- b) El número de habitantes en Chile con acceso a agua potable, excluyendo Ia. y IIa. Regiones, es de 10,000,000 (12).
- c) El costo promedio de agente fluorante (FNa) es de 400 \$/kg.
- d) La concentración de fluoruro en agua potable será en promedio de 1 mg/lt.

$$\text{Costo anual} = 450 \frac{\text{lt agua}}{\text{día persona}} \times 2.2 \times 10^6 \frac{\text{kg FNa}}{\text{lt agua}} \times 10.10^6$$

$$\text{personas} \times 365 \text{ días/año} \times 400 \text{ \$/kg FNa} = 1,454,400,000 \text{ \$/año.}$$

Este costo es aproximadamente equivalente a 6,000,000 de dólares/año.

Caso II: Fluoración de leche

Datos de cálculo:

- a) El alcance del Programa de distribución de leche en polvo es de 2,000,000 de niños.
- b) El consumo promedio de cada niño es de 250 ml/día.
- c) El rendimiento de 1 kg de leche en polvo es de 10 litros de leche fluida.
- d) De acuerdo a los datos del presente estudio, la concentración óptima de MFP en leche en polvo es 190 mg (MFP)/kg de leche en polvo.
- e) El costo del MFP (farmacopea) es 600 \$/kg.

$$\text{Costo Anual: } 2 \times 10^6 \text{ niños} \times 0.25 \text{ lt. leche/día niño} \times 365 \text{ día/año} \times 1 \text{ kg leche polvo/10 lt leche fluida} \times 190 \times 10^6 \text{ kg MFP/kg leche polvo} \times 600 \text{ \$/kg MFP} \\ = \text{Aprox. } 2,000,000 \text{ \$/año.}$$

Esta cifra equivale aproximadamente a 8,300 dólares/año.

Finalmente, un aspecto muy importante cuando se llega al punto de la implementación de un Programa General de Salud Pública es la estimación de costos.

Los valores señalados en la Tabla 7 indican que el sistema de fluoración de aguas tradicional, exitosamente implementado en los EUA y en otros países desarrollados, es relativamente costoso y poco adecuado para algunos países en vías de desarrollo. En efecto, para una población de 10,000,000 de habitantes con acceso a sistemas de agua potable, el costo anual de agente fluorante es de aproximadamente 8,000,000 de dólares. Si tenemos en cuenta que sólo el 0.5% (o menos) del volumen total de agua potabilizada es ingerida efectivamente, concluimos que el 99.5% del agente fluorante (5,970,000 US\$/año) se pierde en el medio ambiente. Si a este costo se le agregan los costos de inversión, amortización, mantenimiento y funcionamiento de los equipos donificadores para aproximadamente 300 plantas de potabilización, en el caso chileno, además de los costos de instrumental de control de las concentraciones de F en agua y el personal humano necesario para operar el sistema, es fácil apreciar que los costos de esta alternativa se elevan sustancialmente.

Por otra parte, al analizar los costos de fluoración de leche vemos que el costo anual del agente fluorante es de solamente 8,300 dólares y se ha estimado que los costos de equipos, accesorios para el proceso de fluoración de leche en escala industrial se elevan a US\$15,000 para una planta que produce 4,000 toneladas de leche en polvo anuales. Esto permite reducir fuertemente los costos de control de calidad y minimizar los posibles riesgos de sobredosis que existen en el caso de la fluoración de aguas.

En algunos países (Colombia, Suecia) se ha implementado la fluoración de la sal de mesa como medio de prevención de caries. Los autores del presente trabajo no pudieron obtener datos precisos sobre los costos de este método, y tampoco en cuanto a la eficacia de su cobertura para poblaciones preescolares. Es por ello que no se le ha incluido en la comparación de la Tabla 7.

La discusión precedente permite llegar a la conclusión que la fortificación con F de leche para la población infantil, a través de un Programa responsable supervisado por las Autoridades de Salud, es una alternativa muy económica y beneficiosa para algunos países en vías de desarrollo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el valioso apoyo que Dos Alamos, SACI, y CORFO, Chile, tuvieron a bien prestar al desarrollo de este estudio. Nuestro agradecimiento a la Sra. Viola Lyon L., por su excelente trabajo editorial.

SUMMARY

CARIES PREVENTION THROUGH A NUTRITIONAL VEHICLE

In order to evaluate the efficacy of fluoridated milk as a cariostatic nutritional product, the biological and technical possibilities of adding fluoride (F) as monofluorophosphate (MFP) to milk were studied, together with a preliminary cost estimation for this procedure. F ingestion by pre-school children pertaining to the low and medium-low levels of population was estimated through polls and chemical analyses. The values of F ingestion obtained were in the range of 0.15-0.30 mg/day.

The bioavailability of F in those dietary elements which have the highest F concentration was determined. Taking a value of 1.00 for F absorption from sodium fluoride (NaF) in water, relative values of 0.58 and 0.32 were obtained for tea ingestion on a fasting stomach, and together with solid food, respectively. The corresponding value for fish was 0.34. Through another bioavailability experiment it was shown that the absorption of F (from MFP) in milk, is as high as that of F (from NaF) in water.

By means of a comparative cost estimation study, it was found that, for the Chilean situation, milk fluoridation is, at least, 1,000 times more economic than water fluoridation.

It is concluded that milk fluoridation is an economical and viable alternative for some less developed countries.

BIBLIOGRAFIA

1. Guerrero S., P. Cisternas & R. Uauy. Rol del flúor en la prevención de caries dentaria. *Rev. Med. Chile*, 109: 55-61, 1981.
2. Meir F. *Fluoración del Agua Potable*. Washington, D.C. Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS), 1971 (Publicación No. 203).
3. Informe Final del Proyecto de Investigación: Desarrollo y Elaboración de Leche Fluorada. Santiago, Chile, Fondo de Desarrollo Productivo de la Corporación de Fomento (CORFO), diciembre de 1987.
4. Mardones S.F., N. González, R.F. Mardones, J. Salinas & C. Albala. Programa Nacional de Alimentación Complementaria en Chile en el período 1937-1982. *Rev. Chil. Nutr.*, 14: 173-182, 1986.
5. Ekstrand J. & M. Ehrnebo. Bioavailability of fluoride added to baby formula and milk. *Caries Res.*, 16: 249-256, 1982.
6. Ekstrand J. & M. Ehrnebo. Influence of milk products on fluoride bioavailability in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 16: 211-215, 1979.
7. Villa A. Rapid method for determining fluoride in vegetation using an ion-selective electrode. *Analyst.*, 104: 545-551, 1979.
8. Villa A. An easier, faster method for determining very low fluoride concentrations using an ion-selective electrode. *Analyst.*, 113: 1299-1303, 1988.
9. Villa A., S. Guerrero, P. Cisternas & F. Monckeberg. Milk fluoridation: A useful, economic alternative for less developed countries. *Caries Res.* (Aceptado para su publicación, 1988).
10. Ekstrand, J., M. Ehrnebo & L. Boreus. Fluoride bioavailability after intravenous and

- oral administration: Importance of renal clearance and urine flow. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 23: 329-337, 1978.
11. Cáceres A. & C. Barroeta. Programa Nacional de Fluoración del Agua Potable en Chile. Presentado en: XIX Congreso Interamericano de la Asociación Interamericana de Ingenieros Sanitarios (AIDIS), Santiago, 1982.
 12. Atlas Geográfico de Chile. Editado por el Instituto Geográfico Militar, Santiago, Chile, 1985, 136 p.
 13. American Dental Association. *Accepted Dental Therapeutics*, Chicago, 1979, p. 320-321.

HEMOGLOBIN-FORTIFIED BISCUITS: BIOAVAILABILITY AND ITS EFFECT ON IRON NUTRITURE IN SCHOOL CHILDREN¹

*Manuel Olivares^{2,3}, Eva Hertrampf², Fernando Pizarro²,
Tomás Walter², Marisol Cayazzo², Sandra Llaguno²,
Patricia Chadud², Nelson Cartagena², Virginia Vega²,
Mirna Amar² and Abraham Stekel²*

**Instituto de Nutrición y
Tecnología de los Alimentos (INTA)
Universidad de Chile
Santiago, Chile**

SUMMARY

School-age children in Chile received 30 g of wheat-flour biscuits daily through a National School Lunch Program. To improve iron nutrition, these biscuits were fortified with 6% of a bovine hemoglobin concentrate. Hemoglobin iron bioavailability, measured with a double isotope technique, showed that heme-iron absorption in fortified biscuits was high (19.7%).

In a pilot field trial, a cohort of 215 school-children received fortified biscuits (30g) daily during two school periods, and their iron nutrition status was compared with that of children who received non-fortified biscuits (n=212). Acceptability of both types of biscuits was excellent. Initially, both groups had comparably good iron nutrition. The fortified children presented higher mean ferritin values at the end of the first and second school periods. Good iron stores (serum ferritin $\geq 20\mu\text{g/l}$) were present in 92% and 79% of the fortified and control subjects, respectively ($P < 0.004$).

The high-iron bioavailability, the good organoleptic characteristics and the biological effect on iron nutriture make this product an appealing alternative to combat iron deficiency.

Manuscrito modificado recibido: 13-2-89.

- 1 Supported by the Departamento de Investigación y Bibliotecas de la Universidad de Chile.
- 2 Members of Hematology Unit, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- 3 Address reprint requests to Dr. Manuel Olivares, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.

INTRODUCTION

Iron deficiency continues to be prevalent throughout the world, affecting particularly infants, children and pregnant women (1). Food fortification with iron constitutes the most efficient and practical method for preventing iron deficiency in a community (2). Thus far, iron fortification has been carried out with inorganic salts or reduced iron particles (3); nevertheless, a major limitation of these fortificants lies in the decreased bioavailability induced by diets with a high content of inhibiting factors (4, 5). Several studies have determined that bioavailability of heme iron in the diet is higher than that of inorganic iron (6, 7). Additionally, the use of heme iron as a fortificant is appealing since bovine hemoglobin is largely wasted during the commercial slaughter operation. Industrial methods to collect and process the blood obtaining a bovine hemoglobin concentrate (BHC) had been developed in our laboratory (8), enabling us to initiate large-scale fortification trials.

In Chile, school children receive daily 30 g of biscuits (wheat flour) plus milk or a milk substitute beverage through a supplementary feeding program. This program is national in scope, reaches a significant proportion of the nutritionally vulnerable population and has enjoyed long standing support.

Previous national prevalence studies had shown that 7% of school children were anemic and 32% had transferrin saturation below 15% (9). Since biscuits were a daily component of the children's diet, it seemed to be the ideal vehicle to fortify with the bovine hemoglobin concentrate.

In this study, we measured the absorption of iron from BHC fortified biscuits and assessed its acceptability and biological effect on iron nutrition status in a school-children field study.

MATERIAL AND METHODS

Characteristics of Heme Iron-Fortified Biscuits

Preparation of tagged and untagged bovine hemoglobin concentrates—To obtain untagged BHC, bovine blood was collected in a bucket with sterile precautions at the time of slaughter with sodium citrate as anticoagulant to yield a final concentration of 2.5 g/l of blood. The collected blood was maintained at 5°C and separated within 3-6 hr into plasma and red blood cell fractions in a laboratory refrigerated centrifuge at 2000 x g for 30 min. The plasma was discarded and red cells were washed three times, with 0.9% NaCl. This preparation was freeze-dried in an Atlas LKB Autovac Gauge (3294B) at 30°C chamber temperature and 0.1 mm Hg chamber pressure (8).

To obtain intrinsically tagged hemoglobin, 4 mCi of ⁵⁵Fe in the form of ferric chloride (specific activity 0.15 mCi/mg) were injected intravenously into the jugular vein of a 7 day-old calf. Fifteen days later, the calf was slaughtered and radioactive ABHC (specific activ-

TABLE 1

COMPOSITION OF BHC-FORTIFIED AND NON-FORTIFIED BISCUITS

	Fortified %	Non-fortified %
Wheat flour	55.3	61.0
Bovine hemoglobin concentrate (BHC)	5.7	0.0
Liquid sugar	28.6	28.6
Hydrogenated lard	9.5	9.5
Vanilla essence	0.15	0.15
Sodium bicarbonate	0.50	0.50
Monocalcium phosphate	0.15	0.15
Antioxidants	0.03	0.03

TABLE 2

PROXIMATE COMPOSITION AND IRON CONTENT OF
BHC-FORTIFIED AND NON-FORTIFIED BISCUITS

	Fortified	Non-fortified
Moisture (%)	4.6	6.4
Protein (Nx6.25) (%)	13.5	8.4
Ether extract (%)	11.0	11.0
Ash (%)	1.1	1.0
Nitrogen-free extract (%)	69.8	73.3
Fe (mg/100g)	19.3	2.3

ity 4.3 $\mu\text{Ci}/\text{mg Fe}$) was prepared by freeze-drying the red cells as previously described (10).

Biscuit composition — Wheat flour biscuits were fortified with 6% of BHC (Table 1). Chemical analysis showed an eight-times higher iron content and a 1.6 greater protein content in the fortified biscuit. BHC fortification improved content of all essential amino acids, except isoleucine (Table 2).

Apsorption Studies

Fifteen well nourished children in apparent good health, ranging in age from 2 to 7 y (mean age=5.4 y) participated. Written, informed consent was obtained from both parents before the study. Two boys were anemic (hemoglobin <120 g/l). Iron status in the rest of the children was normal.

Absorption measurements — Iron absorption from BHC fortified biscuits and from a reference dose of ferrous ascorbate were measured. One kilogram of labelled biscuits was prepared using 60 g of a mixture of nonradioactive BHC with labelled BHC, to give an activity of 2.1 μCi ^{55}Fe per 30 g of biscuits. These tagged biscuits were hand-made and cooked in a domestic oven. On day 1, subjects received 30 g of the fortified biscuits containing 5.5 mg of elemental iron labelled with 2.1 μCi ^{55}Fe ; on day 2, they drank an aqueous solution of a standard containing 3 mg of iron as ferrous sulfite, in a 2:1 molar ratio of ascorbic acid to iron, labeled with 0.7 μCi of $^{59}\text{FeSO}_4$ (New England Nuclear).

The preparations were consumed on consecutive mornings after an overnight fast, and no food and beverage other than water was permitted four hours thereafter. On day 15, venous blood samples were obtained to determine the hematologic characteristics of the subjects, and to measure the radioactivity incorporated into erythrocytes. Duplicate 10 ml blood samples and triplicate aliquots of the preparations ingested were processed for differential counting of ^{55}Fe and ^{59}Fe using the method of Eakins and Brown (11). The activity of radioisotopes in the processed samples was determined using a liquid scintillation spectrometer (Nuclear Chicago). The percentage absorption values were calculated from the *radioactivity present* in the circulating erythrocytes, assuming 70 ml/kg blood volume and 90% red cell utilization of radio iron (12). Serum iron and iron binding capacity were measured by the colorimetric method of Fischer and Price (13). Serum ferritin was quantitated using a radioimmunoassay (Travenol Laboratories, Inc, Cambridge, MA).

Field Trial

A pilot field trial with the 6% BHC fortified biscuits was conducted in two schools in the city of Santiago, Chile. The two schools were selected on the basis of their location in a low income area of the city, having adequate coverage by the food supplementary program, and the willingness of parents and teachers to participate in the study. The latter had a duration of two school years (May-November 1980 and March-October 1981). Children in one school (Public School N^o 181) received 30 g of BHC fortified biscuits (3 units) together with a glass of milk or milk substitute. In the control school (Public School N^o 183), children continued receiving the standard non-fortified biscuits (30 g). Biscuits were given on school days only (approximately 180 days/year) and eaten under the supervision of a teacher to ensure consumption. Children were asked to leave the uneaten biscuits in the dining area. Once a week, a research nurse measured acceptance of the biscuit by direct observation of their consumption.

Iron nutrition status and anthropometry (weight and height) were measured in all six to nine year-old children and 10-12 year-old girls from each school (fortified and unfortified) (Table 3). They were evaluated at the beginning of the study (0 month), at the end of the first school period (7 months) and finally, at the end of the second

TABLE 3
AGE AND SEX AT THE BEGINING OF THE FOLLOW-UP

Age (yrs)	Fortified group		Non-fortified group	
	Boys	Girls	Boys	Girls
6	13	18	21	20
7	26	26	18	19
8	27	23	30	21
9	19	16	16	22
10-12	—	47	—	45
Total	85	130	85	127

school period (15 months) of the study. Hemoglobin (Coulter model ZBI, Hialeah, FL), iron concentration and iron binding capacity (13), as well as serum ferritin (Travenol Laboratories Inc, Cambridge, MA), were measured.

The iron absorption studies and field trial protocols were in accordance with the standards of the Institute of Nutrition and Food Technology's Ethics Committee of Human Research. Furthermore, the radioactive test doses were approved by the Chilean Commission of Nuclear Energy.

RESULTS

The mean iron absorption from BHC fortified biscuit was high, with a geometric mean of 19.7% (Table 4).

The two school-children groups, in the follow-up study, had a similar age and sex distribution (Table 3). Weight and height were also similar at the beginning and at the end of the follow-up. The percentage of subjects with a weight to height ratio below the 10th percentile of NCHS standards was below 2.5% in both schools.

The acceptability of the fortified biscuits was excellent. On the average, less than 2% of the served cookies were left uneaten throughout the two years of study, with no significant differences between the fortified and unfortified products (Figure 1).

There were no initial differences between the groups neither in hemoglobin concentration nor in serum ferritin; however, transferrin saturation was significantly higher in the non-fortified group (Table 5). Hemoglobin values were uniformly high in both groups, and no child had anemia (hemoglobin concentration at different ages according to Dallman and Siimes) (14). At the end of the first school period mean serum ferritin values were significantly higher ($p < 0.05$) in the fortified group. At the end of the trial, there was a

TABLE 4
IRON ABSORPTION FROM BHC-FORTIFIED BISCUITS
OBTAINED IN THE LABORATORY

Subject No	Age years	Hb (g/l)	Fe/IBC (%)	SF* ($\mu\text{g/l}$)	Iron absorption (% of dose)		A/B
					Fortified biscuit (A)	Ferrous ascorbate (B)	
1	6	130	30.4	60	22.9	67.7	0.34
2	3	135	29.5	33	25.5	43.2	0.59
3	6	131	48.9	29	24.8	37.3	0.66
4	4	118	27.2	48	12.3	36.0	0.34
5	2	122	—	—	52.5	35.7	1.47
6	7	129	19.8	47	21.8	35.1	0.62
7	5	128	24.6	56	23.5	31.3	0.75
8	5	142	41.2	47	19.3	29.6	0.65
9	6	134	22.8	52	21.6	28.3	0.76
10	5	128	22.8	37	17.7	27.7	0.64
11	7	130	32.5	66	18.5	26.8	0.69
12	7	128	40.4	52	22.3	25.2	0.88
13	7	119	26.2	55	9.8	21.4	0.46
14	6	138	23.6	40	16.0	18.5	0.86
15	5	135	27.2	57	11.8	18.4	0.64
Mean	5	130	29.8	47	19.7*	30.4*	0.65
SD	2	6	8.1	38-59	13.4-29.0	22.0-42.0	—

* Values are geometric means and range of 1 SD.

small, but statistically significant, higher hemoglobin concentration in the group consuming fortified biscuits.

When hemoglobin and serum ferritin were depicted using cumulative plots (Figures 2 and 3), no differences were evident at the initial evaluation. Nevertheless, there was a significantly lower percentage of subjects below 20 $\mu\text{g/l}$ of serum ferritin in the fortified group at 7 mo (13% v 25%, $p < 0.04$) and at 15 mo (8% v 21% $p < 0.004$). Serum ferritin values over 20 $\mu\text{g/l}$ were considered indicative of adequate iron stores.

DISCUSSION

There are several reasons that favor the use of hemoglobin iron as an appealing alternative in the prevention of iron deficiency anemia: hemoglobin iron is better tolerated than non-heme iron;

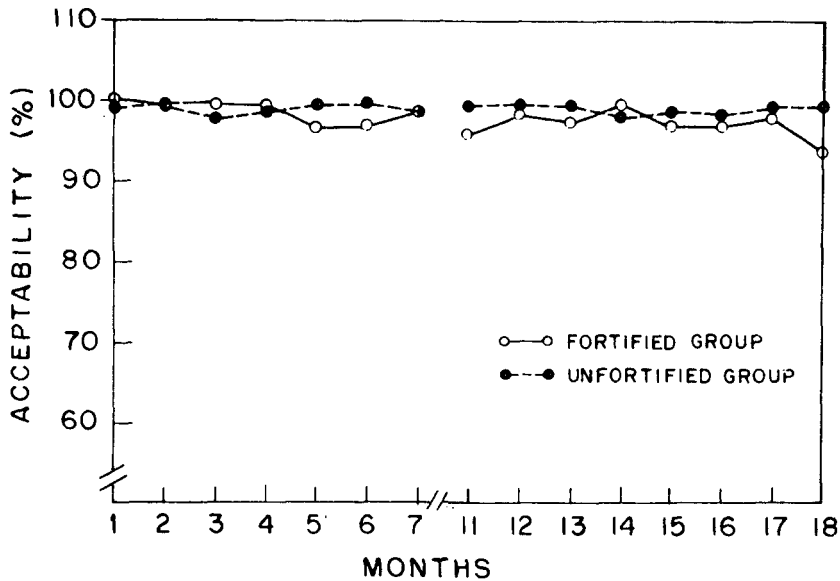


FIGURE 1

Acceptability of fortified and control biscuits, expressed as the percentage of children consuming 30g of biscuits

when added to test meals heme iron is better absorbed than non-heme iron and its absorption is not affected by food iron inhibitors (6, 7).

Because the diet of Chilean children consists mainly of cereal and vegetables, it was estimated that adding non-heme iron to their diet would not be significantly effective, especially when limited to the amounts that could be satisfactorily incorporated into a vehicle. Cereals (wheat flour and infant cereals) are fortified with electrolytic iron or iron salts. Recently, based on the relatively poor bioavailability of elemental Fe powder added to these vehicles, it has been suggested that this fortificant may be unsuitable for the prevention of iron deficiency in infancy (15). Iron salts, which present an adequate bioavailability (as FeSO), confer a very short shelf-life to the vehicle. An equivalent amount of hemoglobin iron, it was hypothesized, would be significantly more effective.

The use of hemoglobin as a food fortificant was suggested by Reizenstein in 1975 (16). Iron absorption from hemoglobin-fortified sausages, hamburgers, bread and liver paté was investigated in a very small group of subjects (17). The findings of these studies indicated that the use of hemoglobin for the fortification of meat products resulted in satisfactory iron absorption; however, when using bread as a vehicle, the bioavailability was poor. Nevertheless,

TABLE 5
HEMATOLOGIC VALUES FOR SCHOOL CHILDREN
FROM 6 TO 12 YEARS OF AGE

	Fortified group		Non-fortified group
<i>Hemoglobin (g/L)</i>			
0 month	138.3 ± 7.5 (212)*	NS	137.2 ± 7.6 (210)
7 months	137.2 ± 7.4 (207)	NS	137.5 ± 7.6 (206)
15 months	136.5 ± 6.9 (180)	< 0.05	134.8 ± 8.2 (169)
<i>Fe/IBC (%)</i>			
0 month	24.6 ± 8.0 (206)	< 0.01	26.8 ± 8.0 (209)
7 months	27.6 ± 8.3 (204)	NS	27.8 ± 8.7 (206)
15 months	30.7 ± 8.8 (176)	NS	31.4 ± 10.5 (158)
<i>Serum ferritin (µg/l) #</i>			
0 month	27 (17-42) (120)	NS	27 (15-47) (106)
7 months	31 (20-47) (120)	< 0.05	26 (15-47) (106)
15 months	31 (20-47) (120)	NS	28 (14-53) (106)

* Number of subjects. # Geometric mean and 1 SD range.

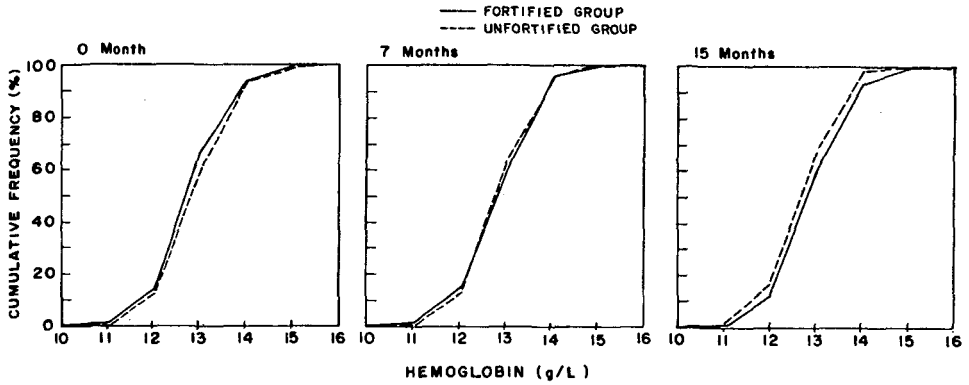


FIGURE 2

Cumulative frequency distribution of individual values of hemoglobin at 0, 7 and 15 months of follow-up in school-children receiving fortified and non-fortified biscuits

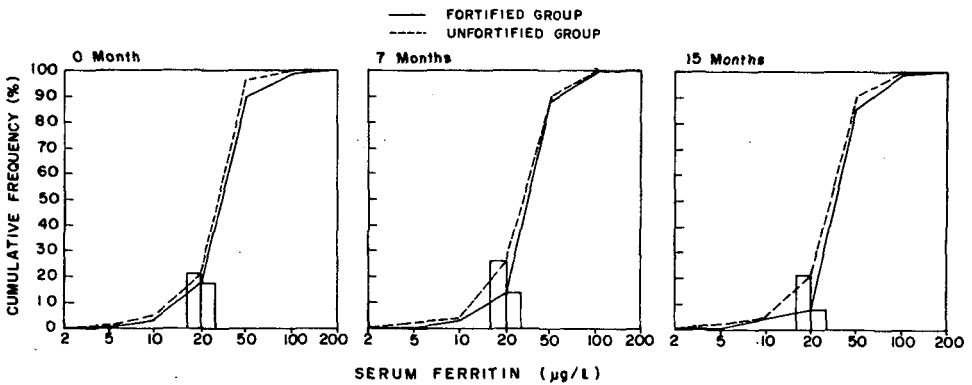


FIGURE 3

Cumulative frequency distribution of individual values of serum ferritin at 0, 7 and 15 months of follow-up in school-children receiving fortified and non-fortified biscuits

these studies have the serious methodological limitation given by the small number of subjects in the groups ($n=3$ or 4). When hemoglobin iron was heated to the temperature necessary for the baking of bread, iron absorption was presumably reduced (17).

In 1977, Hertrampf, Amar and Steckel initiated investigations oriented to the possible use of hemoglobin in food fortification in Chile. Initially, the studies were focused on the fortification of milk (10). The bioavailability of hemoglobin iron was high (geometric mean 18.8%), in a group of iron-deficient infants. Hemoglobin added to liquid milk, however, produced rapid rancidity due to the oxidation of fat in the milk.

The existence of a National Program delivering biscuits to children in our country, in addition to their lower fat content, made biscuits a suitable vehicle for fortification with heme-iron.

Prior to the iron absorption studies, we established that fortification of biscuits with hemoglobin at a 6% concentration maintained good organoleptic characteristics for up to seven months when kept at ambient temperature, in oxygen and light-proof packaging (8).

The present study shows the high bioavailability of heme iron added to wheat-flour biscuits. When children consume 30 g of biscuits, the iron provided daily would be approximately 1 mg. This amount would supply the total iron requirements (18).

It should be noted that high bioavailability was obtained in spite of the baking process, and that the biscuits were not consumed with meat. Martínez-Torres and Layrisse (19), as well as Hallberg *et al.* (20) reported that heme-iron absorption is usually fairly poor in the absence of meat. The bioavailability of BHC is better than non-heme iron compounds generally utilized in the fortification of wheat flour and its processing products (21, 22). This better bioavailability is particularly important with respect to recent results obtained by Hallberg, Brune and Rossander (21), that show poor absorption of carbonyl iron compounds widely used in the fortification of cereals.

Our study shows the feasibility of the biscuit as a vehicle, since its consumption was constant and over a long period of time. Children given 30 g daily of BHC-fortified biscuits during two school periods increased their iron stores when compared to a control group. Other hematological changes were less evident, because the two groups of children had very good iron status at the beginning of the study. Based on these results, it would be predicted that the effect of BHC-fortified biscuits in a population with a poor iron status will be more evident.

The improvement of the total iron endowment obtained with the BHC-fortified biscuits in school-children will allow them to confront successfully the greater requirements imposed during adolescence.

In conclusion, we have established the high iron bioavailability of biscuits fortified with hemoglobin iron, its good acceptability, and its biological effect upon iron nutriture. These characteristics make it a promising product to be employed in the combat of iron deficiency.

RESUMEN

**GALLETAS FORTIFICADAS CON HEMOGLOBINA:
BIODISPONIBILIDAD Y EFECTO SOBRE LA NUTRICION
DE HIERRO EN ESCOLARES**

En Chile, los escolares reciben diariamente 30 g de galletas de harina de trigo en un Programa de Desayunos Escolares. Estas galletas fueron fortificadas con 6% de hemoglobina de vacuno. La biodisponibilidad del hierro, determinada mediante una técnica dobleisotópica, mostró una elevada absorción del hierro hemínico en las galletas fortificadas (19.7%).

En un estudio piloto, a un grupo de 215 escolares se les administró diariamente la galleta fortificada (30 g) durante dos períodos escolares, comparándose su estrado nutricional férrico con 212 niños que recibieron galletas no fortificadas. La aceptabilidad de la galleta fortificada fue excelente. Al inicio ambos grupos presentaron una nutrición de hierro comparablemente buena. Al término del primer y segundo período escolar, el grupo fortificado acusó promedios de ferritina sérica más elevados. Los depósitos de hierro eran suficientes (ferritina sérica $\geq 20 \mu\text{g/l}$) en el 92 y 79% de los sujetos fortificados, y controles, respectivamente ($P < 0.004$).

La alta biodisponibilidad del hierro de esta galleta, sus óptimas condiciones organolépticas y su efecto sobre la nutrición de hierro, hacen de este producto una alternativa promisoría para la prevención de la deficiencia de hierro.

BIBLIOGRAPHY

1. INACC. The Prevalence of Anemia in the World: A Report of the International Nutritional Anemia Consultative Group. New York, N.Y., The Nutrition Foundation, 1985.
2. Dallman P.R., M.A. Siimes & A. Stekel. Iron deficiency in infancy and childhood. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33: 86-118, 1980.
3. Cook J. & M. Reusser. Iron fortification: An update. *Am. J. Clin. Nutr.*, 38: 648-659, 1983.
4. Stekel A., M. Amar, E. Calvo, P. Chadud, E. Hertrampf, S. Llaguno, M. Olivares & F. Pizarro. Nutritional significance of interactions between iron and food components. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 33: 33-41, 1981.
5. Cook J.D. & T.H. Bothwell. Availability of iron from infant foods. In: *Iron Nutrition in Infancy and Childhood*. A. Stekel (Ed.). New York, N.Y., Raven Press, 1984, p. 119-145.
6. Layrisse M., J.D. Cook, C. Martínez-Torres, M. Roche, I.N. Kuhn & C.A. Finch. Food iron absorption: A comparison of vegetables and animal foods. *Blood*, 33: 430-443, 1969.
7. Björn-Rasmussen E., L. Hallberg, B. Isaksson & B. Arvidsson. Food iron absorption in man. Application of the two-pool extrinsic tag method to measure heme and non-heme iron absorption from the whole diet. *J. Clin. Invest.*, 53: 247-255, 1974.
8. Asenjo, J.A., M. Amar, N. Cartagena, J. King, E. Hiche & A. Stekel. Use of a bovine heme iron concentrate in the fortification of biscuits. *J. Food Sci.*, 50: 795-799, 1985.

9. Ríos E., M. Olivares, M. Amar, P. Chadud, F. Pizarro & A. Stekel. Evaluation of iron status and prevalence of iron deficiency in infants in Chile. In: **Nutrition Intervention Strategies in National Development**. B. A. Underwood (Ed.). New York, N.Y., Academic Press Inc., 1983, p. 273-283.
10. Hertrampf E., M. Amar & A. Stekel. Iron bioavailability from different heme iron concentrates added to milk in infants. In: **Proceedings of the XVII Congress of Hematology**, Paris, France, International Society of Hematology, 1978, p. 467 (Abstract).
11. Eakins J.D. & D.A. Brown. An improved method for the simultaneous determination of iron-55 and iron-59 in blood by liquid scintillation counting. **Int. J. Appl. Radiat. Isotopes**, 17: 391-397, 1966.
12. Bothwell T.H. & C.A. Finch. **Iron Metabolism**. Boston, MA., Little, Brown & Co., 1962, p. 35-191.
13. Fischer D.S. & D.C. Price. A simple serum iron method using the new sensitive chromogen tripyridyl-s-triazine. **Clin. Chem.**, 10: 21-31, 1964.
14. Dallman P.R. & M.A. Siimes. Percentile curves for hemoglobin and red cell volume in infancy and childhood. **J. Pediatr.**, 94: 26-31, 1979.
15. Fomon S.J. Bioavailability of supplemental iron in commercially prepared dry infant cereals. **J. Pediatr.**, 110: 660-661, 1987.
16. Reizenstein P. Cattle hemoglobin —A possible dietary iron supplement. **Brit. J. Haematol.**, 31: 265-268, 1975.
17. Reizenstein P. Hemoglobin fortification and prevention of iron deficiency with heme iron. **Acta. Medica Scand.**, 629: 21-30, 1979.
18. Stekel A. Iron requirement in infancy and childhood. In: **Iron Nutrition in Infancy and Childhood**. A. Stekel (Ed.). New York, N.Y., Raven Press Inc., 1984, p. 1-10.
19. Martínez-Torres C. & M. Layrisse. Iron absorption from veal muscle. **Am. J. Clin. Nutr.**, 24: 531-540, 1971.
20. Hallberg L., E. Björn-Rasmussen, L. Howard & L. Rossander. Dietary heme iron absorption. A discussion of possible mechanism for the absorption-promoting effect of meat and for regulation of iron absorption. **Scand. J. Gastroent.**, 14: 769-779, 1979.
21. Hallberg L., M. Brune & L. Rossander. Low bioavailability of carbonyl iron in man: Studies on iron fortification of wheat flour. **Am. J. Clin. Nutr.**, 43: 59-67, 1986.
22. Cook J.D., V. Minnich, C.V. Moore, E. Björn-Rasmussen, W.B. Bradley & C.A. Finch. Absorption of fortification iron in bread. **Am. J. Clin. Nutr.**, 26: 861-872, 1973.

BIODISPONIBILIDADE DE ZINCO EM DIETA REGIONAL DE SÃO PAULO¹

R.P. Dantas² e S.M.F. Cozzolino³

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental,
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo
São Paulo, Brasil

RESUMO

A biodisponibilidade de zinco em dieta regional de São Paulo, da população com renda menor que 2 (dois) salários mínimos, foi estudada em ratos albinos Wistar, recém-desmamados, com peso ao redor de 47.0g. Foram formados três grupos de animais, um experimental, que recebeu ração à base da dieta regional de São Paulo (DRSP), *ad libitum*, e os outros dois controles, que receberam ração à base de caseína suplementada com metionina (CA), "pair feeding" e *ad libitum*, por um período de 60 dias. As rações continham 11% de proteína e 11 mg de zinco/kg. Para se avaliar a biodisponibilidade de zinco utilizou-se o Índice de absorção aparente de zinco e o nível de zinco na carcaça. Observou-se que a biodisponibilidade de zinco da ração DRSP é baixa quando comparada com a ração controle CA. Houve uma correlação positiva significativa entre a quantidade absorvida de zinco e o nível de zinco na carcaça.

Manuscrito modificado recebido: 9—11—89.

- 1 Parte da Tese de Maestrado intitulada "Biodisponibilidade de Zinco em Dieta Regional de São Paulo", apresentada ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, em 1987. Projeto realizado com apoio financeiro da FINEP (Processo No. 42.84.0821.00).
- 2 Professor Assistente do Departamento das Ciências da Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Brasil.
- 3 Professor Assistente, Doutor do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Caixa Postal 30.786, São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

Em 1961, Prasad, Halsted e Nadim (1), reconheceram a essencialidade de zinco para humanos e a partir desta época, a deficiência deste elemento tem sido observada em crianças (2), adolescentes (3), adultos (4), gestantes (5), vegetarianos (6) e em algumas condições patológicas (7).

Como consequência desta deficiência, são descritos: redução de crescimento, anorexia, ataxia, lesões bucais, alopecia, acrodermatite, hipogonadismo e redução da função imunitária (8, 9). Também tem sido observadas, diminuição da síntese de DNA, RNA e proteínas, redução dos níveis de zinco no soro, urina, saliva, ossos, pelos e em alguns órgãos, bem como redução na concentração ou aumento do "turnover" das metaloenzimas dependentes de zinco (10-12).

A deficiência de origem alimentar, deve-se ao alto consumo de vegetais, principalmente cereais e leguminosas, associada ao baixo consumo de alimentos de origem animal. Os vegetais possuem componentes como fitatos, oxalatos, fibras que podem reduzir a absorção e utilização de zinco (13, 14).

No Brasil também tem-se constatado deficiência de zinco em estudos isolados (15-17), supondo-se portanto que os fatores determinantes sejam a baixa ingestão de zinco e a redução na biodisponibilidade.

Assim, propusemo-nos a verificar o teor e a biodisponibilidade de zinco, da dieta consumida pela população com renda até 2 (dois) Salários Mínimos mensais, da região de São Paulo.

Animais

Utilizou-se 28 ratos albinos machos, da linhagem Wistar, recém-desmamados, pesando $47g \pm 3.0$. Foram mantidos, por um período de 60 dias em gaiolas metabólicas individuais de aço inox, à temperatura de 23°C com ciclo claro-escuro.

Rações

A ração controle à base de caseína suplementada com DL-metionina, foi preparada de acordo com a composição percentual descrita na Tabela 1 e oferecida em pó. As misturas salina e vitamínica foram elaboradas segundo as especificações do Committee on Laboratory Animal Diets/NRC (18). Os percentuais de proteína e zinco foram ajustados aos da ração DRSP.

A ração DRSP (Tabela 2) foi elaborada segundo o ENDEF (19), sendo os alimentos preparados da forma habitualmente utilizada pela população, a fim de se tentar reproduzir as reações químicas que normalmente ocorrem no processo de cocção, sendo então secos em estufa ventilada a 60°C e pulverizados, homogeneizados e oferecida em pó. Ambas as rações foram conservadas em geladeira em sacos hermeticamente fechados.

TABELA 1
COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO À BASE DE CASEÍNA

Componentes	%
Caseína	15.5
DL-metionina	0.15
Sacarose	10.0
Fibra	1.0
Oleo de soja	8.0
Mistura salina*	4.0
Mistura vitamínica	1.0
Amido de milho, q.s.p.	100.0

* A mistura salina foi elaborada sem a adição de zinco, a fim de se ajustar este elemento ao nível da DRSP.

TABELA 2
COMPOSIÇÃO DA DIETA REGIONAL DE SÃO PAULO

Componentes	%
Cereais e derivados	36.1
Raízes e tubérculos	5.8
Açúcar	10.7
Feijão	9.7
Hortaliças	
folhosas	2.0
não folhosas	6.3
Frutas	5.2
Carnes	5.7
Ovos	1.3
Leite e derivados	9.3
Oleo	3.8
Miscelâneas	3.6

Fezes

Foram coletadas diariamente após o quinto dia do experimento, e armazenadas em frascos individuais de polietileno à temperatura ambiente. Ao final do experimento, as fezes foram limpas, secas em estufa a 105°C, pesadas, pulverizadas em moinho de aço inox e conservadas em frascos de polietileno à temperatura ambiente, até análise de zinco.

Carcça

Após o sacrifício, os animais foram eviscerados sendo suas carcaças pesadas e secas em estufa a 105°C. Após desengorduradas e pulverizadas em moinho de aço inox, foram conservadas em frascos de polietileno à temperatura ambiente até análise.

Lavagem de Vidraria e Plásticos

A vidraria e plásticos utilizados durante o experimento foram cuidadosamente lavadas em banho de ácido nítrico a 30%, a fim de minimizar a contaminação por metais (20, 21).

Análise das Rações

As rações foram analisadas quanto ao teor de cada componente, em triplicata, segundo os métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (20) e Association of Official Analytical Chemists (22).

Análise de Zinco

O teor de zinco foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (Perkin Elmer, Mod. 460) por leitura direta, em soluções de amostras oxidadas por via seca a 550°C em mufla, solubilizadas com ácido nítrico, diluídas com água deionizada segundo método preconizado pelo Instituto Adolfo Lutz (20), e lidas nas condições de calibração especificadas para o zinco.

Avaliação da Biodisponibilidade de Zinco

Foram utilizados os seguintes parâmetros: 1 - Índice de absorção aparente de zinco (23) obtidos através da análise do zinco ingerido e excretado nas fezes. 2 - Nível de zinco na carcaça (24).

Análise Estatística⁴

Foram realizadas análises de variância ou teste de Tukey, teste de Brown-Forsythe ou Schefé e coeficiente de correlação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste experimento encontram-se nas Tabelas de 3 a 5.

4 Realizada pelo Departamento de Estatística do IME/USP.

Composição das Rações

As rações apresentaram a composição contida na Tabela 3. Pode-se observar que as rações apresentaram-se isocalóricas, isoprotéicas e com o mesmo teor de zinco, diferindo apenas quanto ao teor de lipídeos e fibra. Embora o teor de lipídios da ração DRSP tenha sido inferior ao da ração CA, o nível obtidos é considerado adequado pela National Research Council (18), e o valor calórico das rações foi semelhante. Quanto ao teor de fibra, as recomendações para ratos variam de 1 a 10% (18-22), portanto os níveis foram adequados.

TABELA 3

COMPOSIÇÃO DAS RAÇÕES À BASE DE CASEINA (CA)
E À BASE DA DIETA REGIONAL DE SÃO PAULO (DRSP)

Componentes		DRSP	CA
Energia	(kcal)	379.1	389.0
Umidade	(%)	5.6	9.6
Proteína	(%)	11.5	11.8
Lipídios	(%)	5.6	8.0
Carboidratos	(%)	70.7	65.5
Fibra	(%)	3.9	1.1
Minerais totais	(%)	2.7	3.0
Zinco	(mg/kg)	11.1	11.6

Características dos Animais

Os animais dos grupos controle 1 e 2 mostraram-se bastante ativos e dóceis, tendo apresentado pelagem brilhante espessa e limpa durante o experimento, enquanto que os animais do grupo experimental apresentaram pelagem sem brilho, suja e rarefeita. Alguns animais apresentaram uma acentuada perda de pelo na região dorsal, entretanto, como este não é um sinal patognomônico da deficiência de zinco, não podemos afirmar que tenha existido tal deficiência baseados neste sinal.

Avaliação da Biodisponibilidade de Zinco

1. *Ingestão, excreção, absorção e índice da absorção aparente de zinco* (Tabela 4). Verificamos que os valores de zinco ingeridos pelos grupos experimental e controle 1 "pair feeding" não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si, e foram menores que os do grupo controle 2, *ad libitum* ($p < 0.05$), de acordo como esperado. Também, observamos um aumento na excreção fecal de zinco no

TABELA 4

VALORES MÉDIOS E DESVIOS PADRÃO DO ZINCO INGERIDO (ZnI) FECAL (ZnF) E ABSORVIDO (ZnA) DO ÍNDICE DE ABSORÇÃO APARENTE DE ZINCO (IAapZn) EM ANIMAIS ALIMENTADOS COM RAÇÕES À BASE DE CASEINA (CA) E DA DIETA REGIONAL DE SÃO PAULO (DRSP) DURANTE 60 DIAS DE EXPERIÊNCIA

Grupos	Zinco (mg)			IAapZn ZnA/ZnI . 100
	Ingerido	Fecal	Absorvido	
Experimental <i>ad libitum</i> (DRSP)	a 7.0 ± 0.4 (6)*	a 6.2 ± 0.5 (6)	a 0.8 ± 0.5 (6)	a 11.10 ± 7.31 (6)
Controle 1 "pair feeding" (CA)	a 7.3 ± 0.0 (6)	b 3.0 ± 0.3 (6)	b 4.3 ± 0.4 (6)	b 58.35 ± 4.28 (6)
Controle 2 <i>ad libitum</i> (CA)	b 12.8 ± 1.0 (6)	a 5.1 ± 1.2 (6)	c 7.7 + 1.2 (6)	a 60.05 ± 7.94 (6)

Em cada coluna os valores com subscrito diferente são significativamente diferentes, ao nível de $p < 0.05$.

* Número de animais.

grupo experimental, provavelmente devido à presença de outros componentes da dieta como fibra, fitato, oxalatos, bem como da interação com outros metais. O aumento da excreção de zinco no grupo controle 2, *ad libitum*, deveu-se provavelmente ao aumento da ingestão destes elemento e ao maior volume de fezes eliminadas.

A absorção de zinco foi menor para o grupo experimental, sendo 19% do obtido para o grupo controle 1 "pair feeding" e 18.4% do grupo controle 2, *ad libitum*.

O índice de absorção aparente de zinco foi menor para o grupo experimental (11%) e maior para os grupos controle (59%). Os resultados obtidos para a DRSP estão de acordo com os de outros autores (25-27), que obtiveram valores compreendidos entre 9 e 31% para

alimentos isolados e dietas mistas.

A regressão linear entre a quantidade de zinco ingerida e absorvida demonstrou a existência de uma tendência de elevação da absorção com o aumento da ingestão de zinco ($y = -4.061 + 0.920X$), havendo uma correlação altamente significativa ($n=18$, $r=0.866$, $p \leq 0.005$).

2. *Nível de zinco na carcaça* (Tabela 5) - Os valores obtidos apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos sendo menores para o grupo experimental e maiores para os grupos controle 1 "pair feeding" e 2, *ad libitum*. Os valores de zinco total na carcaça também foram estatisticamente diferentes para todos os grupos. A regressão linear entre a quantidade absorvida e o nível

TABELA 5

VALORES MÉDIOS E DESVIOS PADRÃO DO PESO DA CARCAÇA SECA, NÍVEL DE ZINCO EM kg/g DE CARCAÇA SECA, ZINCO TOTAL NA CARCAÇA DOS ANIMAIS SACRIFICADOS NO INÍCIO DA EXPERIÊNCIA E DOS ALIMENTADOS COM RAÇÃO À BASE DE CASEINA (CA) E DA DIETA REGIONAL DE SÃO PAULO (DRSP) DURANTE 60 DIAS DE EXPERIÊNCIA

Grupos	Carcaça seca (g)	Zinco	
		$\mu\text{g/g}$ de carcaça seca	Carcaça (mg)
Zero	a 9.8 ± 0.6 (10)*	a 92.80 ± 3.31 (10)	a 0.98 $+ 0.17$ (10)
Experimental <i>ad libitum</i> (DRSP)	b 46.3 ± 8.8 (6)	a 94.39 ± 4.26 (6)	b 4.10 $+ 0.61$ (6)
Controle 1 "pair feeding" (CA)	b 55.0 ± 3.0 (6)	b 116.06 ± 4.36 (6)	c 6.53 $+ 0.64$ (6)
Controle 2 <i>ad libitum</i> (CA)	c 82.8 ± 5.2 (6)	c 123.58 ± 8.83 (6)	d 10.22 $+ 2.96$ (6)

Em cada coluna os valores com subscritos diferentes são significativamente diferentes, ao nível de $p \leq 0.05$.

* Número de animais.

total de zinco na carcaça, demonstrou tendência de elevação do nível deste elemento na carcaça com o aumento da absorção de zinco ($Y = 4.122 + 0.567X$), houve correlação significativa ($n=18, r=0.9023, p=0.05$). Nossas observações concordam com os resultados obtidos por outros autores (27-30), em que ratos, submetidos à deficiência de zinco, apresentaram redução na concentração deste elemento na carcaça, e quanto maior a quantidade ingerida de zinco, maior sua concentração.

CONCLUSÕES

Com base no exposto, podemos concluir que a biodisponibilidade de zinco na DRSP foi baixa e existiu correlação positiva significativa entre a quantidade de zinco absorvida e o nível de zinco na carcaça.

SUMMARY

ZINC BIOAVAILABILITY IN THE REGIONAL DIET OF SÃO PAULO

Zinc bioavailability in the diet of the population of São Paulo area, with income lower than two minimum salaries, was studied in Wistar rats, recently weaned, with an average weight of 47.0 g. Three groups formed the experimental protocol: for 60 days. The experimental groups was fed *ad libitum* with a diet based on the diet of São Paulo (DRSP), control 1 - "pair feeding" and control 2, *ad libitum*, with a diet of casein supplemented with methionine (CA). The diets contained 11% protein and 11 mg of zinc per kg of diet. To investigate zinc bioavailability, the apparent zinc absorption index and zinc content in the carcass, were used. Zinc bioavailability in the DRSP diet is low in comparison to the control diet CA. A significantly positive correlation between zinc intake and zinc level in the carcass, was observed.

BIBLIOGRAFIA

1. Prasad, A.S., J.A. Halsted & M. Nadim. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am. J. Med.*, 31: 532-538, 1961.
2. Hambidge, K.M. *et al.* Low levels of zinc in hair: Anorexia, poor growth and hypogeusia in children. *Pediatr. Res.*, 6: 868-874, 1972.
3. Greger, I.L. *et al.* Nutritional status of adolescent girls in regard to zinc, copper and iron. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31: 269-275, 1978.
4. McKenzie, J.M. Content of zinc in serum, urine, hair and nails of New Zeland adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 32: 507-509, 1979.
5. Hambidge, K.M. *et al.* Zinc nutritional status during pregnancy: A longitudinal study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 37: 429-442, 1983.

6. Latta, D. & M. Liebman. Iron and zinc status of vegetarians and nonvegetarian males. *Nutr. Reps. Internat.*, **30**: 141-149, 1984.
7. Shinha, N. & E.R. Gabbieli. Serum copper and zinc levels in various pathologic conditions. *Am. J. Clin. Pathol.*, **54**: 570-577, 1970.
8. Prasad, A.S. Clinical, biochemical and nutritional spectrum of zinc deficiency in human subjects: An update. *Nutr. Revs.*, **41**: 197-208, 1983.
9. Bindra, G. The role of zinc in human nutrition. *Nutr. Food Sci.*, **98**: 17-18, 1986.
10. Fernández-Madrid, F., A.S. Prasad & D. Oberleas. Effect of zinc deficiency on nucleic acids, collagen, and non-collagenous proteins of connective tissue. *J. Lab. Clin. Med.*, **82**: 951-961, 1973.
11. Prasad, A.S. A century of research on the metabolic role of zinc. *Am. J. Clin. Nutr.*, **22**: 1215-1221, 1969.
12. Parisi, A.F. & B.L. Vallee. Zinc metalloenzymes: Characteristics and significance in biology and medicine. *Am. J. Clin. Nutr.*, **22**: 1222-1239, 1969.
13. O'Dell, B.L. Effect of dietary components upon zinc availability. *Am. J. Clin. Nutr.*, **22**: 1315-1322, 1969.
14. Henkin, R.I. & R.L. Aamodt. A redefinition of zinc deficiency. In: *Nutritional Bioavailability of Zinc*. *Am. Chem. Soc.*, 1983, p. 82-105.
15. Araujo, D.S. & R. Shrimpton. Padrão alimentar e consumo de zinco, vitamina A e ferro em pré-escolares, num bairro pobre de Manaus, 1979. *Acta Amazonica*, **11**: 591-597, 1982.
16. Shrimpton, R. *et al.* Estudo sobre o estado nutricional em relação ao zinco na Amazonia. I - Níveis de zinco no soro e ingestão de zinco em operários de Manaus, 1978. *Acta Amazonica*, **13**: 73-94, 1983.
17. Donangelo, C.M. & C.E. Azevedo. Zinco sérico em crianças brasileiras de famílias de baixa renda. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **34**: 290-297, 1984.
18. Committee on Laboratory Animal Diets / Assembly of Life Sciences National Research Council. Control of diets in laboratory animal experimentation. *Nutr. Abstr. Rev.*, **49**: 413-419, 1979.
19. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (FIBGE). *Indicadores Sociais. Relatório, 1979*. 1977, 100 p.
20. Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 3a. ed. Vol. 1, São Paulo, 1985, 533 p.
21. Lewis, L.L. Atomic absorption spectrometry, applications and problems. *Anal. Chem.*, **40**: 28-47, 1968.
22. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 14 ed. Washington, D.C., The Association, 1984, 1141 p.
23. O'Dell, B.L. Bioavailability of trace elements. *Nutr. Revs.*, **42**: 301-308, 1984.
24. Evans, G.W. & P.E. Johnson. Determination of zinc availability in foods by the extrinsic label technique. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**: 873-878, 1977.
25. Sandström, B. & A. Cederblad. Zinc absorption from composite meals. II. Influence of the main protein source. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**: 1778-1783, 1980.
26. Solomons, N.W. Factors affecting the bioavailability of zinc. *J. Am. Diet. Assoc.*, **80**: 115-120, 1982.
27. Davies, N.T. & R. Nightingale. The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole body retention of zinc, copper, iron and manganese in rats. *Br. J. Nutr.*, **34**: 243-258, 1975.
28. Forbes, R.M. & M. Yohe. Zinc requirement and balance studies with the rat. *J. Nutr.*, **70**: 53-57, 1960.
29. Murray, E.J. & H.H. Messer. Turnover of bone zinc during normal and accelerated

- bone loss in rats. *J. Nutr.*, 111: 1641-1647, 1981.
30. Reinhold, J.G., G.A. Kfoury & T.A. Thomas. Zinc, copper and iron concentration in hair and other tissues: Effects of low zinc and low protein intake in rats. *J. Nutr.*, 92: 173-182, 1967.

EFFECTO DEL AUMENTO DE LOS ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (OMEGA 6) DIETETICOS EN EL CONTENIDO DE GLUTATION HEPATICO Y ACTIVIDAD DE GAMA GLUTAMIL TRANSEPTIDASA EN RIÑON DE RATAS

Julia Araya¹, Gloria Vera², Héctor Araya³ y Nelly Pak⁴

**Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Santiago, Chile**

RESUMEN

Se estudió el efecto de la alimentación de ratas macho, cepa Wistar, desde los 24 a los 52 días de edad, con dietas de frijol deficientes en aminoácidos azufrados o suplementados con 0.3% DL-metionina y con dos concentraciones de aceite de maíz, 2% y 20% (g/kg dieta), sobre el contenido de glutatión en hígado (GSH) y sobre la actividad de gama glutamil transpeptidasa renal (GGTP) (E.C.2.3.2.2.). Los resultados indicaron que las ratas alimentadas con la dieta de frijol con 2% de aceite de maíz, disminuyeron significativamente el contenido de GSH hepático y la actividad de GGTP renal.

La suplementación con 0.3% de metionina y/o el incremento al 20% del aceite de maíz en la dieta, estimularon significativamente el contenido de GSH hepático y la actividad transpeptidásica en el riñón.

Se postula que el aumento de los ácidos grasos poliinsaturados estimuló la actividad de GGTP como una manera de aumentar la biodisponibilidad de sustratos para síntesis de novo de GSH hepático, necesario para la protección de la formación de hidroperóxidos atribuido al incremento de los ácidos grasos poliinsaturados a nivel celular.

Manuscrito modificado recibido: 30-4-90.

- 1 Profesor Titular y Director, Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, 2º. Piso, Santiago, Chile.
- 2 Profesor Auxiliar del citado Departamento.
- 3 Profesor Asociado, Departamento de Nutrición, de la misma Facultad.
- 4 Profesor Titular, Departamento de Nutrición, de la citada Universidad.

INTRODUCCION

El consumo diario de proteínas en las poblaciones de los países en vías de desarrollo resulta adecuado si se le compara con el nivel seguro de ingesta propuesto por FAO/OMS/UNU 1985. No obstante, las proteínas base de esas dietas habitualmente son limitantes en aminoácidos azufrados y/o lisina. El mayor problema de los países pobres, en cambio, es la deficiente ingesta calórica de sus habitantes; por ello, se ha propuesto elevar la densidad energética sobre la base de aumentar el contenido de grasa, particularmente de aceite vegetal.

Los ácidos grasos poliinsaturados contenidos en los aceites son susceptibles de peroxidarse, de tal manera que un aumento en el consumo de éstos incrementaría la probabilidad de formar hidroperóxidos a nivel celular. Para evitar esta alteración, la célula recurre a la acción concertada de varios sistemas de protección celular, entre los cuales se encuentra el glutatión (GSH), tripéptido cuya característica estructural es contener grupos sulfhidrilo y un enlace gama glutamilo (1). El GSH se metaboliza a través del ciclo gama glutamilo, ciclo de importancia en la degradación y síntesis del GSH, y el que es catalizado por seis enzimas (2). La primera enzima en la ruta del catabolismo y utilización del GSH es la gama glutamil transpeptidasa (GGTP) (E.C.2.3.2.2.). El hígado, por su baja actividad transpeptidasa, exporta GSH hacia el plasma, mientras que el riñón que está muy bien equipado de GGTP, utiliza efectivamente el GSH del plasma, segmentándolo en sus aminoácidos constitutivos, los que vuelven a circular para una síntesis posterior de novo de GSH (2). La actividad de la GGTP se eleva cuando se induce la utilización de GSH (3). Puesto que las funciones del glutatión son la de proteger contra los intermediarios —oxígeno reactivos, radicales libres y compuestos tóxicos— se debe considerar que un aumento en el nivel de glutatión celular podría ser benéfico bajo ciertas condiciones (4).

Con estos antecedentes, estudiamos el efecto de aumentar el consumo de aceite de maíz rico en ácidos grasos poliinsaturados omega 6, en el contenido de GSH hepático y en el actividad de GGTP renal, en ratas alimentadas con dietas elaboradas con frijol, deficientes en aminoácidos azufrados, o con dietas suplementadas con metionina.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 40 ratas macho cepa Wistar, de 22 a 24 días de edad, las que se dividieron en cinco grupos de ocho ratas cada uno. Cada grupo consumió durante 28 días una de las cinco dietas descritas en la Tabla 1. Las ratas de todos los grupos se ubicaron en jaulas individuales con libre acceso al agua bebida y a la dieta asignada. Se controló la temperatura (25°C), humedad (75%) y luz (12 horas de luz/12 horas de obscuridad) del vivero. Durante la experiencia se registró la evolución ponderal y la ingesta individual de cada dieta. El

TABLA 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES¹

Ingredientes (en gramos)	Dietas				
	1	2	3	4	5
a) Aceite maíz	20	200	20	200	100
b) Frijol solo	460	—	—	—	—
Frijol + 0.3% metionina	—	—	460	460	—
Caseína	—	—	—	118	—
Maicena	420	240	417	237	679
Celulosa	50	50	50	50	50
Vitaminas* ¹⁰	10	10	10	10	10
Minerales**	40	40	40	40	40
DL-metionina	—	—	3	3	3
Total	1000	1000	1000	1000	1000

1 En las dietas suplementadas con DL-metionina, ésta se incorporó a expensas de la maicena.

* 1 g de mezcla vitamínica contiene: vitamina A, 1000 U.I.; vitamina D, 100 U.I.; vitamina E, 10 U.I.; vitamina K (menadiona), 0.5 mg; tiamina, 0.5 mg; riboflavina, 1.0 mg; piridoxina, 0.4 mg; ácido pantoténico, 4.0 mg; niacina, 4.0 mg; colina, 200 mg; inositol, 25 mg; ácido para aminobenzoico, 10 mg; vitamina B₁₂, 2 µg; biotina, 0.02 mg y ácido fólico, 0.2 mg.

** Mezcla de minerales g/kg dieta: CaCO₃, 12.2; K₂HPO₄, 13.1; CaHPO₄·2H₂O, 3.1; NaCl, 6.8; MgSO₄·7H₂O, 4.1; citrato férrico, 0.41; MnSO₄, 0.2; ZnCl₂, 0.030; CuSO₄, 0.02; KI, 0.004; COCl₂, 0.001; KAl(SO₄)₂·0.0002; NaF, 0.004; Na₂SeO₃, 0.0008.

a) El aceite de maíz usado en esta experiencia estaba libre de peróxidos.

b) El frijol se preparó sometiéndolo a remojo previo de 12 horas. El agua de remojo se descartó y se reemplazó por agua fresca en la que se cocieron durante 2 horas a ebullición. El poroto blando se secó en corriente de aire caliente, luego se transformó en un polvo fino previa molienda en un molino Thomas-Wiley.

Grupo 5 —cuya dieta fue caseína suplementada con 0.3% DL-metionina— se consideró como control. Las dietas se prepararon una vez a la semana y fueron almacenadas de inmediato en cámara frigorífica a -20°C. Cada dieta se proporcionó diariamente *ad libitum*, y cada mañana se descartó todo lo que el animal había dejado en el comedero el día anterior.

Después de 28 días de iniciar la experiencia, todas las ratas fueron sacrificadas previo ayuno de 12 horas. Se les extrajo sangre por punción cardíaca usando heparina como anticoagulante, y los hígados

dos se eliminaron rápidamente para determinar su contenido de GSH, según Reed *et al.* (5). Se extrajeron los riñones, se homogeneizaron en buffer Tris 0.1 M, pH 8.0, y se determinó la actividad de GGTP en el sobrenadante, de acuerdo a la técnica de Meister y Tate (6). La proteína del sobrenadante se estableció según Lowry *et al.* (7). Luego, se calculó el promedio y la desviación estándar de los resultados, y se aplicó la prueba "t" de Student para determinar las significancias entre los promedios.

RESULTADOS

La ingesta de proteína, aminoácidos azufrados, ácidos grasos poliinsaturados y alfa tocoferol en los cinco grupos de ratas, se informa en la Tabla 2. Según se observa, los Grupos 1, 4 y 5 consu-

TABLA 2

INGESTA DE PROTEINA, AMINOACIDOS AZUFRADOS ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS Y TOCOFEROL (VIT. E) DURANTE 28 DIAS EN LOS CINCO GRUPOS EXPERIMENTALES

No. Grupos	Proteína (g/28 días) (mg/28 días)	Aminoácidos azufrados	AGPI* (g/28 días)	Tocoferol (mg/28 días)
1 - Frijol + 2% aceite maíz	d 27.96 ± 3.22	a 522 ± 60.1	a 3.29 ± 0.38	a 28.65 ± 3.30
2 - Frijol + 20% aceite maíz	a 21.81 ± 2.48	a 408 ± 43.2	b 25.72 ± 2.72	a 30.53 ± 3.23
3 - Frijol + 0.3% metio- nina + 2% aceite maíz	b 40.53 ± 4.72	b 1,884 ± 219	a 4.60 ± 0.54	b 40.07 ± 4.67
4 - Frijol + 0.3% metio- nina + 20% aceite maíz	c 26.93 ± 5.44	b 1,300 ± 263	b 31.80 ± 6.42	b 37.74 ± 7.62
5 - Caseína + 0.3% metio- nina + 10% aceite maíz	d 28.83 ± 3.81	c 1,881 ± 226	c 19.24 ± 2.31	b 38.5 ± 5.1

Valores promedio ± desviación estándar de 8 animales por grupo. Las diferencias de los promedios analizados verticalmente que no tienen letra común, son estadísticamente significativas (P < 0.05). Si la misma letra figura sobre el promedio, las diferencias entre los promedios no son estadísticamente significativas.

* AGPI = Acidos grasos poliinsaturados omega 6.

mieron cantidades similares de proteína. El Grupo 2, cuya dieta contenía 20% de aceite de maíz, consumió significativamente menos proteína, y el Grupo 3, suplementado con metionina y con 2% de aceite de maíz, consumió significativamente más proteína que los otros cuatro grupos. La ingesta de lípidos estuvo directamente relacionada con el contenido de aceite de las diferentes dietas. La ingesta de alfa tocoferol fue similar en los Grupos 1 y 2, y significativamente menor que en los otros tres grupos.

La Tabla 3 da cuenta del peso del hígado y el contenido de GSH en sangre e hígado, después de 28 días de alimentar a cada uno de los cinco grupos con sus respectivas dietas. Puede advertirse que el

TABLA 3

**PESO DEL HIGADO, CONTENIDO DE GLUTATION (GSH)
EN HIGADO ($\mu\text{mol/g}$) Y EN SANGRE ($\mu\text{mol/ml}$) DESPUES DE
28 DIAS DE ALIMENTAR CON CINCO DIETAS
EXPERIMENTALES**

Grupos	Peso hígado (g/28 días)	GSH hígado ($\mu\text{mol/g}$)	GSH sangre ($\mu\text{mol/ml}$)
1 - Frijol + 2% aceite maíz	a* 3.80 ± 0.45	a 0.873 ± 0.21	a 1.095 ± 0.11
2 - Frijol + 20% aceite maíz	a 3.06 ± 0.65	b 1.49 ± 0.27	b 0.667 ± 0.10
3 - Frijol + 0.3% DL-metionina + 2% aceite maíz	b 6.65 ± 1.08	b 1.48 ± 0.39	a 0.987 ± 0.10
4 - Frijol + 0.3% DL-metionina + 20% aceite maíz	b 6.24 ± 1.03	c 2.73 ± 1.02	b 0.739 ± 0.11
5 - Caseína + 0.3% DL-metionina + 10% aceite maíz	b 6.45 ± 1.09	d 3.78 ± 0.64	b 0.754 ± 0.11

* Valores promedio ± desviación estándar obtenida de 8 animales en cada grupo.

tamaño del hígado de los grupos suplementados con 0.3% de metionina duplicó el peso de los grupos deficientes en aminoácidos azufrados. El contenido de GSH hepático del Grupo 1 que consumió dieta con frijol y 2% de aceite, se encontró significativamente disminuido respecto a los otros cuatro grupos. El contenido de GSH en hígado se elevó en los grupos con frijol suplementado con metionina y en los grupos que aumentaron el consumo de aceite de maíz del 2% al 20%; sin embargo, esa alza no alcanzó el contenido del Grupo Control (Grupo 5).

La concentración de GSH en sangre total se encontró más alta en los grupos que consumieron la dieta con 2% de aceite y significativamente más baja cuando el contenido de aceite de la dieta ascendió al 20%, disminución que dio valores similares a los del Grupo Control.

La actividad de GGTP renal y el peso de cada riñón se exponen en la Tabla 4. La actividad específica de la enzima ($\mu\text{mol}/\text{de sustrato transformado}/\text{mg proteína}$) fue similar en los cinco grupos con dife-

TABLA 4

PESO RIÑÓN Y ACTIVIDAD DE GAMA GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA (GGT) EN RIÑÓN DE RATAS ALIMENTADAS CON CINCO DIETAS EXPERIMENTALES

Grupos	Actividad de gama glutamil transpeptidasa (GGT)		
	GGT ($\mu\text{mol}/\text{g órgano}$)	GGT ($\mu\text{mol}/\text{mg prot-1}$)	Peso riñón ($\text{mg}/\text{l riñón}$)
1 - Frijol + 2% aceite maíz	a* 329 ± 51.7	9.67 ± 1.56	364 ± 60
2 - Frijol + 20% aceite maíz	b 442 ± 71.2	9.93 ± 1.93	442 ± 71
3 - Frijol + 0.3% DL- metionina + 2% aceite maíz	c 409 ± 44.5	9.45 ± 1.06	637 ± 61
4 - Frijol + 0.3% DL- metionina + 20% aceite maíz	b 448 ± 57.2	9.73 ± 2.00	612 ± 88
5 - Caseína + 0.3% DL- metionina + 2% aceite maíz	b 387 ± 77.0	9.13 ± 1.72	581 ± 66

* Promedio ± desviación estándar de 8 animales en cada grupo. Las diferencias de los promedios analizados que no tienen la misma letra sobreescrita son estadísticamente significativas ($P < 0.05$). Los que tienen la misma letra sobreescrita sobre el promedio no son estadísticamente significativas.

rentes tratamientos dietéticos. La actividad de la enzima expresada por gramo de órgano se vio estimulada por la suplementación de la dieta con 0.3% de metionina, y por el incremento del contenido del aceite de maíz de las dietas consumidas por los Grupos 2 y 4, alcanzando en estos grupos actividades comparables al Grupo Control. El peso de los riñones se duplicó en los tres grupos que consumieron dietas suplementadas con metionina, respecto a los grupos cuyas dietas no fueron suplementadas con metionina.

DISCUSION

Los resultados de este estudio muestran que el consumo de una dieta preparada con proteína de frijol y con 2% de aceite de maíz disminuyó el contenido de GSH hepático y la actividad de GGTP renal, pero aumentó significativamente el contenido de GSH en sangre. Al suplementar la dieta de frijol con metionina y/o con 20% de aceite de maíz, la concentración de GSH en el hígado, y la actividad transpeptidásica renal aumentaron significativamente, y simultáneamente disminuyó la concentración de GSH en sangre.

El alza del contenido de glutatión hepático por efecto del incremento de la metionina dietética de 0 a 0.8%, ha sido comunicada por Seligson y Rotruck (8).

En este estudio la magnitud del aumento en el contenido de GSH hepático de las ratas alimentadas con la dieta de frijol fue igual, ya sea que la dieta se suplementara con 0.3% de DL-metionina o si se aumentara el contenido de aceite de maíz de 2% a 20%. Se observa un efecto aditivo cuando en la misma dieta se incrementa el contenido de aminoácidos azufrados y ácidos grasos poliinsaturados.

Estudios *in vitro* han demostrado que la enzima GGTP es mucho más activa en catalizar la ruptura del GSH cuando se agregan aminoácidos aceptores, sin deprimir los niveles de GSH, presumiblemente debido a su rápida resíntesis (9).

En el presente estudio, la mayor actividad de la GGTP se asoció a un alza del GSH hepático y a un descenso de GSH en sangre, cuando las dietas se suplementaron con metionina y/o con aceite de maíz.

El estímulo en el contenido del GSH hepático exhibido por los grupos que consumieron dietas altas en aceite de maíz, podría atribuirse a una mayor necesidad intracelular de este tripéptido en el hígado, como una manera de protegerse contra la toxicidad de los peróxidos provenientes del aumento de poliinsaturados en el medio.

Izaki, Yoshikawa y Uchiyama (10), estudiaron el efecto de la ingesta de aceites oxidados por un proceso térmico y demostraron que el GSH hepático aumentó significativamente en proporción al grado de oxidación de los aceites recalentados, en comparación con el Grupo Control.

Por otra parte, el hallazgo del estímulo de la actividad de GGTP renal, asociada al aumento del consumo de ácidos grasos poliinsaturados, hace reflexionar acerca de si el nivel de GSH hepático es regulado por la GGTP cuando en el medio aumentan las sustancias

tóxicas o extrañas como son los ácidos grasos poliinsaturados peroxidados, o si el incremento en consumo de ácidos grasos altamente poliinsaturados cambia la composición lipídica de la membrana plasmática, influenciando la actividad de proteínas asociadas a dicha membrana. Robblee y Clandinin demostraron cambios en la actividad de la ATPasa mitocondrial cardíaca en ratas alimentadas con dietas que tenían un contenido elevado de aceite de soya (11).

A juicio de los autores, estos resultados abren una interesante perspectiva para considerar la interrelación entre los diferentes ítems de la dieta, particularmente en el caso de aquellas poblaciones cuya dieta es deficiente en aminoácidos azufrados, y donde se recomienda aumentar la densidad energética de la dieta a base de grasa poliinsaturada.

SUMMARY

EFFECT OF INCREASING DIETARY POLYUNSATURATED FATTY ACIDS (OMEGA 6) ON THE CONTENT OF GLUTATHION IN LIVER AND GAMMA GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE ACTIVITY IN KIDNEY, IN RATS

The effect of feeding 24 to 52-days-old male rats of the Wistar strain, with beans diet deficient in sulfur-containing amino acids or supplemented with 0.3% DL-methionine and two corn oil concentrations, 2% and 20% (g/kg/diet), on the glutathione content (GSH) in liver, and on the renal gamma glutamyl transpeptidase (GGTP) (E.C.2.3.2.2) activity was studied. Results indicated that rats fed the bean diet with 2% corn oil decreased significantly the liver GSH content and GGTP renal activity.

Supplementation with 0.3% methionine and/or the 20% increment of the diet corn oil, significantly stimulated the liver GSH content and the transpeptidase activity in the kidney.

It is postulated that the increase of polyunsaturated fatty acids, stimulated the GGTP activity as a way of increasing substrate bioavailability for synthesis de novo of liver GSH, necessary for the protection of the hydroperoxides formation, attributed to the increment of polyunsaturated acids at cellular level.

BIBLIOGRAFIA

1. Meister, A. & S.S. Tate. Glutathione and related gamma glutamyl compounds: Biosynthesis and utilization. *Ann. Rev. Biochem.*, 45: 559-604, 1976.
2. Meister, A. Metabolism and transport of glutathione and other gamma glutamyl compounds. In: *Functions of Glutathione: Biochemical, Physiological, Toxicological and Chemical Aspects*. A. Larson *et al.* (Eds.). New York, N.Y., Raven Press, 1983, p. 1-22.
3. Higashi, T., N. Tateishi, A. Naruse, & Y. Sakamoto. Decrease of glutathione and induction of gamma glutamyltransferase by dibutyryl 3'5' cyclic AMP in rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 68: 1280-1286, 1976.

4. Meister, A. New aspects of glutathione biochemistry and transport-selective alteration of glutathione metabolism. *Nutr. Revs.*, 42: 397-410, 1984.
5. Reed, D.J., J.R. Babson, P.W. Beatty, A.E. Brodie, W.W. Ellis & D.W. Potter. High-performance liquid chromatography analysis of nanomole levels of glutathione, glutathione disulfide and related thiols and disulfides. *Anal. Biochem.*, 106: 55-62, 1980.
6. Meister, A., S.S. Tate & O.W. Griffith. Gamma glutamyl transpeptidase. *Methods Enzymol.*, 77: 237-253, 1981.
7. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, & R.J. Randall. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275, 1951.
8. Seligson, F.H. & J.T. Rotruck. Tissue non protein sulfhydryl content and weight gain of rats as affected by dietary methionine level. *J. Nutr.*, 113: 98-104, 1983.
9. Griffith, O.W., R.J. Bridges & A. Meister. Evidence that gamma glutamyl cycle functions in vivo using intracellular glutathione: Effects of amino acids and selective inhibition of enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75: 5405-5408, 1979.
10. Izaki, Y., S. Yoshikawa & M. Uchiyama. Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats. *Lipids*, 19: 324-332, 1984.
11. Robblee, N.M. & M.T. Clandinin. Effect of dietary fat level and polyunsaturated fatty acid content on the phospholipid composition of rat cardiac mitochondrial membranes and mitochondrial ATPase activity. *J. Nutr.*, 114: 263-269, 1984.

AVALIAÇÃO SENSORIAL E NUTRICIONAL DE MACARRÃO SUPLEMENTADO COM CONCENTRADO PROTÉICO DE PESCADO

*Neuza Maria Brunoro Costa¹, Dilson Teixeira Coelho²
e Mitsué Hironaka Bicudo³*

**Universidade Federal de Viçosa
Viçosa, Minas Gerais, Brasil**

RESUMO

O presente trabalho consistiu na suplementação de macarrão com concentrado protéico de pescado (CPP), nas proporções de 5, 10, 15 e 20% em relação à farinha de trigo. O CPP foi obtido a partir de traíras (*Hoplias malabaricus*) evisceradas e desossadas, utilizando-se etanol a quente como solvente extrator de lipídeos e odores, com pH na faixa de 5.5 a 6.0. O concentrado protéico resultante apresentou características desejáveis, tais como: coloração clara; livre de sabor e odor de peixe; altos níveis de proteína (84.3 g/100g) e lisina (484 mg/gN) e baixos teores de lipídeo (0.4 g/100g) e de umidade (8.6 g/100g).

A adição de CPP ao macarrão promoveu um escurecimento no mesmo proporcional ao nível adicionado, porém, somente o nível de 20% de suplementação não foi considerado aceitável por um painel de provadores, em termos de cor e sabor.

Foram utilizados ratos Wistar recém-desmamados para avaliar a qualidade protéica do macarrão, nos diversos níveis de suplementação, comparados à caseína. Neste ensaio foram medidos PER, NPR, NPU, digestibilidade e N retido na carcaça dos animais. A qualidade protéica do macarrão foi elevada através da suplementação com CPP. A adição de 10% foi semelhante a caseína e não houve aumentos subsequentes na qualidade protéica do macarrão com adição de níveis superiores de CPP.

Manuscrito modificado recebido: 9-5-90.

- 1 Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais, Brasil.
- 2 Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFRV.
- 3 Professora Adjunta do Departamento de Nutrição e Saúde da mesma Universidade.

O CPP, devido ao seu alto conteúdo em lisina, constitui uma fonte promissora na suplementação de cereais. Concluiu-se neste trabalho que o nível de 10% de CPP é o mais satisfatório para a suplementação de macarrão, sob os aspectos sensorial e nutricional.

INTRODUÇÃO

Embora a qualidade protéica dos alimentos seja tratada hoje com menos ênfase do que no período pós-guerra, sua importância, especialmente em relação ao crescimento e à lactação, não pode ser negligenciada (1). A qualidade protéica dos alimentos é da mesma forma relevante nos países do Terceiro Mundo, onde o consumo de proteínas ainda marginal (1, 2). Nestes países, a população economicamente menos favorecida se vê forçada a adquirir alimentos de mais baixo custo, principalmente os de origem vegetal, onde os cereais e leguminosas constituem a principal fonte de proteína da dieta (3). Embora a combinação cereal-leguminosa seja capaz de fornecer um aporte protéico de alto valor biológico, a quantidade e a proporção ingeridas nem sempre são adequadas. Quando a renda familiar é baixa, os cereais são consumidos em maior quantidade e a qualidade protéica da dieta pode diminuir, visto que suas proteínas apresentam limitações em alguns aminoácidos essenciais, especialmente lisina (4).

O valor protéico dos cereais pode ser incrementado pela adição do concentrado protéico de pescado (CPP) (5-7), uma fonte protéica de alto valor biológico que tem se mostrado mais efetivo na suplementação de cereais do que a adição de lisina somente por suprir todos os aminoácidos limitantes dos cereais (8, 9). A adição de CPP, no entanto, pode provocar alterações no sabor, odor e textura dos alimentos, em função do método de obtenção e do nível em que é usado, o que muitas vezes dificulta sua aceitabilidade (8, 10).

Tendo em vista tais aspectos da utilização do CPP na suplementação alimentar, foi desenvolvido no presente trabalho um CPP sem sabor e odor de peixe a partir de traíra (*Hoplias malabaricus*) para ser adicionado em diferentes percentagens à farinha de trigo, na fabricação de macarrão. Visou-se com isso determinar o nível desejável de suplementação de CPP, tendo como base as características organolépticas (cor e sabor) e a qualidade protéica do produto.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do CPP

Foram utilizados peixes de água doce, traíras, disponíveis no mercado da cidade de Viçosa, Minas Gerais, para a produção do concentrado protéico. Os peixes foram eviscerados e subsequentemente aquecidos por 3 minutos em água acidificada (pH 5.5 - 6.0) para facilitar a desossa e ao mesmo tempo reduzir a perda de proteínas solúveis.

A extração de lipídeos e odores se deu através do aquecimento até fervura com etanol 95%. Após 6 extrações, o material foi secado em estufa a 40°C por 3 horas e, posteriormente, moído em moinho de navalha.

Caracterização do CPP

Foi determinada a composição físico-química do CPP como se segue: a) lipídeo: extração como éter de petróleo em aparelho Soxhlet por 8 horas; b) proteína: determinação do N total segundo o método Kjeldahl, descrito por AOAC (11), modificado pela adição de peróxido de hidrogênio 30% na fase de digestão. Usou-se o fator 6.25 no cálculo da transformação de N em proteína; c) umidade: aquecimento em estufa a 105°C por 16 horas; d) cinzas: aquecimento em mufla a 600°C por 3 horas; e) composição aminoacídica: os aminoácidos foram quantificados, após hidrólise ácida do CPP, por cromatografia de troca iônica, conforme o método de Spakman e Stanford (12), em analisador de aminoácidos Beckman, Modelo 121. O triptofano foi analisado colorimetricamente, segundo o método de Opiéńska-Bláuth, Chareziński e Bebec (13), após hidrólise enzimática do CPP com alcalase e tripsina, na proporção 1:1, a 37°C por 16 horas.

Avaliação Biológica da Qualidade Protéica

O ensaio biológico foi conduzido com objetivo de detectar possíveis incrementos na qualidade protéica do macarrão suplementado com diferentes níveis de CPP. Para tal, utilizaram-se 48 ratos albinos, raça Wistar, recém-desmamados, com 23 dias de idade. Os animais foram divididos em grupos de 6, de modo que a média dos pesos entre os grupos não excedesse a 5 g, conforme recomendação da AOAC (11), e foram distribuídos em gaiolas individuais, onde receberam água e alimento *ad libitum*.

Um grupo de animais recebeu dieta aprotéica e os demais dietas contendo caseína, CPP e macarrão com 0, 5, 10, 15 e 20% de CPP como fontes protéicas. A composição das dietas experimentais pode ser vista na Tabela 1. Os animais foram mantidos em suas respectivas dietas por 27 dias. Nesse período foram determinados digestibilidade, PER, NPR e NPU das dietas, assim como a percentagem de N retido na carcaça e os pesos de fígado, coração, rins e intestino dos animais.

A determinação da digestibilidade real foi possível devido ao emprego do grupo de animais em dieta aprotéica e os valores foram expressos em percentagem, conforme recomendação da "National Research Council" (14). O PER foi determinado através do método de Osborne, Mendel e Ferry, de acordo com a AOAC (11), relacionando o ganho de peso dos animais ao consumo de proteína. O NPR foi determinado no 14 dia do experimento, conforme método de Bender e Doell (15). Determinou-se o NPU no 27º dia do experimento, pelo método da carcaça, segundo Miller e Bendel (16). As vísceras e gordura aparente do abdomen dos animais foram retirados e as carcaças

TABELA 1

COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS (g/100 g DA MISTURA)

Ingredientes	Diets							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Caseína (75.0)	12.0	—	—	—	—	—	—	—
CPP (84.3)	—	10.67	—	—	—	—	—	—
Macarrão (10.4)	—	—	86.96	—	—	—	—	—
Macarrão + 5% de CPP (15.5)	—	—	—	58.10	—	—	—	—
Macarrão + 10% de CPP (18.8)	—	—	—	—	48.00	—	—	—
Macarrão + 15% de CPP (21.9)	—	—	—	—	—	41.17	—	—
Macarrão + 20% de CPP (24.8)	—	—	—	—	—	—	36.29	—
Mistura vitamínica	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mistura salina	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Oleo de soja	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Amido de milho	77.00	78.33	2.04	30.90	41.00	47.83	52.71	89.00
% Proteína	9.48	10.60	9.97	9.41	9.89	10.02	9.92	—

Os valores entre parêntesis representam as percentagens de proteína dos respectivos componentes das dietas.

foram secadas e desengorduradas para posterior determinação do teor de N retido na carcaça. Para as análises de N utilizou-se o método semi micro-Kjeldahl, com amostras em triplicata. Fígado, coração, rins e intestino dos animais foram isolados, lavados em solução salina 0.09%, congelados imediatamente e, posteriormente pesados. Os pesos de tais órgãos foram expressos em termos de g/100 g do peso corporal dos respectivos animais.

Avaliação Sensorial do Macarrão Suplementado com CPP

As amostras de macarrão contendo 0, 5, 10, 15 e 20% de CPP foram cozidas em água com óleo e sal e, posteriormente, submetidas a um painel de 21 provadores para serem avaliadas. As análises sensoriais foram efetuadas considerando-se separadamente cor e sabor das amostras, em duas repetições cada. Utilizou-se para isso uma escala hedônica de 9 pontos, onde cada conceito corresponde a uma nota: excelente = 9; muito bom = 8; bom = 7; mais que aceitável = 6; aceitável = 5; menos que aceitável = 4; desagradável = 3; ruim = 2 e péssimo = 1.

Análise Estatística

Os resultados obtidos nos testes biológico e sensorial foram submetidos a análise de variância, onde as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO*CPP*

Obteve-se um concentrado de cor clara, livre de odor e sabor de peixe, rico em proteína (84.3 g/100 g), lisina (484 mg/g N) e com baixos teores de lipídeo (0.4 g/100 g), umidade (8.6 g/100 g) e minerais (7.7 g/100 g). Essas características tornaram o CPP viável para a suplementação da farinha de trigo na produção de macarrão. O CPP mostrou-se deficiente nos aminoácidos valina (254 mg/g N) e metionina + cistina (198 mg/g N) quando comparado à proteína padrão FAO, 1973. Pelos dados apresentados na Tabela 2 supõe-se que as deficiências aminoacídicas da farinha de trigo possam ser suplantadas pela adição de CPP, exceto com relação ao aminoácido valina.

Avaliação Biológica da Qualidade Protéica

A suplementação elevou a qualidade protéica do macarrão, como pode ser visto pelos resultados obtidos através do PER, NPR, NPU e N retido na carcaça (Tabela 3). A adição de 5% de CPP melhorou significativamente a qualidade protéica do macarrão e os resultados obtidos com 10% de suplementação foram semelhantes aos da caseína.

TABELA 2**COMPOSIÇÃO AMINOACIDICA DO CPP, DA FARINHA DE TRIGO E DO PADRÃO, FAO, 1973**

Aminoácidos	Padrão FAO, 1973 mg/g N	CPP mg/g N	Farinha de trigo mg/g N
Isoleucina	250	261	238
Leucina	440	452	419
Lisina	340	484	144
Metionina + cistina	220	198	269
Fenilalanina + tirosina	380	419	469
Treonina	250	250	175
Triptofano	60	61	94
Valina	310	254	275

Fonte: Dados de padrão FAO, 1973, citado por Pellet e Young (17).
Dados de composição aminoacídica da farinha de trigo de Kent (18).

TABELA 3

COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS REFERENTES AO PER, NPR, DIGESTIBILIDADE, NPU E N RETIDO NA CARÇACA

Fonte protéica da dieta	PER	NPR	Digestibilidade (%)	NPU	N retido (g)
Caseína	2.5 (± 0.18) ^a	3.3 (± 0.57) ^{ab}	91.1 (± 1.05) ^{ab}	55.6 (± 1.98) ^{ab}	3.4 (± 0.31) ^b
CPP	2.6 (± 0.09) ^a	3.8 (± 0.21) ^a	91.4 (± 0.70) ^a	60.9 (± 2.65) ^a	4.3 (± 0.45) ^a
Macarrão	1.1 (± 0.12) ^f	0.3 (± 0.29) ^d	84.5 (± 1.95) ^d	22.3 (± 2.50) ^d	1.6 (± 0.09) ^d
Macarrão + 5% de CPP	2.0 (± 0.14) ^b	2.2 (± 0.23) ^c	86.2 (± 1.11) ^d	38.1 (± 5.63) ^c	2.4 (± 0.25) ^c
Macarrão + 10% de CPP	2.3 (± 0.26) ^{ab}	3.0 (± 0.23) ^b	86.4 (± 2.09) ^{cd}	49.7 (± 3.16) ^b	3.4 (± 0.41) ^b
Macarrão + 15% de CPP	2.6 (± 0.09) ^a	3.4 (± 0.07) ^{ab}	87.9 (± 0.87) ^{bc}	51.5 (± 2.91) ^b	3.9 (± 0.22) ^{ab}
Macarrão + 20% de CPP	2.4 (± 0.26) ^a	3.7 (± 0.42) ^a	87.8 (± 1.36) ^c	52.8 (± 2.46) ^b	3.7 (± 0.23) ^{ab}

As médias seguidas de uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade (P < 0.01).

Os valores entre parênteses representam os desvios-padrão.

A adição crescente de CPP para níveis acima de 10% não causou aumento subsequente na qualidade protéica do macarrão, em relação à caseína, como mostram os valores de PER, NPR, NPU e N retido.

Sidwell e Stillings (19) também não verificaram aumento substancial no ganho de peso e PER dos animais alimentados com dieta de biscoito tipo "cracker" suplementado com mais de 12% de CPP. Stillings, Sidwell e Hammerle (9) verificaram que a adição de 5, 10 e 15% de CPP à farinha de trigo produziu elevação no ganho de peso, PER, NPU e proteína total da carcaça e que altos níveis de CPP (20 e 25%) não produziram respostas adicionais. Quando a farinha de trigo suplementada com CPP foi utilizada na produção de pão, notou-se que os animais que consumiam dieta de pão com 10% de CPP ganharam peso tanto quanto os que receberam pão com maiores níveis de CPP. Esses autores verificaram também que o processamento reduziu a qualidade da proteína do pão suplementado com CPP, pois, comparando os mesmos níveis de CPP encontraram menor valor de PER para o pão do que para a farinha de trigo somente. No entanto, os valores de PER do macarrão com CPP obtidos no presente trabalho não foram inferiores aos encontrados por Stillings, Sidwell e Hammerle (9) para a farinha de trigo nos mesmos níveis de suplementação. Isso demonstra que, mesmo havendo perda de lisina durante a secagem do macarrão de até 22% a 45°C (20), o processamento parece não ter afetado a qualidade protéica do macarrão.

Quanto à digestibilidade, não houve melhora significativa do macarrão com adição de até 10% de CPP. O nível de 15% apresentou digestibilidade semelhante à caseína e ambos foram superiores ao macarrão sem suplementação. O baixo valor de NPU (55.6) verificado para a caseína quando comparado a dados publicados pela FAO, equivalente a 72.1 (21), pode ser devido à duração do experimento. Ou seja, no procedimento normal para determinação do NPU, pelo método da carcaça de Miller e Bender (16), o experimento tem duração de 10 dias e, segundo Campbell, citado por Mc Laughlan e Campbell (22), o NPU de proteínas de alta qualidade decresce com a duração de período de análise.

Embora o CPP tenha se mostrado deficiente em alguns aminoácidos essenciais pela análise aminoacídica, tais deficiências não foram evidenciadas no ensaio biológico, onde o CPP apresentou qualidade protéica similar à caseína, confirmando os resultados obtidos em diversos outros estudos (8, 9, 19, 23-30). Segundo Hegsted (31), a perda de proteína dos tecidos, quando existe deficiência de aminoácidos essenciais é menor do que poderia ser previsto pela análise química, porque o organismo é capaz de adaptar a algumas deficiências de aminoácido pela diminuição da sua taxa de catabolismo e o conservar para a reutilização.

Quanto aos pesos dos órgãos analisados, verificou-se (Tabela 4) que os animais alimentados com dieta de macarrão sem suplementação, apesar de menor peso no final do período experimental, apresentaram rins e coração relativamente maiores que os demais grupos. Esses resultados levam a crer que a qualidade protéica influi

TABELA 4

COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS REFERENTES AO PESO FINAL DOS ANIMAIS E DOS PESOS RELATIVOS DO FIGADO RINS, CORAÇÃO E INTESTINO DOS MESMOS

Fonte protéica da dieta	Peso final dos animais (g)	(g/100g de peso corporal)			
		Fígado	Rins	Coração	Intestino
Caseína	154.8 (± 17.8) ^{a,b}	4.94 (± 0.49) ^a	0.85 (± 0.04) ^{bc}	0.41 (± 0.03) ^b	3.60 (± 0.38) ^a
CPP	186.8 (± 21.3) ^a	4.57 (± 0.27) ^a	0.84 (± 0.04) ^{bc}	0.40 (± 0.03) ^b	3.13 (± 0.43) ^a
Macarrão	82.3 (± 5.9) ^c	4.79 (± 0.32) ^a	1.08 (± 0.04) ^a	0.52 (± 0.03) ^a	3.97 (± 0.61) ^a
Macarrão + 5% de CPP	128.8 (± 12.7) ^b	4.46 (± 0.98) ^a	0.94 (± 0.06) ^b	0.44 (± 0.02) ^b	3.67 (± 0.49) ^a
Macarrão + 10% de CPP	159.5 (± 23.2) ^{a,b}	4.35 (± 0.25) ^a	0.87 (± 0.05) ^b	0.41 (± 0.01) ^b	3.20 (± 0.23) ^a
Macarrão + 15% de CPP	189.8 (± 10.1) ^a	4.27 (± 0.59) ^a	0.76 (± 0.08) ^c	0.40 (± 0.03) ^b	3.02 (± 0.53) ^a
Macarrão + 20% de CPP	169.0 (± 19.7) ^a	4.49 (± 0.55) ^a	0.84 (± 0.04) ^{bc}	0.42 (± 0.05) ^b	3.02 (± 0.32) ^a

As médias seguidas de uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade (P < 0.01).

Os valores entre parênteses representam os desvios-padrão.

na composição corporal dos animais. Mackay *et al.*, citado por Cahill e Owen (32), encontraram uma relação linear entre a proteína da dieta e o tamanho renal em ratos e cães, evidenciando que a carga excretória desenvolvida pelos rins é um estímulo para o seu crescimento.

Avaliação Sensorial do Macarrão Suplementado com CPP

A cor do macarrão tornou-se visivelmente mais escura com a adição crescente de CPP. No entanto, esse escurecimento não foi considerado indesejável, em relação ao padrão, até o nível de 10% de suplementação (Tabela 5). Foi verificada diferença significativa na cor do macarrão com 15 e 20% de CPP quando comparada a do padrão. Quanto ao sabor, não houve diferença significativa entre o padrão e o macarrão suplementado com até 15% de CPP. A adição de 5% de CPP foi a mais aceita pelo painel de provadores, superior, inclusive, ao padrão. Somente o macarrão suplementado com 20% de CPP obteve média inferior ao nível de aceitação.

TABELA 5

COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS NOTAS DA AVALIAÇÃO SENSORIAL DO MACARRÃO SUPLEMENTADO COM CPP, QUANTO À COR E AO SABOR

Tratamento	Notas médias	
	Sabor	Cor
Macarrão	6.0 (± 1.64) ^a	6.9 (± 1.33) ^a
Macarrão + 5% de CPP	6.7 (± 1.23) ^a	7.0 (± 1.05) ^a
Macarrão + 10% de CPP	5.7 (± 1.29) ^a	6.1 (± 1.25) ^a
Macarrão + 15% de CPP	5.2 (± 1.70) ^a	5.2 (± 1.42) ^a
Macarrão + 20% de CPP	3.8 (± 1.43) ^a	3.9 (± 1.51) ^a

As médias seguidas de uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade ($P < 0.01$).

Os valores entre parênteses representam os desvios-padrão.

CONCLUSÃO

O CPP obtido a partir de traíras evisceradas e desossadas apresentou características desejáveis (cor clara e sem odor de peixe), assim como um alto teor de proteína e lisina. Os baixos conteúdos de lipídeo e umidade apresentados, aliados ao poder bactericida do etanol, usado como solvente extrator, conferem ao produto maior estabilidade que o peixe fresco, podendo ser armazenado à temperatura ambiente por um largo período de tempo sem se deteriorar.

A análise de composição aminoácídica do CPP mostra que se trata

de um produto promissor na suplementação de cereais em virtude do seu alto conteúdo em lisina. Suas deficiências em aminoácidos essenciais apontadas pela análise aminoacídica não foram evidenciadas no ensaio biológico, onde o CPP apresentou qualidade protéica similar a da caseína.

A qualidade protéica do macarrão foi elevada através da suplementação com CPP, o que pode ser evidenciada pelos valores obtidos de PER, NPR, NPU e N retido na carcaça. Embora tenha havido melhora significativa na qualidade protéica do macarrão com adição de 5% de CPP, esse nível de suplementação mostrou-se inferior ao padrão de caseína. A adição de 10% de CPP foi semelhante à caseína e, acima desse nível, não houve aumentos subsequentes na qualidade protéica do macarrão.

Foi evidenciado um escurecimento gradual no macarrão suplementado com níveis crescentes de CPP. Porém, quando analisado por um painel de provadores, não foi verificada diferença significativa entre o padrão e o nível de até 15% de suplementação quanto ao sabor e o de até 10% quanto à cor. Somente o nível de 20% foi considerado rejeitado. A adição de 5% foi a mais aceita.

Pelos resultados obtidos através das análises sensorial e nutricional, o nível de 10% de CPP foi apontado como o mais promissor na suplementação de macarrão.

AGRADECIMENTO

Agradezco ao meu marido, Eduardo, pelo apoio dado na realização deste trabalho.

SUMMARY

NUTRITIONAL AND SENSORY EVALUATION OF MACARONI SUPPLEMENTED WITH FISH PROTEIN CONCENTRATE

The present work consisted of the supplementation of macaroni with fish protein concentrate (FPC) at the levels of 5, 10, 15, and 20% in relation to wheat flour. The FPC was obtained from eviscerated and deboned trairas (*Hoplias malabaricus*), using boiling ethanol as a solvent at a pH range of 5.5 to 6.0. The FPC showed desirable aspects such as bright color, no off-flavor, high levels of protein (84.3 g/100 g) and lysine (484 mg/g N) and low levels of fat (0.4 g/100 g) and moisture (8.6 g/100 g).

The macaroni became slightly dark in color with increasing additions of FPC. Nevertheless, the 20% level was the only one not accepted by the testing panel, in terms of color and flavor.

Weanling Wistar rats were used in the biological assay to measure the macaroni protein quality at the different supplementation levels. Analyses of PER, NPR, NPU, digestibility and retained carcass N were carried out. The protein quality of the macaroni was improved by the addition of FPC. The level of 10% was similar to the casein and no subsequent improvement in the

protein quality was notified with higher levels of FPC.

Due to its high lysine content, the FPC is a promising supplement for cereals. From the nutritional and sensory aspects, the 10% level of FPC was the most satisfactory for macaroni supplementation.

BIBLIOGRAFIA

1. Jansen, G.R. The importance of protein quality in human nutrition. In: *Soy Protein and Human Nutrition*. New York, N.Y., Academic Press, 1979, p. 149-170.
2. Bender, A.C. Nutritional value of proteins and its assessment. In: *Food Proteins*. London, Applied Science Publishers, 1982, p. 121-131.
3. Singe, R.L.M. New source of food protein. *Proceedings of the Nutrition Society*, 28: 76-81, 1969.
4. Altschul, A.M. Food: proteins for humans. *Chemical and Engineering News*, 47: 68-81, 1969.
5. Nikkila, E.M., S.M. Constantinides & T.L. Mead. Supplementation of Arabic and Indian breads with fish protein concentrate. *J. Agric. Food Chem.*, 24: 1144-1147, 1976.
6. Sidwell, V.D., B.R. Stilling & G.M. Knobl Jr. The fish protein concentrate story. 10. V.S. Bureau of Commercial Fisheries FPC's. Nutritional quality and use in foods. *Food Technol.*, 24: 876-883, 1970.
7. Tamburini, A.M.M., S.M. Zucas & F.M. Lajolo. Valor biológico da proteína da farinha de trigo suplementada com concentrados protéicos de pescado (CPP) e DL-*lisina*. *Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo*, 15: 81-91, 1977.
8. Kvikta, E.F. & T.S. Chen. Fish protein concentrate as a protein supplement in four baked products. *Home Economics Research Journal*, 11: 159-165, 1982.
9. Stillings, B.R., V.D. Sidwell & O.A. Hammerle. Nutritive quality of wheat flour and bread supplemented with either fish protein concentrate or lysine. *Cereal Chemistry*, 48: 292-302, 1971.
10. Bass, J.L. & J.F. Caul. Laboratory evaluation of three protein sources for use in chapati flours. *J. Food Sci.*, 37: 100-102, 1972.
11. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 12th ed. Washington, D.C., The Association, 1975.
12. Spakman, D.H. & M. Stanford. Automatic recordings apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, 307: 1190-1206, 1958.
13. Opienska-Bláuth, J., M. Chareziński & H.A. Bebec. A new rapid method of determining tryptophan. *Anal. Biochem.*, 6: 69-76, 1963.
14. NAS-NCR. National Academy of Science-National Research Council. *Evaluation of Protein Quality*. Washington, D.C., Food and Nutrition Board, 1963.
15. Bender, A.E. & B.B. Doell. Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. *Brit. J. Nutr.*, 11: 138-143, 1957.
16. Miller, D.S. & A.F. Bender. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. *Brit. J. Nutr.*, 9: 382-388, 1955.
17. *Nutritional Evaluation of Protein Foods*. Peter L. Pellet and Vernon R. Young (Eds.). Tokyo, The United Nations University, 1980, 154 p. *Food and Nutrition Bulletin Supplement 4* (United Nations University, World Hunger Programme). (WHTR-3/UNUP-129).
18. Kent, N.L. *Technology of Cereals*. 2d ed. New York, N.Y., Pergamon Press, 1975.
19. Sidwell, V.D. & B.R. Stillings. Crackers fortified with fish protein concentrate (FPC). *J. Amer. Diet. Assoc.*, 61: 276-280, 1972.

20. Dexter, J.E., R. Tkachuk & R.R. Matsuo. Amino acid composition of spaghetti: Effect of drying conditions on total and available lysine. *J. Food Sci.*, **49**: 225-228, 1984.
21. Food and Agriculture Organization. **Amino Acid Content of Foods and Biological Data on Protein**. Rome, 1970, 285 p. (FAO Nutritional Studies 24).
22. McLaughlan, J.M. & J.A. Campbell. Methodology of protein evaluation. In: **Mammalian Protein Metabolism**. New York, N.Y., Academic Press, 1969, p. 391-423.
23. Cobb III, B.F. & K. Hyder. Development of a process for preparing a fish protein concentrate with rehydration and emulsifying capacities. *J. Food Sci.*, **37**: 743-750, 1972.
24. Crisan, E.V. The fish protein concentrate story. 11. A demonstration program in Brazil. *Food Technol.*, **24**: 1132-1138, 1970.
25. Dubrow, D.L. & B.R. Stillings. Effect of heat on the chemical and nutritive stability of fish protein concentrate (FPC). *J. Food Sci.*, **35**: 677-680, 1970.
26. Hevia, P., F. Acevedo & S. Kaiser. Isobutanol as solvent for FPC production. *J. Food Sci.*, **36**: 708-709, 1971.
27. Kwee, W.H., V.D. Sidwell, R.C. Wiley & O.A. Hammerle. Quality and nutritive value of pasta made from rice, corn, soya, and tapioca enriched with fish protein concentrate. *Cereal Chemistry*, **46**: 78-84, 1969.
28. Munro, I.C., A.B. Morrison & M. Myer. Fish protein concentrate as a supplement to cereal diets. *J. Amer. Diet. Assoc.*, **54**: 398-400, 1969.
29. Sen, D.P., T.S. Sayanarayana Rao, S.B. Kadkol, M.A. Krishnaswamy, S. Venkatga Rao & N.L. Lahiry. Fish protein concentrate from Bombay-Duck (*Harpodon nehereus*) fish: Effect of processing variables on the nutritional and organoleptic qualities. *Food Technol.*, **23**: 683-688, 1969.
30. Woo, H.C. & A.M. Erdman. Fish protein concentrate enrichment of noodles. *J. Home Econom.*, **63**: 263-265, 1971.
31. Hegsted, D.M. Assessment of protein quality. In: **NAS-NRC - National Academy of Science - National Research Council. Improvement of Protein Nutrition**. Washington, D.C., Food and Nutrition Board, 1974, Chapter 4, p. 64-88.
32. Cahill Jr., G.F. & O.E. Owen. The role of the kidney in the regulation of protein metabolism. In: **Mammalian Protein Metabolism**. New York, N.Y., Academic Press, 1970, p. 559-585.

CHEMICAL COMPOSITION OF A MIXTURE OF SINGLE-CELL PROTEIN OBTAINED FROM *Kluyveromyces fragilis* AND WHEY PROTEINS

*Amanda Gálvez¹, María de Jesús Ramírez² and
Mariano García-Garibay³*

Universidad Nacional Autónoma de México
México D.F., México

SUMMARY

A mixture of *Kluyveromyces fragilis* biomass and coagulated whey proteins was obtained by fermentation of whole whey. This product had a chemical composition similar to that of washed products reported in the literature with high-crude protein and low-ash contents. The product had a high content of sulphur-containing amino acids and tryptophan, which are usually limiting in yeast biomass. Lysine content was inexplicably lower than the expected value, being the limiting amino acid in this case. The chemical score of the protein was 91%. From the biomass-whey proteins product a protein isolate could be recovered with a yield of 80%. The protein content of the isolate was 75%, and the nucleic acids were reduced by 90.8%. The cell-wall debris were also considerably reduced.

INTRODUCTION

Whey and whey permeate have been used as substrate for the production of single-cell protein (SCP) from several microorganisms, the most important being *kluyveromyces fragilis*. Commercial processes have been developed in several countries (1, 2). The earlier research works were performed utilizing whole whey (3-7), but since whey protein concentrates (WPC) have gained commercial

Manuscrito modificado recibido 7-11-88.

- 1 Profesora, Departamento de Alimentos, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México D.F. 04510, México.
- 2 Estudiante del Departamento de Alimentos, Facultad de Química de la misma Universidad.
- 3 Contacting author: Profesor García Garibay. Current address: Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. Michoacán y Calzada La Purísima, Iztapalapa, Apdo. Postal 55-535, México D.F. 09340, México.

importance, *K. fragilis* biomass production has been developed mainly with ultrafiltrate permeate in order to increase the economic attractiveness of the process (8). SCP production from whey permeate has demonstrated to be economically feasible only in large-scale plants which can afford capital investments for WPC and biomass production, due to the low protein content in whey, and the low value of SCP (6-11)

Recently, the utilization of whole whey for the production of SCP has been proposed as an alternative for whey disposal of small cheese factories (10, 11). Additionally, in order to increase the economic attractiveness of the process of whole whey, the simultaneous production of valuable by-products such as pectinase (12, 13) and alcohol (14) have been reported.

SCP from *K. fragilis* has been used as feed and it is also accepted as human food (1, 15). Nevertheless, the nucleic acids have to be removed for human consumption; otherwise, the ingestion of significant amounts could lead to the accumulation of uric acid, producing gout and kidney stones (16). Cell wall also has to be removed due to its low digestibility and toxicological problems (17). *K. fragilis* protein is deficient in sulphur-containing amino acids and tryptophan (18-20). Due to the fact that whey proteins are rich in this kind of amino acids, the mixture of these proteins should increase the nutritional value of SCP.

The recovery of a protein concentrate from the fermentation of whole whey with *K. fragilis*, free of nucleic acids and cell wall, is dealt with in the present paper.

MATERIAL AND METHODS

Microorganism

Kluyveromyces fragilis NRRL-Y-1109 was used and it was maintained on potato-dextrose agar at 4°C.

Culture Medium

This was prepared from spray-dried whey suspended in distilled and deionized water (65g/l) together with the following supplementary nutrients: (NH) SO 5 g/l, K HPO 5 g/l, and yeast extract 1 g/l. The pH of the medium was adjusted to 5.0 with H SO. Medium was autoclaved for 15 min at 121°C.

Culture Conditions

A bench-scale fermenter (New Brunswick Micro Ferm) with 14 lt jar was used. Culture conditions were: volume of medium 11 lt, 30°C, air flow 1 vvm and agitation speed 400 rpm; 0.1 ml of sterile silicon antifoam were added. Fermentations were carried out during 18 hr.

Biomass Recovery

A mixture of biomass and coagulated whey proteins was recovered after fermentation by centrifugation of culture medium (3,200 g, 20 min, 4°C).

Amino Acid Analysis

After acid hydrolysis (5N HCl, 100°C, 16 hr) was performed in a Beckman analyzer Model 116 with anionic exchange column. Tryptophan was then analyzed according to Hernández and Bates (21).

Chemical Analyses

All of them —moisture by drying on vacuum oven, ash, crude protein by the Kjeldhal technique and fat content by the Golfish technique— were performed according to the AOAC (22). Carbohydrates were calculated by difference.

Cellular Disruption

Protein recovery was performed according to Vananuvat and Kinsella (23) using NaOH (0.4 g/100ml), 1 hr of extraction and precipitating with acid (pH 4.2, 60°C). In every case 0.5 g of biomass-whey proteins were treated; the suspension was taken up to a final volume of 50 ml, and protein was determined in the whole suspension. This suspension was centrifuged (5,000 g, 15 min) and protein was determined in the supernatant. In both cases, protein determination was done by the Kjeldhal method (22).

Nucleic Acids Determination

This was performed according to the Schmidt and Thannhauser procedure (24).

RESULTS

The chemical composition of the mixture of *K. fragilis* biomass and coagulated whey proteins as it was recovered from the culture medium and the composition of the proteins isolate are reported in Table 1. Results are given as g/100g of dry product; those informed by other authors are also included for comparison purposes. Table 1 also shows the nucleic acids content and nucleic acids to protein ratio before and after protein extraction.

According to protein determinations done before and after centrifugation of the protein suspension treated with NaOH, the yield of the alkaline extraction to obtain the proteins isolate was 80% of crude protein.

The total amino acids content of the biomass-whey proteins is

TABLE 1

**CHEMICAL COMPOSITION OF BIOMASS-WHEY PROTEINS
AS RECOVERED FROM THE CULTURE MEDIUM,
AND AFTER PROTEIN ISOLATION**

(Data from *K. fragilis* biomass reported by other authors are also shown. Data are given as g/100 g of dry product)

	Biomass/ whey protein	Proteins isolated	a	c	f	g
Protein (N x 6.25)	50.8	75	52.3	58.9	—	—
Fat	3.9	19	8.9	10.6	—	—
Ash	5.5	5	8.0	5.9	—	—
Carbohydrates*	39.8	1	30.8	24.6	—	—
Nucleic acids	8.7	0.8	5.7	—	8.6	5.7
Nucleic acids/ crude protein	0.17	0.01	0.11	—	0.15	0.07

* Calculated by difference.

a Biomass produced on whey permeate (19).

c Washed biomass with coagulated whey proteins (7).

f Biomass produced on whey permeate in batch culture (26).

g Protein isolated from biomass grown on whey permeate (23).

shown in Table 2. Other reports found in the literature are also displayed. From these data, essential amino acids scores were calculated, and results are displayed on Table 3. The score of other proteins is also shown. In every case the reference protein was the FAO/WHO 1973 pattern (25). Due to the fact that Vananuvat and Kinsella (23) reported a loss in tryptophan using the same technique for protein isolation used here, the content of this amino acid was analyzed in the protein isolate obtained; the result was 1.53 g per 100 g of protein. The score for this amino acid in this case was 153.

DISCUSSION

The chemical composition of the biomass-whey proteins product obtained is analogous to other similar products obtained by other authors (Table 1). Crude protein is around 50% of the composition. Fat content was lower in this work than data shown on Table 1 for other authors; however, other investigators notified fat contents between 1 to 3% for *K. fragilis* biomass and biomass with whey products (14, 29). The product recovered from the culture medium reported herein was similarly obtained to that reported by Amundson (7); both of them are a mixture of *K. fragilis* biomass and coagulated whey proteins. Amund-

TABLE 2

**AMINO ACIDS COMPOSITION OF THE MIXTURE OF BIOMASS AND
WHEY PROTEINS RECOVERED FROM CULTURE MEDIUM**

(Data from other authors are also reported, and units are expressed
as g/100 g protein)

	Biomass/ whey protein	a	b	c	d	e	f	g
Isoleucine	5.5	4.8	6.0	6.1	5.1	6.0	4.3	3.8
Leucine	10.6	8.1	9.6	11.0	—	9.6	7.2	8.5
Lysine	5.0	8.0	11.1	10.4	11.1	10.2	8.5	8.3
Methionine	2.3	1.5	1.6	2.0	1.6	1.2	1.5	1.4
Phenylalanine	4.6	4.2	5.1	4.4	5.1	5.4	3.6	3.6
Threonine	4.3	5.3	6.5	7.5	5.6	6.5	4.1	4.5
Tryptophan	2.2	1.7	—	2.3	—	—	0.9	0.4
Valine	6.7	5.6	7.8	7.4	5.7	7.8	5.6	5.1
Histidine	1.6	2.0	4.0	3.0	4.0	2.0	4.0	0.7
Cysteine	6.3	1.7	—	3.8	—	—	1.9	1.2
Tyrosine	4.0	3.9	3.4	4.1	4.6	3.4	4.5	—
Aspartic acid	11.2	9.4	—	—	10.4	11.2	9.6	11.5
Serine	4.1	4.7	7.0	6.8	5.2	7.0	4.7	5.8
Glutamic acid	15.4	13.8	—	—	15.2	13.3	16.5	11.6
Proline	4.5	4.2	—	—	—	—	3.7	3.7
Glycine	4.4	3.7	—	—	4.2	4.6	5.0	4.6
Alanine	6.6	5.8	—	—	7.2	8.2	6.4	6.3
Arginine	3.0	4.9	7.4	5.7	7.4	7.1	5.6	4.3

a *K. fragilis* NRRL-Y-1109 grown on whey permeate (19).

b *K. fragilis* biomass only (7).

c Biomass with coagulated whey proteins (7).

d *K. fragilis* NRRL-Y-1109 grown on whole whey (27).

e Protein isolated from *K. fragilis* NRRL-Y-1109 biomass (27).

f Biomass grown on whey permeate (18).

g Protein isolated from biomass grown on whey permeate (18).

TABLE 3

**ESSENTIAL AMINO ACIDS SCORE OF BIOMASS-WHEY PROTEINS
OBTAINED FROM THE CULTURE MEDIUM**

(Data from other sources are also shown. The score was calculated with respect to the FAO/WHO 1973 pattern (25), according to the following equation: (g AA/g AA in pattern) x 100)

	Biomass/ whey protein	a	b	c	d	f	g	Whey protein h
Isoleucine	138	120	150	153	128	108	95	190
Leucine	151	116	137	157	—	103	121	169
Lysine	91	145	202	189	202	155	151	205
Met + Cys	246	91	—	166	—	97	74	149
Phe + Tyr	143	135	142	142	162	135	—	117
Threonine	108	133	163	188	140	103	113	210
Tryptophan	220	170	—	230	—	90	40	240
Valine	134	112	156	148	114	112	102	144
Total	143	124	—	164	—	117	—	169

- a *K. fragilis* NRRL-Y-1109 grown on whey permeate (19).
 b Biomass only (7).
 c Biomass with coagulated whey proteins (7).
 d *K. fragilis* NRRL-Y-1109 grown on whole whey (27).
 f Biomass grown on whey permeate (18).
 g Protein isolated from biomass grown on whey permeate (18).
 h After Hambraeus (28).

son informed a great difference in composition between washed and unwashed products; for instance, ash content decreased 69% and protein increased 110% after washing his yeast-whey product. Amundson's data —shown in Table 1— correspond to the washed product; in spite of the fact that biomass/whey proteins product obtained in this work was not washed, its chemical composition is closer to the washed product reported by Amundson than to the unwashed one. Similar conclusions are obtained when comparing this product with the washed and unwashed products (Amber Nutrex and Amber YFS, respectively) cited by Bernstein, Tzeng and Sisson (14); the former had a crude protein content of 45-55% and an ash content of 6-10% (with a 3-4% of moisture), while the unwashed product had 35-50% of crude protein and 12-20% of ash (with 3-4% moisture). Therefore, it is not necessary to wash the product obtained here in order to eliminate undesirable compounds; the ash content was low and the other compounds were found in similar concentrations to washed products reported by other authors.

The composition of the proteins isolated from the biomass-whey proteins product showed a considerable increase in crude protein. Carbohydrates were practically eliminated by the process, and as the cell wall of the yeast is composed in a high proportion of these compounds (30), it can be assumed that the cell wall was efficiently removed. Considering that the cell wall contains aminosugars (30) and the nucleic acids content in biomass is quite high, the proportion of non-protein nitrogen accounting for the crude protein value should be high. Once the cell-wall debris and nucleic acids are removed, the protein value in the isolate should be closer to a true protein value. Data obtained from nucleic acids content in the present work are similar to those informed by other authors. Additionally to data shown on Table 1, Vananuvat and Kinsella (31) reported a 10% content of nucleic acids in biomass grown on whey permeate in continuous culture, while Castillo and de Sánchez (32) notified 9.3% for biomass grown on deproteinized whey in batch culture. The relative content of fat increased significantly in the isolate, an increase that should be due to a relative decrease in the other constituents, including protein, during the process.

In spite of the fact that the technique for protein extraction with nucleic acids reduction used here was the same as that reported by Vananuvat and Kinsella (see Table 1), it can be seen that it was more efficient in this case; the treatment reduced nucleic acids by 90.8% in the present paper, while their data show 33.7% only. The reason for this difference is unknown. In their case, the yield for protein recovery was equal to the one reported herein (23).

In regard to the amino acids content (Table 2), the general composition of the biomass-whey proteins was very similar to other analogous compounds informed in the literature. Table 2 depicts data reported for other authors for the same strain used by us, grown on whey permeate (a) and whole whey (d). Data from *K. fragilis* biomass only and biomass-coagulated whey proteins mixture reported by Amundson for an unspecified strain are also included (b and c). Comparisons between biomass of an unspecified strain and its protein isolate obtained with the same technique used here (f and g), and with a different technique of isolation in the same strain used in this work (d and e) are also given in Table 2.

Lysine content of the product obtained is quite lower than any other reported; comparing data from biomass only with biomass-whey proteins reported by Amundson (b and c), it can be seen that lysine content diminished, although the decrease was not very high; therefore, that cannot be the explanation for such a low lysine content. A possible particularity of the strain is also unlikely due to the fact that data reported for the same one (a, d and e) do not show a low lysine content. At present this unusual low content of the amino acid is inexplicable.

Methionine content is low in *K. fragilis* biomass (19, 20); the content of this amino acid in the product obtained in our case is higher than that reported by other authors (Table 2). This result is probably due to the methionine content in whey proteins, a fact that can be

concluded from Amundson's data (b and c). Similar conclusions can be obtained in regard to tryptophan and cysteine.

According to data given by Vananuvat and Kinsella (f and g in Table 2), the technique used here for protein isolation did not affect significantly the amino acid content (except hystidine). However, tryptophan—which is usually found in low concentration in these proteins—was reduced by the process; data obtained in our study showed that tryptophan content in the protein isolated from the biomass-whey proteins product diminished only 34%. The technique used for protein isolation by Wasserman based on TCA and ethanol extractions and precipitations (d and e) showed more significant changes in some amino acids content.

Comparing in Table 2 similar products from different strains (for instance a, b and f) and the same strain but grown and obtained in different conditions (the product obtained here, a and d), it seems that all these factors are critical to the amino acid composition, in spite of the fact that Vananuvat and Kinsella did not find significant differences in amino acids composition of a *K. fragilis* strain grown under different conditions (18).

Data in Table 3 show that lysine is the limiting amino acid in the biomass-whey proteins product obtained in this work, being the only one with a score lower than 100%. Nevertheless, according to this, the chemical score of the protein was 91% with respect to the 1973 FAO/WHO pattern. The highest total essential amino acids score in Table 3 is for whey proteins. The amino acids profile of *K. fragilis* biomass protein was improved when it was mixed with whey proteins, as can be seen in the data notified by Amundson (c). The product obtained here showed higher total essential amino acids score than products containing biomass only (a and f). Even the amino acids score of *K. fragilis* NRRL-Y-1109 without whey proteins is very high, as can be observed in a. The chemical score in this case was 91%. Delaney, Kennedy and Walley (19) reported a lower chemical score (58%) for this strain due to the fact that they used the older FAO/WHO pattern, based on whole egg, which has a higher essential amino acids content. In both cases, the limiting amino acids were the sulphur-containing ones. In every case where the protein came from biomass only (a, f, g), the score for these amino acids was lower than 100%, while biomass-whey proteins products showed higher values.

The tryptophan score for the proteins isolated in the present work was reduced 30% with respect to the biomass-whey proteins obtained from the culture medium. Data from Vananuvat and Kinsella (f and g) indicate a 56% reduction. In these authors' data, tryptophan is the limiting amino acid giving to the biomass protein a chemical score of 90% and to the protein isolate only 40%; therefore, such reduction is most critical in that case but is not in the product obtained in the present work.

CONCLUSIONS

The technique reported by Vananuvat and Kinsella for yeast protein isolation was successfully applied in the recovery of the protein from a mixture of biomass and coagulated whey proteins with a yield similar to that informed by them, but with a lower nucleic acids content. From the nutritional point of view, a mixture of biomass and whey proteins is more convenient than the biomass only, as can be seen from this product and others cited in the literature. Therefore, a mixture of proteins from whey and SCP with a good amino acids profile practically free from nucleic acids and cell wall debris, is suitable for human consumption, and can be obtained from the fermentation of whole whey.

RESUMEN

COMPOSICION QUIMICA DE UNA MEZCLA DE PROTEINA UNICELULAR OBTENIDA DE *Kluyveromyces fragilis* Y PROTEINAS DE SUERO DE LECHE

De la fermentación de suero de leche entera se obtuvo un producto consistente en una mezcla de biomasa de *Kluyveromyces fragilis* y proteínas coaguladas del suero. El producto tuvo una composición similar a la de productos lavados de que se informa en la literatura, con un alto contenido de proteína cruda y un bajo contenido de cenizas. Asimismo, acusó también un alto contenido de aminoácidos azufrados y de triptofano, los que usualmente son limitantes en la biomasa de levadura. El contenido de lisina fue inexplicablemente más bajo de lo esperado resultando ser el aminoácido limitante. La calificación química de la proteína fue 91%. Del producto de biomasa con proteínas de suero se obtuvo un concentrado proteínico con un rendimiento de 80%. El contenido de proteína del aislado fue de 75% y el contenido de ácidos nucleicos se redujo en 90.8%. Los restos de pared celular también se redujeron considerablemente.

BIBLIOGRAPHY

1. Meyrath, J. & K. Bayer. Biomass from whey. In: *Microbial Biomass. Economic Microbiology*. Vol. 4. A.H. Rose (Ed.). London, Academic Press, 1979, p. 207-269.
2. Litchfield, J.H. Microbial and enzymatic treatments for utilizing agricultural and food processing wastes. *Food Biotechnol.*, 1: 29-57, 1987.
3. Wasserman, A.E., J. Hopkins & N. Forges. Whey utilization. Growth conditions for *Saccharomyces fragilis*. *Sewage Ind. Wastes*, 30: 913-920, 1958.
4. Wasserman, A.E. Whey utilization. IV. Availability of whey nitrogen for the growth of *Saccharomyces fragilis*. *J. Dairy Sci.*, 43: 1231-1234, 1960.
5. Wasserman, A.E., J. Hampson, N.F. Alvare & N.J. Alvare. Whey utilization. V. Growth of *Saccharomyces fragilis* in whey in a pilot plant. *J. Dairy Sci.*, 44: 387-392, 1961.
6. Wasserman, A.E., J.W. Hampson & N.F. Alvare. Large-scale production of yeast in whey. *J. Water Poll. Control Fed.*, 33: 1090-1094, 1961.

7. Amundson, C.H. Increasing protein content of whey. *Am. Dairy Rev.*, 29(7): 33-34, 96-99, 1967.
8. Zadow, J.G. Utilization of milk components: whey. In: *Modern Dairy Technology*. Vol. 1. R.K. Robinson (Ed.). London, Elsevier Appl. Sci. Pub., 1986, p. 273.
9. Maiorella, B.L. & F.J. Castillo. Ethanol, biomass, and enzyme production from whey waste abatement. *Process Biochem.*, 19: 157-161, 1984.
10. Michel, A., F. Jacob, J. Perrier & S. Poncet. Yeast production from crude sweet whey. *Biotechnol Bioeng.*, 30: 780-783, 1987.
11. Willets, A. & U. Ugalde. The production of single-cell protein from whey. *Biotechnol. Lett.*, 9: 795-800, 1987.
12. García-Garibay M., L. Gómez-Ruiz & E. Bárzana. Studies on the simultaneous production of single cell protein and polygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*. *Biotechnol. Lett.*, 9: 411-416, 1987.
13. García-Garibay, M., L. Gómez-Ruiz & A. Bárzana. Simultaneous production of single cell protein and pectinase from whey. In: *Proceedings of the 1987 Food Processing Waste Conference*, Atlanta, Georgia Tech. Research Institute, 1987.
14. Bernstein, S., Ch. Tzeng & D. Sisson. The commercial fermentation of cheese whey for the production of protein and/or alcohol. *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 7: 1-9, 1977.
15. Reed, G. Microbial biomass, single cell protein, and other microbial products. In: *Presscott & Dunn's Industrial Microbiology*. 4th. ed. G. Reed (Ed.). Westport, Connecticut, The Avi Publishing Co., 1982, p. 541.
16. Litchfield, J.H. Single-cell proteins. *Science*, 219: 740-746, 1983.
17. Huang, Y.T. & J.E. Kinsella. Structure of yeast nucleoproteins: Methods for disruption and recovery of proteins for food applications. *Food Biotechnol.*, 1: 59-106, 1987.
18. Vananuvat, P. & J.E. Kinsella. Amino acid composition of protein isolates from *Saccharomyces fragilis*. *J. Agric. Food Chem.*, 23: 595-597, 1975.
19. Delaney, R.A.M., R. Kennedy & B.D. Walley. Composition of *Saccharomyces fragilis* biomass grown on lactose permeate. *J. Sci. Food Agric.*, 25: 1177-1186, 1975.
20. Feldheim, W., I. Elmadafa, C. Mueller, G. Bauer-Staeb & M. Gaschen. Evaluation of the protein efficiency ratio (PER) of the processed yeast *Saccharomyces fragilis*. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 8: 282-285, 1976. (In: *Chem. Abst.*, 84: 104202t, 1976).
21. Hernández, H. & L.S. Bates. Modified method for rapid tryptophan analysis of maize. *Research Bull. No. 13, CIMMYT, Mexico*, 1969.
22. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 12th ed. Washington, D.C., The Association, 1975.
23. Vananuvat, P. & J.E. Kinsella. Extraction of protein, low in nucleic acid, from *Saccharomyces fragilis* grown continuously on crude lactose. *J. Agric. Food Chem.*, 23: 216-221, 1975.
24. Schmidt, G. & S.J. Thannhauser. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 161: 83-89, 1945.
25. Harper, A.E. Human amino acid and nitrogen requirements as the basis for evaluation of nutritional quality of proteins. In: *Food Proteins*. J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (Eds.). Westport, Connecticut, The Avi Publishing Co., 1977, p. 380.
26. Vananuvat, P. & J.E. Kinsella. Production of yeast protein from crude lactose by *Saccharomyces fragilis*. Batch culture studies. *J. Food Sci.*, 40: 336-341, 1975.
27. Wasserman, A.E. Amino acid and vitamin composition of *Saccharomyces fragilis* grown in whey. *J. Dairy Sci.*, 44: 379-386, 1961.
28. Hambraeus, L. Importance of milk proteins in human nutrition. Physiological aspects. In: *Milk Proteins 84. Proceedings of the International Congress on Milk*

- Protein, Luxemburg.** T.E. Galesloot and B.J. Tinbergen (Eds.). Wageningen, Pudoc 1985, p. 63.
29. Marth, E.H. Fermentation products from whey. In: **By-Products from Milk.** B.H. Webb and E.O. Whittier (Eds.). Westport, Connecticut, The Avi Publishing Co., 1970, p. 52.
 30. Phaff, H.J., M.W. Miller & E.M. Mrak. **The Life of Yeasts.** 2nd ed. Cambridge, MA., Harvard University Press, 1978, p. 40-42.
 31. Vananuvat, P. & J.E. Kinsella. Production of yeast protein from crude lactose by *Saccharomyces fragilis*. Continuous culture studies. **J. Food Sci.**, 40: 823-825, 1975.
 32. Castillo, F.J. & S.B. de Sánchez. Studies on the growth of *Kluyveromyces fragilis* in whey for the production of yeast protein. **Acta Cient. Venez.**, 29: 113-118, 1978.

**EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS CASEROS
EN LA PREPARACION DE FRIJOL PINTO
(*Phaseolus vulgaris L.*) SOBRE EL CONTENIDO DE
TANINOS Y VALOR NUTRITIVO DE LAS PROTEINAS**

*Francisco Goycoolea¹, Elvira González de Mejía²,
Jesús M. Barrón³ y Mauro E. Valencia⁴*

**Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
(CIAD, A.C.)
Hermosillo, Sonora, México**

RESUMEN

Se utilizó un diseño factorial 3² para determinar el efecto del remojo previo, del tipo de cocción y del caldo de cocimiento sobre el valor nutritivo de la proteína del frijol pinto (*Phaseolus vulgaris L.*). Se realizó la evaluación biológica de proteínas mediante la determinación del índice de eficiencia proteínica (PER) y de la digestibilidad aparente de proteína (DAP). Se cuantificó también el contenido de taninos en cotiledones, cáscaras y caldos de remojo y cocción para cada tratamiento. El efecto de mayor significancia sobre el valor de PER fue el tipo de cocción ($P < 0.0001$), seguido de la adición de caldo ($P < 0.05$) y la interacción entre método de cocción y adición de caldo ($P < 0.025$). El remojo no fue significativo por sí mismo ni a través de sus interacciones en relación al PER. Los valores más altos de PER y DAP fueron para los tratamientos en olla abierta y sin caldo. El efecto negativo del caldo se pudo explicar con base en el contenido de taninos residuales que se depositan en él durante la cocción (108.5 - 272.25 mg eq. catequina/100 g).

Manuscrito modificado recibido 18—10—89.

- 1 Técnico Académico, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CIAD, A.C.
- 2 Investigador Titular, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CIAD, A.C.
- 3 Investigador Titular, Centro Coordinador de la Investigación, Universidad de Sonora.
- 4 Investigador Titular y Director de la División de Nutrición y Alimentos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.), Apartado Postal 1735, Hermosillo, Sonora, México.

INTRODUCCION

Se ha visto que el consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en la región del noroeste mexicano, representa una importante fuente de energía y proteína en la dieta de diversas comunidades rurales y urbanas. Valencia, Jardines y Noriega (1) establecieron la canasta de consumo de alimentos para zonas rurales en el Estado de Sonora, y el frijol pinto quedó situado en el segundo lugar en importancia de los alimentos que forman la canasta de consumo de esta región. Dicha situación se presenta también en gran parte de las poblaciones de Latinoamérica, tal como lo han demostrado Bressani y Elías (2), en Centroamérica.

Aun cuando las leguminosas son una buena fuente de proteína de origen vegetal, esta proteína es casi siempre de calidad limitada. Su perfil de aminoácidos, la baja biodisponibilidad de dichos aminoácidos y la presencia de factores antinutricionales están identificadas como las principales causas asociadas a la calidad nutricional deficiente de dicha proteína (3).

Dentro de los antinutrientes presentes en las leguminosas que han recibido mayor interés, han sido las lectinas, los inhibidores de tripsina, y en el caso de frijol común, también los taninos o polifenoles (4-7).

En la actualidad se sabe que el proceso de cocción inactiva la mayor parte de estos compuestos y, de hecho, la DAP y el PER aumentan significativamente después del cocinado (8). No obstante, el grupo de los polifenoles presenta cierta actividad que permanece después del tratamiento térmico.

Los taninos se localizan principalmente en la cáscara de la semilla, y únicamente en aquellas variedades de frijol coloreadas (9). Además, se sabe que se ligan a las proteínas en forma selectiva (10), formando complejos hidrofóbicos insolubles e indigestibles por el organismo humano (11-15). Tanto el remojo previo del frijol en agua, como la cocción juegan un papel importante como posibles alternativas de eliminación por parte de los taninos que se incluyen en la dieta, ya que durante el proceso, una buena cantidad de estos compuestos pasan a los caldos de remojo y de cocción respectivos; sin embargo, aún se requiere mayor información al respecto (7, 14).

El objetivo del presente estudio, fue definir la posible relación entre los diversos métodos de preparación del frijol y el valor nutritivo de la proteína, así como la importancia de la presencia de taninos en la dieta asociada, a dicha relación.

MATERIAL Y METODOS

Obtención de la Muestra

Se obtuvo una muestra de 60 kg de frijol pinto (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad UI-114 de un campo comercial del distrito de riego "Costa de Hermosillo", correspondiente al ciclo primavera-verano, 1986. El

frijol se limpió en un limpiador mecánico Brabender (Mod. Labofix). Durante el estudio se almacenó en bolsas de polietileno a 5°C, y a una humedad relativa menor de 80%.

Preparación de la Muestra

Para establecer los métodos de preparación casera del frijol, se recurrió a los datos obtenidos previamente en una encuesta (16) aplicada a amas de casa de diferentes estratos socioeconómicos de la ciudad de Hermosillo, Sonora. De acuerdo a esos resultados, se planteó el proceso de preparación del frijol. En la Figura 1 se esque-

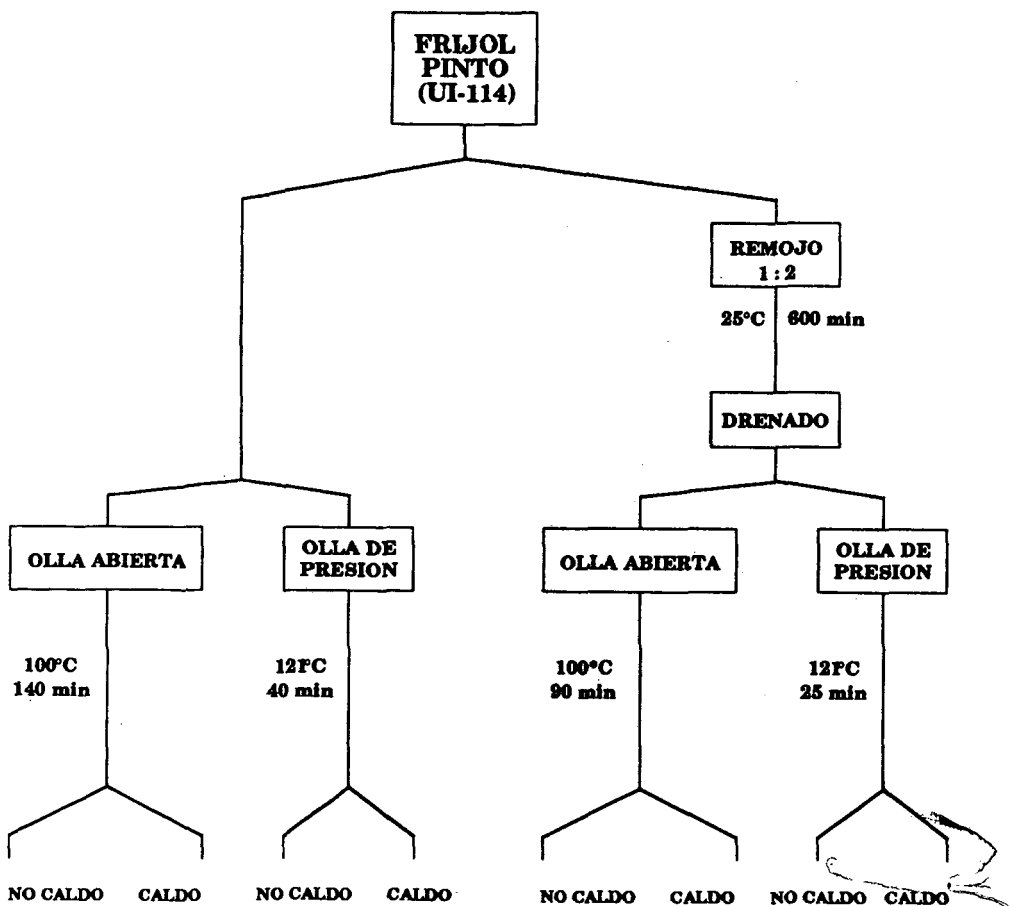


FIGURA 1

Tratamiento y condiciones de proceso empleados en la elaboración de dietas experimentales para evaluación de taninos y de valor nutritivo de proteína

matizan los tratamientos y condiciones experimentales de proceso que simularon las prácticas culinarias de mayor frecuencia. En todos los tratamientos se mantuvieron controladas las relaciones físicas de cantidad de frijol al agua de remojo (1:2), frijol al agua para cocer (1:5) y frijol cocido drenado al caldo de cocción agregado (1:0.73). En el caso de las muestras en las que se adicionó caldo, esto se hizo inmediatamente después de la cocción. Para los tratamientos sin caldo, se drenó el frijol después de la cocción y sólo se adicionó el agua necesaria para facilitar el trabajo de molido. Para moler las muestras se empleó una licuadora comercial Marca Waring con capacidad de 5 lt hasta obtener una pasta homogénea; el frijol molido fue distribuido en charolas de acero inoxidable, las cuales se introdujeron a un desecador de túnel a una temperatura de $50 \pm 5^\circ\text{C}$ y velocidad de aire constante. Las muestras se mantuvieron en el secador hasta que alcanzaron un contenido final de humedad de $7 \pm 1.5\%$.

Con el objeto de tener una medida de la textura final del frijol obtenida en cada tipo de cocimiento, se recurrió a la evaluación de este parámetro con un Instron Universal (Mod. TM-SM INSTRON LTD.). Se utilizó como indicador de blandura a la máxima fuerza (kg) requerida para comprimir, cortar y extruir una cantidad específica de frijol cocido. Para efectuar esta determinación, se empleó una celda con rejillas (Wire-extrusion cell, WEC) diseñada por OTMS (Ottawa Test Measuring System), usada anteriormente por Voisey y Nonnecke (17).

Análisis Químico

Las determinaciones de humedad, proteína, grasa, cenizas y fibra cruda, se llevaron a cabo en muestras de frijol crudo y en las harinas usadas para la elaboración de dietas experimentales, según los métodos oficiales de la AOAC (18). Los carbohidratos solubles se determinaron por diferencia.

Análisis de Taninos

Para el análisis de taninos se obtuvo una muestra de granos de frijol y de caldos recién cocidos, representativa de cada tratamiento. El frijol se descascaró a mano y las cáscaras, cotiledones y caldos de cocimiento se congelaron por separado en viales a $-38 \pm 3^\circ\text{C}$ para su posterior liofilización en un liofilizador marca Labconco (Modelo Freeze Dryer No. 5) a 25-50 torr, y -54°C . Antes de analizarse, se molieron en un tamiz, malla #40 en un molino Willey de laboratorio. Para la determinación de taninos en las muestras crudas se siguió la prueba de la vainillina-HCL (19); las extracciones de taninos condensados se efectuaron en metanol (100%) grado analítico (Merck). Para las muestras cocidas liofilizadas se siguió la modificación de la misma prueba, propuesta por Butler, Price y Brotherson (20). En ambos casos, el contenido de taninos se obtuvo empleando una curva estándar de (+)-catequina (Sigma).

Evaluación Biológica

Diseño experimental — El experimento fue un diseño completamente aleatorizado y se estructuró como factorial 3^3 , con tres factores, dos niveles para cada factor y seis animales por tratamiento, de acuerdo al modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \delta_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\delta)_{ik} + (\beta\delta)_{jk} + (\tau\beta\delta)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

$i = 1, 2.$

$j = 1, 2.$

$k = 1, 2.$

$l = 1, \dots, 6.$

Los factores fueron:

Tipo de cocimiento (τ): olla abierta y olla de presión.

Caldo de cocimiento (β): con caldo y sin caldo.

Remojo (δ): con remojo y sin remojo previo.

Razón de eficiencia proteínica (PER) — El PER se determinó según el procedimiento establecido oficialmente por la AOAC (18) (Tabla 1).

Digestibilidad aparente de la proteína (DAP) — Esta fue determinada utilizando la relación de concentración de Cr_2O_3 y proteína en la dieta experimental y en las heces, durante la última semana del PER (21, 22).

RESULTADOS Y DISCUSION

Textura

Los valores de textura obtenidos para el frijol pinto, por medio de la celda WEC, se exponen en la Tabla 2. Según se observa, la textura del frijol pinto acusó valores similares cuando el cocimiento se hizo a presión y a ebullición, con remojo previo, aun cuando los tiempos de cocción fueron marcadamente diferentes para cada tipo de cocimiento. Se hizo esta consideración al tomar un error estándar de ± 4.0 kgf para la celda WEC en muestras de frijol (23). Por otro lado, las muestras cocidas tanto a ebullición como a presión, sin remojo previo, dieron valores considerablemente bajos de textura. El hecho de que la textura en los tratamientos, olla abierta: remojo y olla de presión: remojo fueron consistentemente mayores, es explicable, ya que esas muestras se cocieron con menores tiempos, lo que es de esperar produzca mayor fuerza (kgf) en el Instron. Sin embargo, independientemente del tipo de cocción (presión o ebullición), una muestra con remojo previo debe ser más blanda que una sin remojo cocinada durante el mismo tiempo. Esto no fue así, pues el factor tiempo parece haber tenido mayor efecto en textura que el remojo. Las muestras de los cuatro tratamientos se evaluaron subjetiva-

TABLA 1

COMPOSICION DE LA DIETA BASAL USADA EN LA EVALUACION BIOLÓGICA DE LA PROTEÍNA

Ingrediente	%
Aceite de cártamo	8.0
Premezcla vitamínica	1.0
Premezcla mineral	5.0
Cr O	0.2
Celulosa	1.0
Agua	5.0
Fuente de proteína para formular al 10%	Variable
Almidón y dextrosa para aforar a 100%	Variable

El aceite, minerales, celulosa y agua fueron ajustados de acuerdo al análisis proximal de los ingredientes. Las muestras se calcularon como (1.6% N en la muestra) x 100 de acuerdo al método 43.212 del AOAC aplicable a fuentes de más de 1.8% de N. Todos los ingredientes son de Bioserv, N.J., EUA, excepto el aceite y Cr O.

La premezcla vitamínica contiene lo siguiente, en g/kg de dieta: ácido ascórbico, 0.45; biotina, 0.0002; pantotenato de calcio, 0.03; colina, 0.633; ácido fólico, 0.0009; inositol, 0.05; menadiona, 0.02; niacina, 0.04; ácido para-minobenzóico, 0.05; piridoxina, 0.01; riboflavina, 0.01; tiamina, 0.01; vitamina A, 9000 UI; vitamina B, 0.01 mg; vitamina D, 1000 UI, y vitamina E, 25 UI.

La premezcla mineral contiene lo siguiente, en g/kg de dieta: aluminio, 0.0005; calcio, 11.08; cloro, 4.79; cobre, 0.0175; flúor, 0.0027; yodo, 0.0030; hierro, 0.385; magnesio, 1.396; azufre, 0.1162, y zinc, 0.0637.

TABLA 2

EFECTO DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CASEROS DE PREPARACION DE FRIJOL PINTO SOBRE SU TEXTURA DESPUES DE LA COCCION

Tratamiento	Tiempo de cocimiento (min)	Textura (WEC) (kgf)
Olla abierta (100°C; 1 ATM)	140	47.0
Olla abierta; remojo (100°C; 1 ATM)	90	74.0
Olla de presión (12FC; 15 psi)	40	39.0
Olla de presión; remojo (12FC; 15 psi)	25	78.0

mente de acuerdo a su blandura y se consideraron como aceptables, por lo que se puede afirmar que la textura del frijol pinto cocido, evaluada como máxima fuerza de corte empleando una celda tipo WEC, se considera como aceptable para consumo humano en un rango de 40 a 80 kgf.

Taninos

El contenido y la distribución de taninos condensados se aprecia en la Tabla 3. Aparentemente el tratamiento térmico produjo una re-

TABLA 3

DISTRIBUCION DEL CONTENIDO DE TANINOS EN DIFERENTES ESTRUCTURAS Y TRATAMIENTOS CASEROS

Tratamiento	Cáscara	Cotiledón	Caldo
	(mg Eq. de catequina/100 g)		
Frijol crudo	16,303.5	N.D.	—
Frijol remojado 10 hr.; 25°C	253.75	4.25	27.49
<i>Cocido en olla abierta</i>			
Sin remojo 140 min; 100°C	14.00	6.25	108.50
Con remojo 90 min; 100°C	13.25	7.25	262.50
<i>Cocido en olla de presión</i>			
Sin remojo 40 min; 12FC; 15 psi	15.75	6.50	224.75
Con remojo 25 min; 12FC; 15 psi	23.00	18.25	272.25

Determinación, empleando el método convencional para análisis de taninos condensados por el reactivo de vainillina-HCl en metanol según Price, Scoyoc y Butler (19). El resto de los análisis se hizo con la modificación de Butler, Price y Brotherson (20) para el mismo ensayo, que utiliza ácido acético en vez de metanol en el reactivo.

N.D. Cantidades no detectadas por el método utilizado.

Dato calculado (mg Eq. cat./100ml agua de remojo).

ducción del 80% al 90% en el contenido total de taninos, lo que concuerda con otros estudios (24, 25). Los autores, en estos casos, coinciden en afirmar que la pérdida aparente de taninos inducida por la cocción se debe no a una destrucción química sino a cambios en la solubilidad y en la reactividad de las moléculas que dificultan su extracción.

El contenido de taninos en las cáscaras de granos cocidos liofilizados fue mucho menor, comparado con el de las muestras crudas. Mediante la modificación de la prueba de la vainillina HCl, que utiliza ácido acético glacial en vez de metanol en el reactivo, se lograron obtener resultados y establecer comparaciones. En general, todas las muestras de cáscaras y cotiledones de granos cocidos liofilizados presentaron un bajo contenido de taninos (6.25-23.0 mg Eq. catequina/100 g), mientras que en los caldos, éste fue mayor en relación al de las cáscaras y cotiledones respectivos (108-272 mg Eq. catequina/100 g). Bressani *et al.* informaron previamente que la fracción tánica no se liga a la proteína, sino se deposita en gran parte en el caldo de cocimiento (11). En el presente estudio se encontró que existe una relación inversa entre tiempo de cocción y el contenido de taninos residuales en caldo, tanto en el cocimiento en olla normal como en olla de presión. Esto puede estar asociado a la formación de complejos moleculares entre taninos condensados y compuestos afines que se van depositando en el caldo a lo largo de la cocción (proteínas, oligosacáridos y lípidos) (25), los cuales no se pueden cuantificar mediante las técnicas utilizadas. Esta situación se aprecia al comparar los valores de taninos en caldo, en donde para 140 min de cocimiento, el valor de catequina está muy por abajo (108 mg Eq. catequina/100 g) en relación al de 90 min (262.50 mg Eq catequina/100 g) cuando hubo remojo previo, en el caso de la olla abierta. En el caso de la olla de presión, la tendencia fue similar.

En la Tabla 3 las unidades son mg de catequina/100 g de lo que corresponda, cáscara, cotiledón o caldo. En otras palabras, 16,303.5 mg de catequina/100 g de cáscara corresponden a 1,304 mg de catequina/100 g de harina de frijol, dado que la cáscara representa el 8% en peso del frijol entero.

Valor Nutritivo de Proteínas

El efecto de mayor significancia estadística fue el tipo de cocción ($P < 0.0001$), seguido de la adición de caldo ($P < 0.05$). La interacción entre tipo de cocción y adición de caldo fue también significativa ($P < 0.025$). El efecto del remojo no fue significativo por sí mismo ni a través de sus interacciones. La Tabla 4 muestra los resultados del PER y de la DAP, y los niveles de significancia estadística se muestran en el cuadro de ANDEVA (Tabla 5) para el arreglo factorial.

El efecto más importante detectado en este estudio fue el de tipo de cocción, donde la olla abierta tuvo valores significativamente más altos para los tratamientos sin caldo, 1.23 y 1.24 respectivamente, para frijol sin remojar y remojado en olla abierta, contra 1.05 y 0.89 en olla de presión. Esta disminución inducida por el cocimiento a

TABLA 4

RAZON DE EFICIENCIA PROTEINICA (PER) Y DIGESTIBILIDAD APARENTE DE PROTEINA (DAP) DE FRIJOL PINTO PROCESADO POR DIVERSOS TRATAMIENTOS CASEROS

Tratamiento	PER \pm DE	A-PER	% Digestibilidad aparente de proteína
Olla abierta; sin remojo			
Sin caldo	1.23 \pm 0.24	1.24	71.76
Con caldo	1.05 \pm 0.07	1.06	67.34
Olla de presión; sin remojo			
Sin caldo	1.05 \pm 0.07	1.06	69.85
Con caldo	1.01 \pm 0.06	1.02	67.38
Olla abierta; con remojo			
Sin caldo	1.24 \pm 0.10	1.25	71.50
Con caldo	1.06 \pm 0.18	1.07	70.36
Olla de presión; con remojo			
Sin caldo	0.89 \pm 0.14	0.90	69.34
Con caldo	0.94 \pm 0.07	0.95	66.06
Caseína ANRC	2.48 \pm 0.18	2.50	91.56

El A-PER corresponde al PER ajustado tomando como base el valor de caseína-ANRC correspondiente al grupo de animales empleado como control, de acuerdo al protocolo AOAC (18).

presión, ha sido documentada por Walker y Kochran (26), en variedades de caupí (*Vigna unguiculata* (L.) *Wolp*) por períodos de una hora, encontrando que se destruye hasta un 10% de la lisina disponible por efectos del tratamiento térmico. Asimismo, Elías, Hernández y Bressani (27) detectaron disminuciones drásticas hasta de 54%, de la lisina en *Vigna sinensis*, en sólo 15 minutos de cocción a presión. Por lo tanto, es explicable que los valores de PER y DAP obtenidos para la proteína de frijol pinto sean menores para los tratamientos en olla a presión con respecto a la olla abierta. En lo que se refiere al caldo, se obtuvo un descenso significativo en el valor nutritivo de las proteínas de las dietas en las que se incluyó. Esto queda demostrado al comparar los valores de PER en el caso de la cocción en olla abierta sin remojo, que fueron 1.23 y 1.05 respectivamente, en los casos en que se agregó y no se agregó el caldo de cocción. Estos resultados son similares a los obtenidos en frijol previamente remojado y cocido en el mismo tipo de olla, en que el PER disminuyó de 1.24 a 1.06 al agregar caldo de cocimiento. Lo anterior concuerda

TABLA 5
ANALISIS DE VARIANZA DEL PER EN FRIJOL PINTO

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor de F
Tipo de cocción (A)	0.355	1	0.355	20.37
Adición de caldo (B)	0.088	1	0.088	5.04
Remojo (C)	0.032	1	0.032	1.86
<i>Interacciones</i>				
B x C	0.007	1	0.007	0.43
A x C	0.047	1	0.047	2.73
A x B	0.097	1	0.97	5.59
A x B x C	0.066	1	0.066	0.38
Error	0.697	40		
Total	1.332	47		

(P < 0.001).

(P < 0.05).

(P < 0.025).

con otros informes de la literatura, en los que los autores han observado disminución del valor nutritivo de leguminosas asociado a la adición de caldo de cocimiento (11, 13, 15, 23).

En el presente estudio se detectaron altas concentraciones de taninos en los caldos de cocción de las diferentes modalidades de preparación casera del frijol. Sin embargo, únicamente los tiempos de cocimiento prolongados utilizando la olla abierta, parecieron favorecer el efecto detrimental de dichos taninos sobre la calidad de la proteína. En la olla de presión no se manifestó la misma situación, como se puede apreciar en los valores de PER y DAP de dichos tratamientos, de tal forma que en olla de presión es indistinto el usar o no el caldo bajo las condiciones especificadas, ya que según se constató, no afecta el valor nutritivo.

Es necesario aclarar que los valores de digestibilidad no pudieron compararse estadísticamente debido a que la DAP se determina para toda la dieta y no hay repetición por tratamiento, por lo que únicamente se pudo analizar las tendencias de los datos obtenidos. En este estudio, se obtuvo una alta correlación entre los valores de PER y DAP ($r = 0.72$; $P < 0.05$). Puede afirmarse que la información que se obtuvo del PER fue similar a la que se derivó de la DAP, y ambos valores sirvieron como patrones para comparar la calidad de las proteínas.

Los cambios de valor nutritivo fueron detectados, fundamentalmente, en función de los potenciales efectos negativos del tratamiento térmico severo, y de la ingestión directa de taninos al consumir la proteína del frijol en presencia de su caldo de cocimiento.

Hubo disminuciones considerables en PER y un poco menores en DAP. Lo expuesto cobra relevancia al considerar datos de consumo en la población infantil, pues las leguminosas son utilizadas como alimentos de ablactación al preparar papillas, sopas y caldos. Esto puede ser especialmente importante en familias en las que la base de la aportación proteínica son las leguminosas, como el caso de múltiples regiones en México y otros países, sobre todo, donde los fenómenos económicos se orientan cada vez más hacia el consumo de estos vegetales como la fuente más importante de proteína.

SUMMARY

EFFECT OF HOME-COOKING TREATMENTS IN THE PREPARATION OF PINTO BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.) ON THE TANNIN CONTENT AND NUTRITIVE VALUE OF PROTEINS

A 3rd factor design was carried out in order to investigate the different home-cooking treatments applied in the preparation of pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on the nutritive value of their protein. The factors studied were previous soaking, type of cooking and addition of cooking broth. Biological evaluation of the protein was performed, and the protein efficiency ratio (PER) and apparent digestibility of the protein (DAP) values were obtained. The tannin content was measured in hulls, cotyledons and in the cooking broths of each experimental treatment. The most significant effect of the PER value was the type of cooking ($P < 0.0001$), followed by the addition of cooking broth ($P < 0.05$) as well as a significant interaction between cooking method and addition of broth ($P < 0.025$). Soaking did not have significant effects *per se* or through its interactions in relation to PER. The highest values for PER and DAP were obtained with the boiling treatment without broth. The detrimental effect of the cooking broth can be explained by its tannin content (108.5 - 272.25 mg Eq. catechin/100g).

BIBLIOGRAFIA

1. Valencia, M.E., R.P. Jardines & E. Noriega. The use of 24 hour recall data from nutrition surveys to determine food preference, available and food consumption baskets in populations. *Nutr. Repts. Internat.*, 4: 815-818, 1983.
2. Bressani, R., & L.G. Elías. Legume foods. In: *New Protein Foods*. A.M. Altschul (Ed.), New York, N.Y., Academic Press, Inc., 1974, P. 230-297.
3. Márquez, V.M., & F.M. Lajolo. Composition and digestibility of albumins, globulins, and glutelins from *Phaseolus vulgaris*. *J. Agric. Food Chem.*, 29: 1068-1074, 1981.
4. Fernández, R., L.G. Elías, J.E. Braham & R. Bressani. Trypsin inhibitors and hemagglutinins in beans (*Phaseolus vulgaris*) and their relationship with the content of tannins and associated polyphenols. *J. Agric. Food Chem.*, 30: 734-739, 1982.
5. Hernández-Infante, M., G. Herrador-Peña & A. Sotelo. Nutritive value of two different beans (*Phaseolus vulgaris*) supplemented with methionine. *J. Agric. Food Chem.*, 27: 965-968, 1979.
6. Foo, L.Y. & L.J. Porter. The phytochemistry of proanthocyanidin polymers. *Phyto-*

- chemistry, 19: 1747-1754, 1982.
7. Ma. Y. & F.A. Bliss. Tannin content and inheritance in common beans. *Crop. Sci.*, 18: 201-205, 1978.
 8. Geervani, P. & F. Therophilus. Effect of some processing on the protein quality of selected legumes. *J. Food Sci.*, 54: 707-711, 1980.
 9. Bressani, R., L.G. Elías & J.E. Braham. Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. *J. Plant Foods*, 4: 34-55, 1982.
 10. Asquith, T.H., & L.G. Butler. Interactions of condensed tannins with selected proteins. *Phytochemistry*, 25: 1591-1593, 1986.
 11. Bressani, R. & L.G. Elías. The nutritional role of polyphenols in beans. In: *Polyphenols in Cereal and Legumes*. J.H. Hulse (Ed.), Ottawa, Canada, International Development Research Centre, 1980, p. 61-72.
 12. Kumar, R. & M. Singh. Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition. *J. Agric. Food Chem.*, 32: 447-453, 1984.
 13. Laurena, A.C., T. Van Den & E.M. Mendoza. Effects of condensed tannins on the *in vitro* protein digestibility of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walsp.). *J. Agric. Food Chem.*, 32: 1045-1048, 1984.
 14. Aw, T.L., & B.G. Swanson. Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality. *J. Food Sci.*, 50: 67-71, 1985.
 15. Elías, L.G., D.G. De Fernández & R. Bressani. Possible effects of seed coat polyphenolics on the nutritional quality of bean protein. *J. Food Sci.*, 44: 524-527, 1979.
 16. Goycoolea, F.M. Efecto de los Tratamientos Caseros de Preparación de Frijol Pinto (*Phaseolus vulgaris* L.) Sobre el Contenido de Taninos y Valor Nutritivo de las Proteínas. Tesis de Licenciatura, Universidad La Salle, 1988.
 17. Voisey, P.W. & I.L. Nonnecke. Measurement of pea tenderness. IV. Development and avaluation of a test cell. *J. Texture Studies*, 3: 459-472, 1972.
 18. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 31st ed., Washington, D.C., The Association, 1984.
 19. Price M.L., S. Van Scoyoc & L.G. Butler. A critical avaluation of the vainillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, 25: 1214-1218, 1978.
 20. Butler, L.G., M.L. Price & J.E. Brotherson. Vainillin assay for proanthocyanidin (condensed tannins): Modification of the solvent for estimation of the degree of polimerization. *J. Agric. Food Chem.*, 30: 1087-1090, 1982.
 21. Edwards, H.M. & M.B. Gillis. A chromic oxide balance method for determining phosphate. *Poultry Sci.*, 38: 572, 1959.
 22. Valencia, M.E., M.G. Vavich & B.L. Reid. Protein quality evaluation of corn tortillas, wheat flour tortillas, pinto beans, soybeans and their combinations. *Nutr. Reps. Internat.*, 19: 195-201, 1979.
 23. Barrón, J.M. *Textural, Nutritional and Toxicological Qualities of Pinto Beans (Phaseolus vulgaris L.)*. Ph. D. Thesis, Queen Elizabeth College, University of London, 1984.
 24. Butler, L.G., D.J. Ried, D.G. Lebryk, & H.J. Blytt. Interaction of proteins with sorghum tannin: Mechanism, specificity and significance. *JAOCs*: 916-920, 1984.
 25. Barroga, C.F., A.C. Laurena & E.N. Mendoza. Polyphenols in mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek): Determination and removal. *J. Agric. Food Chem.*, 36: 1157-1159, 1985.
 26. Walber, A.F. & N. Kochran. Effect of processing including domestic cooking on nutritional quality of legumes. *Proc. Nutr. Soc.*, 41: 51, 1980.
 27. Elías, L.G., M. Hernández & R. Bressani. The Nutritive value of precooked legume flours processed by different methods. *Nutr. Reps. Internat.*, 14: 385-403, 1976.

ESTUDIO DE LAS VARIACIONES EN MACRONUTRIENTES Y VALOR NUTRITIVO DE LA PROTEINA DE UNA CONSERVA DE ATUN A LOS TRES AÑOS DE SU PREPARACION

*Marta Trinidad García Arias¹, Ana Marta Castrillón Díaz²
y María del Pilar Navarro Martos³*

**Instituto de Nutrición y Bromatología
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
Facultad de Farmacia
Universidad Complutense de Madrid,
Madrid, España**

RESUMEN

Se analizó la composición en macronutrientes y lisina disponible de una conserva de atún que había sido almacenada durante tres años a temperatura ambiente.

En ensayos con ratas Wistar, se determinó la digestibilidad (CD), el valor biológico (VB) y la utilización neta de la proteína (UNP). Luego, los resultados se compararon con los obtenidos tres años antes, cuando se preparó la conserva, utilizando la proteína patrón caseína + DL-metionina para controlar las posibles variaciones en el comportamiento animal.

No se encontraron variaciones en la composición porcentual de macronutrientes ni en la digestibilidad. Sin embargo, el VB y la UNP se redujeron significativamente.

Un hecho especialmente significativo fue que el contenido en lisina disponible, que había descendido en la conserva recién preparada respecto al atún crudo, se recuperó durante el período de almacenamiento.

Manuscrito modificado recibido: 6-10-89.

- 1 Becaria del CSIC.
- 2 Colaboradora científica del mismo Consejo.
- 3 Investigadora y Directora del Instituto de Nutrición y Bromatología del CSIC de la Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia, Ciudad Universitaria, 28040, Madrid, España.

INTRODUCCION

A pesar de la gran importancia que, desde el punto de vista nutritivo y comercial, tienen las conservas de atún, hay muy pocos trabajos dedicados al estudio de las condiciones de su preparación y de la repercusión que éstas tengan sobre el valor nutritivo de este pescado. Menos aún hay respecto a las modificaciones que puedan producirse durante el tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente que media entre la preparación de la conserva, y su consumo.

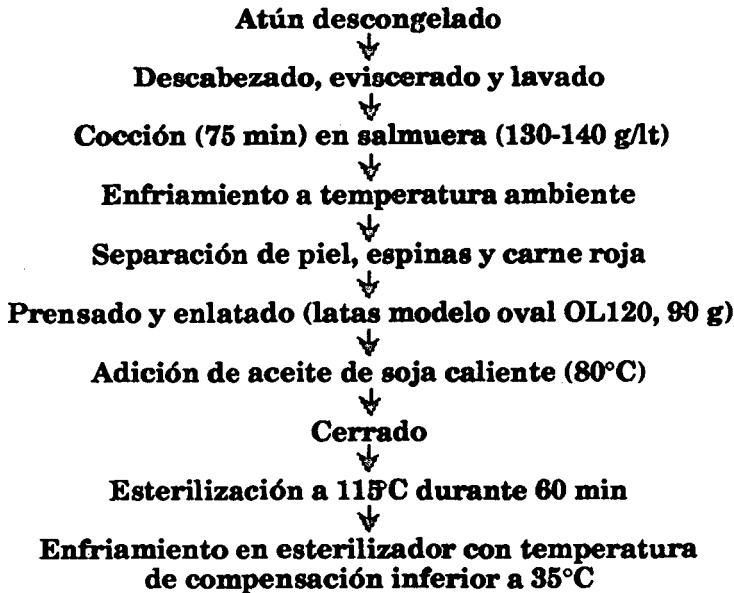
Una creencia frecuente entre los consumidores y los industriales que se dedican a la fabricación de conservas es suponer que los productos esterilizados no se alteran durante el almacenamiento. Esto es cierto desde el punto de vista microbiológico. Pero según algunos autores como Lund (1), Goresline, Leine y Mrak (2) o Ballet *et al.* (3), en las mezclas de varios alimentos tienen lugar cambios organolépticos y nutritivos que dependen de factores tales como el tiempo y la temperatura del lugar donde se almacenan, del sistema de empaquetado, y de las características del producto. En opinión de Bender (4) durante el almacenamiento se produce una lixiviación de nutrientes del alimento, los que pasan al líquido de cobertura, perdiéndose si éste se descarta, así como puede haber también una lenta destrucción química que depende de otros factores como el oxígeno residual y la superficie metálica del contenedor.

El objeto del presente trabajo fue establecer si una conserva de atún (*Thunnus alalunga*) —preparada por nosotros en las mismas condiciones que lo hace la industria— mantenía su calidad nutritiva a los tres años de almacenamiento a temperatura ambiente. Para ello, se compararon los valores obtenidos inicialmente (T_0) con los determinados tres años después (T_3).

MATERIAL Y METODOS

La Preparación de la Conserva

La conserva de atún se preparó en la planta experimental del Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo (España). Se partió de atún congelado, como hace normalmente la industria, el cual se dejó descongelar a temperatura ambiente. A partir de este atún descongelado, el enlatado se realizó de acuerdo al siguiente esquema:



Análisis del Contenido de Nutrientes

El contenido de las latas objeto del presente estudio se extrajo del envase, y después de haber separado con papel de filtro la grasa adherida del líquido de gobierno, se liofilizó, se molió y se mezcló lo más perfectamente posible. A continuación se determinó la composición porcentual de la muestra: proteína como N x 6.25 (N por el método de Kjeldahl), contenido en grasa por extracción con éter de petróleo en un Soxtec System 1040 Extraction Unit, humedad en estufa a 105°C hasta obtener peso constante, cenizas por el método de la AOAC (5), y lisina disponible por el método de Udy-Carpenter, descrito por Smith, Friedman y Lebel (6).

Estudio del Valor Nutritivo de la Proteína

Este se llevó a cabo mediante balance de nitrógeno, según el procedimiento de Thomas Mitchell. Para controlar la diferencia del comportamiento animal, se utilizó caseína + DL-metionina como proteína patrón. Se emplearon 12 ratas Wistar en cada grupo experimental, seis machos y seis hembras de 40 ± 2 g de peso, las que se alojaron en jaulas metabólicas individuales que permitieron la recolección por separado, de heces y orina, así como el control de la ingesta. La temperatura de la habitación se mantuvo entre 21 y 23°C, y la iluminación, de 8 a.m. a 8 p.m. de cada día durante los 11 días de cada ensayo. El control de peso, ingesta y excreción fecal y urinaria se realizó durante siete días, después de un período de adaptación de cuatro días. La composición teórica de las dietas era como sigue: proteína, 10%; fibra cruda, 5%; grasa, 7.5%; corrector vitamínico, 0.12%;

corrector mineral, 3.34%, y almidón y azúcar en cantidades iguales hasta completar 100 g. La composición real se expresa en Tabla 1 en la que el contenido de proteína en materia seca, determinado por análisis posterior a la preparación, se expresa en la nota al pie de la citada Tabla. El alto contenido en grasa de la conserva obligó a elevar el porcentaje de ésta del 5% habitual a 7.5%, ya que en otro caso habría sido imposible alcanzar el porcentaje de proteína de atún requerido. Por razón semejante no se añadió corrector mineral a la dieta cuya fuente proteínica era el atún.

TABLE 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS, EXPRESADAS EN g/100 g
EN SUSTANCIA HUMEDA

Caseína	12.47	Conserva de atún	18.08
DL-metionina	0.2	—	—
Aceite soja	7.5	—	—
Celulosa	5.32	Celulosa	5.23
C. vitamínico	0.12	C. Vitamínico	0.12
C. mineral	3.34	—	—
Almidón	41.55	Almidón	41.55
Azúcar	36.33	Azúcar	38.46

Contenido en proteína, por análisis posterior a la preparación: dieta patrón 10.8 g/100 g s.s., dieta problema 10.7 g/100 g s.s.

La composición del corrector vitamínico (g/100 g dieta) fue: colina, 1,111; ácido fólico, 1.11; niacina, 22.22; vitamina K, 0.005; Vitamina B₁₂, 0.055; riboflavina, 3.33; tiamina, 4.44; vitamina B₆, 6.66; pantotenato cálcico, 8.88; vitamina A, 4.400 UI; vitamina D₃, 1,111 UI, y vitamina E, 33.33.

La composición del corrector mineral (por kg de dieta) fue: IK, 0.21 mg; SO₄Cu.5H₂O, 24.72 mg; FNa, 2.43 mg; CO₃Zn, 25.56 mg; CrO₂Na₂, 1.10 mg; SeO₃Na₂, 0.24 mg; SO₄MnH₂O, 0.17 g; SO₄Fe.7H₂O, 0.20 g; ClNa, 0.91 g; CO₃Mg, 0.77 g; SO₄Mg.7H₂O, 2.3 g; PO₄HCa, 6.8 g; PO₄H₂K, 8.2 g; PO₄H₂Na, 2.3 g; CO₃Ca, 10.0 g, y CO₃HK, 6.1 g.

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante la prueba "t" de Student, considerando las diferencias como significativas al nivel de P < 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para poder efectuar la comparación de los resultados obtenidos en la conserva de atún, almacenada durante tres años (T₃), con la T₀, se incluyen en las Tablas correspondientes, los resultados obtenidos

en el momento de su preparación los que, naturalmente, no corresponden a nuestro trabajo actual, sino al realizado en 1983, el cual fue publicado en 1986 (7).

Contenido de Nutrientes

El contenido en el porcentaje de nutrientes: proteína, grasa y cenizas, no mostró diferencia entre T_0 y T_3 . No obstante, el contenido en lisina disponible sí pareció aumentar significativamente respecto a T_0 durante el almacenamiento (Tabla 2), alcanzando ahora valores muy próximos a los del atún congelado del que se partió para la preparación de la conserva, que era 9.6 g lisina/16 g N (8). Este sorprendente hallazgo sólo podría explicarse siguiendo la teoría de Ledward (9) que describe un estado predesnaturalizado intermedio en la transición entre el estado natural y el desnaturalizado. En este

TABLA 2

COMPARACION ENTRE EL CONTENIDO EN NUTRIENTES DE UNA CONSERVA DE ATUN RECIEN PREPARADA (T_0) Y ALMACENADA DURANTE TRES AÑOS (T_3)

	Proteína s.s.	Grasa s.s.	Cenizas mg/100 g s.s.	Lisina disponible g/100 g proteína
Conserva de atún T_0	60.2	40.2	2.42	8.4 ± 0.1 ^a
Conserva de atún T_3	59.3	40.8	2.27	9.5 ± 0.1 ^b

Los valores en la misma columna, con diferentes letras, indican diferencias estadísticamente significativas al nivel de $P < 0.05$.

s.s. = Sustancia seca.

último estado (predesnaturalizado), las proteínas son capaces de interaccionar con otros componentes dentro del sistema y, dependiendo de la agitación térmica y de los enlaces no covalentes existentes en la proteína, ésta puede volver a su estado natural. Sin embargo, todavía no tenemos datos suficientes para afirmar algo así y, por lo tanto, serán necesarios nuevos estudios sobre la formación y ruptura de enlaces cruzados durante estos procesos y de los cambios estructurales que pueda sufrir la proteína, para saber a ciencia cierta lo que realmente ocurre. Si recurrimos a los pocos datos encontrados en la literatura, podemos ver que cuando se analiza el contenido de lisina disponible en la conserva recién preparada (10-13), no se encuentran pérdidas importantes, mientras que se sabe que el calentamiento sí produce altas pérdidas de lisina (14-18). Esta aparente contradicción en los resultados bien podría explicarse por un mecanismo análogo

al encontrado en este trabajo: los grupos ϵ -amino de la lisina se bloquean en un primer calentamiento, y después vuelven a desbloquearse.

Valor Nutritivo

La ingesta, tanto de los animales alimentados con la dieta cuya proteína era caseína, como aquéllos que ingirieron dieta con fuente proteínica de conserva de bonito, fue similar en T_0 y T_3 , entre proteínas iguales.

No obstante, en el incremento de peso pudo observarse que, mientras en T_3 con la misma ingesta, los animales alimentados con caseína mostraron una diferencia significativa a favor de T_0 , los alimentados con atún se mantuvieron en los mismos niveles (Tabla 3). Los resultados en cuestión parecen indicar que la proteína de atún hubiese sufrido algún tipo de deterioro como consecuencia del almacenamiento, siendo ahora menos eficaz para el crecimiento que la correspondiente a conserva recién preparada.

TABLA 3

INCREMENTO DE PESO E INGESTA CALCULADA
CON SUSTANCIA SECA
(Expresados en g/rata/día)

Fuente proteínica	Incremento de peso	Ingesta
Caseína T_0	3.1 ± 0.2^a	9.5 ± 0.3^a
Conserva T_0	2.6 ± 0.2^b	8.0 ± 0.4^b
Caseína T_3	3.7 ± 0.2^c	9.5 ± 0.4^a
Conserva T_3	2.7 ± 0.1^b	8.9 ± 0.2^{ab}

Las letras diferentes en la misma columna, indican diferencias entre medias estadísticamente significativas al nivel de $P < 0.05$.

La digestibilidad (Tabla 4) no se alteró en absoluto por el almacenamiento. Pero aquí hay que tener en cuenta que este parámetro mide el nitrógeno absorbido, pero nada dice en cuanto a qué aminoácido pertenece este nitrógeno.

La retención de N, sin embargo, fue significativamente mayor para la proteína de atún de la conserva recién preparada (T_0) que para la proteína de atún de la conserva después de tres años de almacenamiento (T_3) (Tabla 5). Hay, en consecuencia, un descenso significativo tanto del valor biológico (VB) como de la UNP de la proteína de conserva de atún cuando se almacena durante tres años. Este período de almacenamiento produce, según estos resultados, un inicio de deterioro proteínico que no puede achacarse a pérdida de disponibilidad de lisina ni a alteraciones de la digestibilidad.

TABLA 4

UTILIZACION DIGESTIVA DE LA PROTEINA DE CONSERVA DE ATUN

Fuente de proteína de la dieta	N ingerido mg/día	N absorbido mg/día	CD
Caseína + DL-metionina T ₁	158.4 ± 5.4	155.6 ± 4.8	97.7 ± 0.7
Conserva de atún T ₁	143.2 ± 6.7	139.1 ± 6.9	96.4 ± 0.4
Caseína + DL-metionina T ₂	164.0 ± 4.0	163.0 ± 4.1	98.2 ± 1.2
Conserva de atún T ₂	146.4 ± 2.6	143.0 ± 2.7	97.7 ± 0.5

Valores de 12 animales en cada grupo, expresados como media ± ESM.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el coeficiente de digestibilidad (CD).

TABLA 5

UTILIZACION METABOLICA DE LA PROTEINA DE ATUN EN CONSERVA

Fuente de proteína de la dieta	N urinario mg/día	N retenido mg/día	VB	UNP
Caseína + DL-metionina T ₁	10.9 ± 1.1 ^a	143.7 ± 5.2 ^a	92.7 ± 0.8 ^a	90.6 ± 0.9 ^a
Tuna enlatada T ₁	18.4 ± 2.8 ^b	120.0 ± 6.8 ^b	86.6 ± 2.0 ^b	83.5 ± 1.9 ^b
Caseína + DL-metionina T ₂	17.9 ± 1.6 ^b	155.2 ± 3.7 ^d	89.7 ± 0.9 ^a	89.2 ± 0.8 ^a
Tuna enlatada T ₂	39.0 ± 0.8 ^c	104.1 ± 2.7 ^c	72.7 ± 0.6 ^c	71.0 ± 0.8 ^c

Valores de 12 animales en cada grupo, expresados como media ± ESM.

Las letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre medias, al nivel de P < 0.05.

Hay muy pocos datos en la bibliografía que puedan conducirnos a encontrar una explicación de la menor eficiencia metabólica, que quizás haya que buscar en el deterioro de otros aminoácidos, como los azufrados o el triptofano, por ejemplo, sensibles a los productos derivados de la oxidación de las grasas, y que se deterioran incluso en el almacenamiento en congelación (19), como hemos tenido ocasión de comprobar. Cecil y Woodroof (20) afirman que los alimentos esterilizados y enlatados contienen un tiempo de vida indefinido desde el punto de vista microbiológico, pero se produce un descenso

en sus propiedades nutritivas. Hellendoorn, De Groot y Slum (21), en conservas de comidas almacenadas durante tres y cinco años, observan también descensos de la UNP de 16 y 20%, respectivamente. Por otra parte, Pérez Martín (22) describe, en conservas de pescado, un incremento en bases volátiles a los seis meses de almacenamiento, resultados éstos que podrían confirmar la hipótesis de que haya aminoácidos que son afectados por reacciones químicas producidas durante el período de almacenamiento.

SUMMARY

STUDY OF THE VARIATIONS IN MACRONUTRIENTS AND NUTRITIVE VALUE OF THE PROTEIN OF CANNED TUNA STORED FOR THREE YEARS AFTER ITS PREPARATION

The composition in macronutrients and available lysine of canned tuna stored for three years at room temperature, was analyzed.

Digestibility (DC), biological value (BV) and net protein utilization (NPU) were determined with Wistar rats tests. The results were then compared to those obtained three years ago, when the canned food was prepared with casein standard protein plus DL-methionine, in order to control any variation that might had occurred in animal behaviour.

No variation was found, either in macronutrient composition or in digestibility. However, BV and NPU decreased significantly.

Highly significant, and somewhat surprising, was the finding that the amount of available lysine, which had diminished as the can was prepared with respect to the amount found in raw tuna, increased during the storage period.

BIBLIOGRAFIA

1. Lund, D. Nutritional Evaluation of Food Processing. Karmas and R.S. Harris (Eds.). New York, N.Y., Avi Van Nostrand Reinhold Company, 1987, p. 319-349.
2. Goresline, H.E., N.J. Leine & E.M. Mrak. Establishing Optimum Conditions for Storage and Handling of Semiperishable Subsistence Items. (Office of the Quarter Master General, Washington, D.C.).
3. Ball, C.O., F.M. Joffe, E.F. Stier & K. Hayakawa. The role of temperature in retaining quality in canned foods. *Ashrae J.*, 5 (6): 93-105, 144-146, 1963.
4. Bender, A.E. Food Processing and Nutrition. London, Academic Press, 1978, p. 59-78.
5. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12th ed. Washington, D.C., The Association, 1975, p. 15-17.
6. Smith, G.A. & M. Friedman. Effect of carbohydrates and heat on the amino acid composition and chemically available lysine content of casein. *J. Food Sci.*, 49: 817-820, 1984.
7. Navarro, Ma. P., A. Ma. Castrillón, R. Ma. Ortega & G. Varela. Eficacia de la proteína de la conserva de bonito (*Thunnus alalunga*) en el crecimiento animal. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 36(1): 117-126, 1986.

8. Castrillón, A. Ma., Ma. P. Navarro, J.M. Gallardo, R. Ma. Ortega, R. Pérez Martín & G. Varela. Influencia del proceso de preparación de las conservas de pescado en su calidad y valor nutritivo. *Proc. M.O.C.C.A.*, 1984.
9. Ledward, D.A. In: *Effects of Heating on Foodstuffs*. R.J. Priestley (Ed.). London, Applied Science Publishers, Ltd. 1979.
10. López Matas & C.R. Fellers. Composition and nutritive value of fresh, cooked and processed swordfish. *Food Research*, 13: 387-396, 1948.
11. Jarvis, N.D. Nutritive value of canned fishery products. *U.S. Fish Wildlife Serv. Fishery Leaflet*, 90: 323-354, 1943.
12. Dunn, M.S., M.N. Camien, S. Eiduson & R.B. Malin. The nutritive value of canned foods. I. Amino acid content of fish and meat products. *J. Nutrition*, 39: 177-185, 1949.
13. Proctor, B.E. & N.L. Lahiry. Evaluation of amino acids in fish processed by various methods. *Food Research*, 24: 91-92, 1956.
14. Tooley, P.J. & R.A. Lawrie. Effect of deep fat frying on the availability of lysine in fish fillets. *Food Technol.*, 9: 247-253, 1974.
15. Pienizaek, D., M. Rakowska, W. Szkilladziowa & K.Z. Grabare. Estimation of available methionine and cysteine in protein of food products by *in vivo* and *in vitro* methods. *Br. J. Nutr.*, 34: 175-190, 1975.
16. Mauron, J. The deterioration of lysine during certain heat treatments of milk and its effect on growth. *Internat. Z. Fur. Vitamin Forsch.*, 27: 85-96, 1956.
17. Bjarnason, J. & K.J. Carpenter. Mechanism of heat damage in proteins. *Br. J. Nutr.*, 24: 313-329, 1970.
18. Hurrell, R.F. & K.J. Carpenter. Contrasting results for the reactive lysine content in heat-damaged material. *Proc. Nutr. Soc.*, 33: 13A, 1974.
19. Beamonte Puga, A. Estabilidad del Triptofano durante los Procesos Térmicos Culinarios de Preparación de un Pescado Graso (*Sardina pilchardus*). Influencia del Almacenamiento al Estado Congelado. Tesina de Licenciatura, Universidad de Madrid, 1988.
20. Cecil S.R. & J.G. Woodrof. The stability of canned foods in long-term storage. *Food Technol.*, 17(5): 131, 1963.
21. Hellendoorn, E.W., A.P. De Groot & P. Slum. Effect of sterilization in three years storage on the nutritive value of canned prepared meals. *Voeding*, 30: 44-63, 1969. (Original no consultado; compendiado en *Food Sci. Technol. Abstr.*, 1, 967, Abstr. 8G, 333).
22. Pérez Martín, R. Estudio de los Procesos Térmicos en la Fabricación de Conservas de Atún Blanco y su Incidencia en la Calidad. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, 1988.

CAROTENOID COMPOSITION AND VITAMIN A VALUE OF A SQUASH AND A PUMPKIN FROM NORTHEASTERN BRAZIL

Hana K. Arima¹ and Delia B. Rodríguez-Amaya²

Instituto de Tecnología de Alimentos
e
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brazil

SUMMARY

The carotenoid composition of a squash and a pumpkin from Northeastern Brazil was determined. Nineteen carotenoids were detected in *Cucurbita moschata* variety "Baianinha"; β -carotene was the principal carotenoid, contributing about 74% of an average total carotenoid content of 317.8 $\mu\text{g/g}$. In *C. maxima* variety "Jerimum Caboclo", 11 carotenoids were found with lutein, and β -carotene as the major pigments accounting for about 60% and 27%, respectively, of an average total carotenoid content of 78.4 $\mu\text{g/g}$. The abundance of β -carotene in the *C. moschata* variety "Baianinha" makes this squash one of the richest sources of provitamin A. The average vitamin A value was 43,175 IU (International Units) per 100 g or 4,317 RE (retinol equivalents) per 100 g. Its vitamin A value is more than 11 times that of *C. maxima* variety "Jerimum Caboclo" and five times that of *C. moschata* cultivar "Menina Verde", the squash found previously to be highest in provitamin A among the *Cucurbita* vegetables most commercialized in São Paulo (Southeastern Brazil).

INTRODUCTION

Most of existing data on the vitamin A value of foods had been based on the total carotene content, and are becoming widely considered as unreliable, because of the possibility of including inactive carotenoids and of grouping less active carotenoids with β -carotene.

Manuscrito modificado recibido: 6-10-89.

1 Instituto de Tecnología de Alimentos, Campinas, SP, Brasil.

2 Departamento de Ciencia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 13081, Campinas, SP, Brasil.

There is general agreement on the necessity of obtaining new data by methods which remove interfering carotenoids, and quantitate the provitamins separately. The vitamin A value could then be calculated, taking into account only active carotenoids with their respective activities.

The importance of determining the complete carotenoid composition of foods has also become increasingly recognized, because of an apparently wider physiological function of carotenoids, beyond their role as precursors of vitamin A. The inhibitory effect against certain types of cancer, for example, appears to be not restricted to provitamins (1, 2).

In a previous paper (3), the carotenoid composition of the squashes and pumpkins most commercialized in the State of São Paulo, Brazil, were reported. A complex pattern was obtained, consisting of 13-15 carotenoids in each *Cucurbita* vegetable. Distinct varietal differences were observed, but between samples, variations were also noted. The *Cucurbita moschata* cultivar "Menina Verde" was richest in carotenoids, followed by the hybrid "Tetsukabuto" and the *C. maxima* cultivar "Exposição". *C. moschata* at the immature stage; however, it was low in carotenoids. This was also true for *C. pepo* cultivar "Caserta", which is consumed only when immature. The total carotenoid content and vitamin A value increased about 15- and 26-fold, respectively, from the immature to mature *C. moschata*. Peeling reduced the carotenoid concentration of the immature vegetables drastically: the vitamin A values of the pulp being only one-fifth of those of the whole vegetables. β -carotene predominated in the *C. moschata* (mature) and *C. maxima*, while lutein was the major carotenoid of the other vegetables.

The present paper deals with the carotenoid composition of a squash and a pumpkin from Northeastern Brazil, a region where vitamin A deficiency and overall malnutrition are considered a serious problem, especially in certain areas. Although found in markets all year round, these vegetables are not grown commercially, and are thus designated simply as varieties, to differentiate them from those produced commercially, which are designated as cultivars (cultivated varieties).

MATERIAL AND METHODS

Materials

Samples of the squash *C. moschata* variety "Baianinha" were obtained from Salvador, Bahia, and those of the pumpkin *C. maxima* variety "Jerimum Caboclo" were collected from Recife, Pernambuco. These vegetables are described in detail in Table 1.

Sample Preparation

Each sample was prepared by cutting the fruit radially into eight

TABLE 1
DESCRIPTION OF THE SQUASH AND PUMPKIN ANALYZED

Vegetable		
<i>Cucurbita moschata</i> Variety "Baianinha"	12-14 cm longitudinal diameter 14-17 cm transverse diameter 0.9-1.2 kg	Yellow exterior, smooth surface with slight ribbing, dark orange pulp, spherical
<i>Cucurbita maxima</i> Variety "Jerimum Caboclo"	10-12 cm longitudinal diameter 15-26 cm transverse diameter 0.3-1.6 kg	Grayish-green exterior, smooth surface with prominent ribbing, yellow-orange pulp, spherical but flattened at both stem and blossom ends

sections. Four opposite sections were taken and, after removal of the seeds, they were peeled, cut into smaller pieces and mixed. A portion (Ca 250g) was homogenized with water (3:1) in a Waring blender. Aliquots equivalent to 25 g for the *C. moschata* and 60g for the *C. maxima* were submitted to analysis.

Carotenoid Determination

The carotenoid composition was determined according to procedures previously described (4).

The sample was blended with about 150 ml cold acetone and hyflosupercel in a Waring blender for 1 or 2 minutes and filtered through a Buchner funnel. Blending and filtration were repeated until the residue was devoid of color (2 or 3 times). The carotenoids were transferred to petroleum ether by adding small portions of the combined acetone extract to petroleum ether (about 100 ml) in a separatory funnel. After each addition, water was poured gently and the two layers were allowed to separate, without agitation, to avoid the formation of emulsion, and the lower aqueous layer was discarded. When the entire extract had been added, the petroleum ether layer was washed five times with water to remove residual acetone and collected in an Erlenmeyer flask. An equal volume of 10% KOH in methanol was added, and the mixture was left overnight at room temperature in the dark. The alkali was washed off in a separatory funnel with water (five times). If rinse water was colored, it was reextracted with fresh petroleum ether. The pigment solution was then dried with anhydrous sodium sulfate and concentrated in a rotatory evaporator at a temperature not exceeding 35°C.

The carotenoids were first separated in a MgO:Hyflosupercel (1:2) column developed successively with increasing concentration of ethyl ether (1-5%) and acetone (2-100%) in petroleum ether. Unresolved fractions were rechromatographed in another MgO:Hyflosupercel (1:2) column for the apolar carotenoids and neutral alumina (activity II or III) for the more polar pigments.

Fractions from both columns containing acetone were washed free of this solvent with water, and dried over sodium sulfate. The fractions were either concentrated or diluted, as needed, transferred to suitable volumetric flasks and the volumes completed with petroleum ether. The absorption spectra were taken from 550 to 350nm in a double-beam recording Perkin Elmer spectrophotometer, Model 356.

The carotenoids were identified through a combination of several parameters: 1) visible absorption spectra; 2) position on the column; 3) TLC Rf values; and 4) chemical reactions such as acetylation with acetic anhydride, methylation with acidified methanol, iodine catalyzed isomerization and epoxide tests. The identification procedure and interpretation of the results have been described previously in detail (4).

Quantitation was based on the maximum absorbance as described by Davies (5), using tabulated absorption coefficients. The

vitamin A values were calculated according to NAS-NRC (6), using the provitamin A activities tabulated by Bauernfeind (7). By definition, 1 IU (International Unit) is equivalent to 0.6 μg of β -carotene or 1.2 μg of the other precursors; 1 RE (retinol equivalent) is equal to 6 μg β -carotene or 12 μg of the others provitamins.

RESULTS AND DISCUSSION

Carotenoid Composition

Table 2 shows that the *C. moschata* variety "Baianinha" is notably rich in carotenoids, both in terms of the amounts and the number of different carotenoids detected. A total of 19 carotenoids were encountered, of which β -carotene predominated, making up about 74% of an average total carotenoid content of 317.8 $\mu\text{g}/\text{g}$.

Eleven carotenoids were found in the *C. maxima* variety "Jerimum Caboclo". Lutein and β -carotene were the major pigments, accounting for about 60% and 27% of a mean total carotenoid content of 78.4 $\mu\text{g}/\text{g}$.

The squash "Baianinha" thus presented a β -carotene and total carotenoid content almost 10 and four times greater, respectively, than those of the pumpkin "Jerimum Caboclo".

As with the squashes and pumpkins most commercialized in the State of São Paulo (3), appreciable variations between samples of the same *Cucurbita* were observed. These had been attributed to the long period during which the squashes and pumpkins could be harvested, and their much longer shelf life. While other fruits and vegetables need to be harvested and consumed within a short period, squashes and pumpkins keep for months, during which time the biochemical processes continue. There was no attempt to choose the samples analyzed according to exact maturity stages or time after harvest, so as to reflect the type of variation the consumers are exposed to. It is thus understandable that the between sample variations that could be discerned from Table 2 are greater than those observed in the other fruits and vegetables we have also studied.

Vitamin A Value

The abundance of β -carotene in the *C. moschata* "Baianinha" makes this squash one of the richest sources of provitamin A. Its vitamin A value is more than 11 times that of the *C. maxima* "Jerimum Caboclo" (Table 3).

The "Baianinha" also surpassed the richest source among the squashes and pumpkins commercialized in São Paulo. Its vitamin A value is about five times that of *C. moschata* cultivar "Menina Verde". Except for certain varieties of palm fruits, the vitamin A value of Baianinha is, in fact, the highest among more than 40 different fruits and vegetables we have so far analyzed (8).

Lee, Smith and Robinson (9) compared the carotene composition

TABLE 2

CAROTENOID COMPOSITION OF *Cucurbita moschata* VARIETY "BAIANINHA" AND *Cucurbita maxima* VARIETY "JERIMUM CABOCLO"

Carotenoid	Concentration ($\mu\text{g/g}$)*			
	<i>C. moschata</i> variety "Baianinha"		<i>C. maxima</i> variety "Jerimum Caboclo"	
	Range	Mean	Range	Mean
α -Carotene	16.8-82.5	47.1	0.2-0.6	0.4
β -Carotene	125.4-294.4	234.6	14.2-34.8	21.0
5,6-monoepoxy- β -carotene	ND-2.2	0.8	ND	ND
<i>Cis</i> - ϵ -carotene	4.9-30.4	19.0	1.5-2.7	2.1
α -Zeaxanthin	ND-1.7	0.8	ND	ND
Neurosporene	ND-tr	tr	ND	ND
Mutatochrome	ND-tr	tr	ND	ND
δ -Carotene	tr-0.7	0.4	ND	ND
Unidentified**	tr-1.9	1.0	tr	tr
α -Cryptoxanthin	2.2-2.8	1.8	tr-6.7	2.6
Zeaxanthin	tr-6.8	2.5	ND	ND
5,6-monoepoxy- α -cryptoxanthin	ND	ND	ND-8.8	2.9
<i>Cis</i> -5,6,5',8'-diepoxy- cryptoxanthin	ND-0.3	tr	ND	ND
Lutein	4.8-14.8	8.5	6.4-128.7	47.1
<i>Cis</i> -lutein	ND	ND	ND-0.4	0.1
Zeaxanthin	ND	ND	ND-0.2	tr
Taraxanthin	ND-tr	tr	ND-6.0	2.0
<i>Cis</i> -flavoxanthin	ND-0.7	0.3	ND-0.6	0.2
<i>Cis</i> -violaxanthin	tr-0.9	0.6	ND	ND
Luteoxanthin	ND-0.9	0.2	ND	ND
<i>Cis</i> -luteoxanthin	ND-0.5	0.2	ND	ND
Auroxanthin	ND-0.3	tr	ND	ND
Total	187.2-404.8	317.8	18.2-186.6	78.4

* Range and means of 3 samples for each vegetable collected at different times during the year.

** Calculated on the basis of the absorptivity of β -carotene.

ND = not detected; tr = trace.

TABLA 3
COMPARISON OF THE VITAMIN A VALUE OF BRAZILIAN SQUASHES AND PUMPKINS

Vegetables	Provitamins**	Vitamin A value***			
		IU/100 g		RE/100 g	
		Mean	SD	Mean	SD
<i>C. moschata</i> variety "Baianinha"	α -carotene (9.1%), β -carotene (90.6%) α -cryptoxanthin (0.3%)	43,175	16,209	4,317.5	1,602.9
<i>C. maxima</i> variety "Jerimum Caboclo"	α -carotene (0.9%), β -carotene (93.4%) α -cryptoxanthin (5.7%)	3,745	2,236	374.5	233.6
<i>C. moschata</i> cultivar "Menina Verde"	α -carotene (22.2%), β -carotene (75.9%) mutatochrome (0.5%), α -cryptoxanthin (1.4%)	8,624	5,594	862.4	559.4
<i>C. máxima</i> cultivar "Exposição"	α -carotene (0.3%), β -carotene (96.2%) mutatochrome (0.3%), α -cryptoxanthin (3.2%)	2,875	1,801	287.5	180.1
Hybrid "Tetsukabuto"	α -carotene (0.6%), β -carotene (72.9%) mutatochrome (0.2%), α -cryptoxanthin (26.3%)	2,956	901	295.6	90.1

* Taken from Arima and Rodríguez-Amaya (3) for comparison purposes.

** Numbers in parenthesis represent the per cent contributions of the provitamins.

*** Means and standard deviations of 3 samples for the first two vegetables and of 5 samples for the last three vegetables collected at different times during the year. All the data refer to mature vegetables.

of three cultivars and three breeding lines of winter squash grown in an experiment station in the U.S. The vitamin A value ranged from 142-297 RE/100g, that is, 14-30 times lower than the average vitamin A value of "Baianinha".

The results clearly show that the squash "Baianinha" merits commercial production and wider distribution in Brazil and other developing countries having similar climatic conditions. Since squashes are easy to grow and can be available all year round, it is the type of crop which, if given due importance, can be of great help in alleviating the problem of vitamin A deficiency in the poorer areas of the world.

Several other aspects can be pointed out from the data on Table 3: 1) The squashes are in general higher in provitamin A than the pumpkins; 2) varietal differences are sufficient to emphasize the importance of specifying the cultivar or variety in Food Composition Tables; 3) the *Cucurbita* which showed the least variation was the hybrid "Tetsukabuto" which is grown from selected imported seeds and propagated under controlled commercial production conditions. It is thus possible to diminish variations between lots. Interestingly, the hybrid "Tetsukabuto" is gaining wider acceptance at the expense of the native squashes and pumpkins, a reflection of the tendency in developing countries to value imported crops without taking into consideration that local ones could be better from the nutritional and agronomic standpoints.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to thank The Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the financial support kindly provided for this study.

RESUMEN

Se determinó la composición en carotenoides de dos tipos de calabazas de la región noreste del Brasil. Se detectaron 19 carotenoides en la variedad "Baianinha" de *Cucurbita moschata*, en la que el principal carotenoide es el β -caroteno, representando alrededor de 74% del promedio de 317.8 $\mu\text{g/g}$ de carotenoide total. En la variedad "Jerimum Caboclo", de la especie *C. maxima*, se encontraron 11 carotenoides, de los cuales luteína y β -caroteno representan aproximadamente 60 y 27%, respectivamente, del promedio total de 78.4 $\mu\text{g/g}$. La abundancia de β -caroteno en la variedad "Baianinha" de *C. moschata* hacen de esta calabaza una de las más ricas fuentes conocidas de pro-vitamina A. El promedio de valor de vitamina A fue de 43,145 (Unidades Internacionales) UI por 100g, o 4,317 ER (equivalentes de retinol) por 100g. Su valor vitamínico A es más de 11 veces el de la variedad "Jerimum Caboclo" de *C. maxima*, y más de cinco veces el valor del cultivar "Menina Verde" de *C. moschata*, la calabaza que anteriormente se conocía como la de mayor contenido de pro-vitamina A, entre las calabazas comercializadas en São Paulo, región sureste del país.

BIBLIOGRAPHY

1. Mathews-Roth, M.M. Carotenoids and cancer prevention, experimental and epidemiological studies. *Pure Appl. Chem.*, **57**: 717-722, 1985.
2. Colditz, G.A., L.G. Branch, R.J. Lipnick, W.C. Willet, B. Rosner, B.M. Posner & C.H. Hennekens. Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer death in an elderly population. *Am. J. Clin. Nutr.*, **41**: 32-36, 1985.
3. Arima, H.K. & D.B. Rodríguez-Amaya. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpkins. *J. Micronutrient Analysis*, **4**: 177-191, 1988.
4. Rodríguez, D.B., L.C. Raymundo, T.C. Lee, K.L. Simpson & C.O. Chichester. Carotenoid pigment changes in ripening *Momordica charantia* fruits. *Ann. Bot.*, **40**: 615-624, 1976.
5. Davies, B.H. Carotenoids. In: **Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments**, T.W. Goodwin (Ed.). London, Academic Press, 1976, p. 38-165.
6. NAS-NRC. **Recommended Dietary Allowances**. 9th ed. Washington, D.C., National Academy of Science, 1980, p. 55-60.
7. Bauernfeind, J.C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *J. Agric. Food Chem.*, **20**: 456-473, 1972.
8. Rodríguez-Amaya, D.B., H.M. Cecchi, M. Padula, H.T. Godoy, D.M. Ramos, M. Kimura & C.A. Tavares. Distribution of carotenoids in Brazilian foods. Presented at the **8th International Symposium on Carotenoids**, Boston, 1987.
9. Lee, C.Y., N.L. Smith & R.W. Robinson. Carotenoids and vitamin A value of fresh and canned winter squashes. *Nutr. Repts. Internat.*, **29**: 129-133, 1984.

CONTENIDO DE SODIO, POTASIO Y CALCIO EN PLATILLOS TIPICOS CONSUMIDOS EN SONORA, MEXICO

*Marta Isabel Grijalva Haro¹, Mauro E. Valencia²
y Jane Wyatt³*

**Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
(CIAD, A.C.),
Hermosillo, Sonora,
México**

RESUMEN

Se determinó por espectrofotometría de absorción atómica el contenido de sodio, potasio y calcio en 15 platillos típicos consumidos en Sonora, México. La mayoría de los platillos tenían alto contenido de sodio y bajo aporte de potasio; por lo tanto, la relación Na:K se encontró muy elevada. La tortilla de harina de trigo fue el alimento que proporcionó la mayor cantidad de sodio (1,372.8 mg/100 g). En cuanto al potasio, fue el chorizo con papas el que aportó un mayor contenido de este mineral (466 mg/100 g). Las calabacitas con queso acusaron el mayor contenido de calcio (2.44.1 mg/100 g). La capirotada y el arroz con leche que son platillos tipo postre, presentaron la más baja relación Na:K (0.66 y 0.81, respectivamente).

INTRODUCCION

El sodio y el potasio son reconocidos como nutrientes indispensables, especialmente importantes en el balance electrolítico. Para cubrir sus requerimientos diarios el organismo humano necesita sólo aproximadamente 200 mg de sodio, y la población normalmente consume más de 20 veces esta cantidad (1). En cuanto al potasio, la re-

Manuscrito modificado recibido: 15-06-89.

1. Investigador Asociado, Departamento de Nutrición del CIAD, A.C.
2. Investigador Titular, Departamento de Nutrición del Centro de Investigación y Desarrollo A.C. (CIAD, A.C.), Apartado 1735, Hermosillo, Sonora, México.
3. Investigador visitante en dicho Centro.

comendación es de 4.6 g/día y a nivel de población, su ingesta generalmente es más baja (2). Esto concuerda con la dieta del Estado de Sonora, en la que se ha encontrado una baja participación de alimentos que proporcionan potasio (3). En adultos sanos se ha recomendado la ingesta diaria de 800 mg de calcio para mantener su balance (4); sin embargo, en poblaciones cuya ingesta es baja, la FAO/OMS recomienda de 400 a 500 mg de calcio diarios.

Se ha demostrado que la presión arterial de los individuos que tienen predisposición genética a hipertensión; varía directamente con la ingesta de sodio (5, 6). Así, se sugiere que el tratamiento de hipertensión esencial debe iniciarse con la reducción en la ingesta de sal (7, 8).

Por otro lado, el potasio parece proteger contra los efectos negativos de la sal (9, 10). Existen estudios en los que se observó que al aumentar la ingesta de potasio en la dieta, se obtuvo una disminución de la presión arterial (11, 12).

Otras investigaciones recientes en humanos y animales experimentales, han demostrado cierta asociación entre la baja ingesta de calcio y un aumento en el riesgo de hipertensión y enfermedades cardiovasculares (13-15), por lo que se presume que el calcio puede atenuar el desarrollo de la hipertensión (16).

Es común que a los individuos con hipertensión o problemas renales se les prescriba consumir dietas con bajo contenido de sodio. Para ello se necesita contar con tablas de composición química de alimentos que contengan dicha información. Esto permitiría hacer uso adecuado de los alimentos disponibles, a fin de que tales personas ingieran en sus dietas las cantidades recomendadas de sodio y potasio.

En la actualidad no hay en las *Tablas de Valor Nutritivo de Alimentos Mexicanos* (17), ni en las de otras regiones de Latinoamérica (18), información sobre el contenido de Na y K de los alimentos. Asimismo, se tiene poco conocimiento sobre la composición química y valor nutritivo de mezclas de alimentos o de alimentos preparados, y ello aplica también a los platillos típicos que se consumen en distintas regiones de los países.

En virtud de lo expuesto, el propósito del presente estudio fue determinar el contenido de sodio, potasio y calcio de 15 platillos típicos consumidos en Sonora, con el fin de complementar con datos sobre estos minerales, la tabla de composición química de alimentos de México (16, 19). El objetivo final fue permitir que dicha información pueda ser de utilidad en el manejo de pacientes hipertensos y en la salud pública de la región.

MATERIAL Y METODOS

Preparación de Platillos

Se analizaron 15 platillos típicos consumidos en Sonora, los cuales fueron previamente seleccionados por Jardines y colabora-

dores (19), en base a una regionalización del Estado y a los patrones alimenticios que rigen en las diversas zonas. Para obtener el modo de preparación de estos platillos se elaboró un cuestionario, el cual se aplicó por medio de una entrevista con el ama de casa. De esta manera se obtuvieron 50 recetas caseras para cada platillo, por lo que se hizo una estandarización para obtener de cada platillo la receta representativa (moda estadística) (19).

En el laboratorio se preparó cada platillo siguiendo la receta casera estandarizada y las cantidades indicadas en la Tabla 1. Todos los ingredientes se adquirieron en el mercado local durante la época de otoño-invierno.

TABLA 1

**PLATILLOS TÍPICOS CONSUMIDOS EN SONORA (MEXICO), Y
SUS INGREDIENTES**

Platillo	Ingredientes (gramos)
Arroz con leche	Arroz (250); azúcar (100); leche evaporada (410 ml); canela (79) y agua (1 lt).
Albóndigas con arroz	Carne de res molida (250); arroz (50); tomate (141); cebolla verde (43); harina de maíz (18); cilantro (28); ajo (7); pimienta molida (0.5); sal gruesa (6); manteca vegetal (32) y agua (750 ml).
Calabacitas con queso	Calabacitas tiernas (500); tomate (141); cebolla blanca (39); chile verde (30); queso blanco regional ¹ (100); granos de elote (100); aceite vegetal (11) y sal gruesa (15).
Caldo de queso	Queso blanco regional ¹ (375); papas (450); chile verde (270); cebolla blanca (117); tomate (211); manteca vegetal (80); sal gruesa (10) y agua (2.3 lt).
Capirotada	Pan blanco (440); mantequilla (45); queso blanco regional ¹ (250); cacahuates pelados (250); pasas (35); plátanos (246); ciruelas pasas (296); piloncillo ² (550); canela molida (2) y agua (1 lt).
Chivichangas de queso	Tortilla de harina de trigo (32); queso blanco regional (50); lechuga (36); tomate (42); mayonesa (30); aceite vegetal (100).
Chorizo con papas	Chorizo de res (250); papas (550) y manteca vegetal (64).

(Continúa)

(Continúa Tabla 1)

Ejotes con chile	Ejotes verdes cocidos (750); chile colorado en polvo (30); harina de maíz nixtamalizado (72); ajo (3); manteca vegetal (80); sal gruesa (12).
Gallina pinta	Cola de res (750); maíz nixtamalizado (250); frijol pinto (63); ajo (6); cebolla verde (20); cilantro (10); sal gruesa (6) y agua (3 lt).
Menudo	Panza, tripas y patas de res (1500); maíz nixtamalizado (750); ajo (13.5); cebolla blanca (78); cilantro (20); chile verde (30); sal gruesa (49.5) y agua (9 lt).
Machaca con verdura	Carne de res seca salada³ (375); tomate (423); cebolla blanca (117); chile verde (90) y aceite vegetal (34.5).
Sopa de pasta	Sopa de pasta (100); tomate (141); cebolla blanca (39); ajo (1); consomé (6); aceite vegetal (18) y agua (1.5 lt).
Tamales de elote	Granos de elote (3,250); chile verde (2,250); queso blanco regional (375); leche pasteurizada (100 ml); manteca vegetal (750) y sal gruesa (88).
Tamales de carne	Masa de maíz nixtamalizado (3,000); manteca vegetal (1,000); polvo de hornear (8.6); carne de res (1,500); ajo (22); chile colorado (63); sal gruesa (24); manteca vegetal (64).
Tortillas de harina	Harina de trigo (500); manteca vegetal (125); sal fina (12) y agua (250 ml).

1 Queso fresco estilo Sonora.

2 Piloncillo (panocha, azúcar moscabada, panela o melaza).

3 Machaca.

Preparación de la Muestra y Análisis de Humedad

Los platillos preparados se homogeneizaron durante 5 minutos en una licuadora (Waring Modelo 3 4BL22). Algunas veces se hizo necesario añadir un volumen conocido de agua desionizada para formar una pasta cremosa. Del homogeneizado se tomó 1 gramo de muestra por triplicado, para hacer el análisis de humedad (20). El resto se secó en estufa de convección forzada a 50°C por 8 horas, y se

molió en un molino Wiley, malla #40. Después se empacó en bolsas de polietileno y se almacenó a temperatura de -20°C hasta su análisis posterior.

Análisis de Minerales

A los platillos se les determinó su contenido de sodio, calcio y potasio por la técnica de absorción atómica (21). Con este fin se tomaron muestras por triplicado de cada platillo seco y molido, se digirieron en un digestor (Tecator Digestion System 20) siguiendo la técnica de digestión húmeda, la cual utiliza HNO_3 concentrado y HClO_4 (70% W/V) para la oxidación total de la materia orgánica (22). Con el propósito de verificar la exactitud y precisión de los análisis efectuados, se corrió y analizó junto con la muestra un estándar de referencia (NBS, bovine liver, 1577) y un blanco reactivo. Todo el material de cristalería y polipropileno utilizado fue lavado previamente con HNO_3 al 20% (22).

Las lecturas de absorbancia de los elementos se hicieron en un espectrofotómetro de absorción atómica (Varian AA 1475). Las diluciones para sodio y potasio se efectuaron utilizando como diluyente cloruro de litio ($1,500\ \mu\text{g}/\text{ml}$) y se leyeron en flama de emisión. En el caso del calcio se utilizó óxido de lantano (1% W/V) como agente secuestrante para eliminar interferencias de fosfato en la muestra, y la lectura se hizo en flama de absorción atómica. Los gases utilizados fueron aire-acetileno para los tres elementos analizados.

RESULTADOS Y DISCUSION

Contenido de Minerales

El contenido de sodio, potasio y calcio de los platillos típicos analizados se presenta en la Tabla 2, y se expresa en base húmeda por 100 g de alimento.

Sodio — El contenido de sodio osciló de 65.6 a 1,372.8 mg/100g y, según se puede observar, es altamente variable entre los platillos. Una persona adulta que consume cualquiera de estos platillos en la cantidad de una ración consistente en aproximadamente de 90 g de algún platillo, ingiere más de la cantidad de sodio requerida nutricionalmente, que es aproximadamente 200 mg por día (4). Los alimentos con mayor contenido de sodio (mg/100 g) fueron: tortilla de harina, 1,372.8, machaca con verduras, 1,036.6 y chorizo con papas, 768. Estos dos últimos platillos pueden considerarse como alimentos de alto contenido de sodio, ya que en su preparación casera no se les adicionó sal. Después le siguen los tamales de elote con 585.8, calabacitas con queso, 513.4 y ejotes con chile, 509. El alimento con menor aporte de este mineral fue el arroz con leche, que contiene 65.6 mg/100 g.

Potasio — El platillo que acusó mayor cantidad de potasio fue el chorizo con papas, con 466 mg/100 g, seguido de calabacitas con queso, con 258.8 mg/100, y capirotada, con 237 mg/100. Finalmente, los

alimentos con un contenido similar de potasio fueron los tamales de elote, tortillas de harina, machaca con verduras y ejotes con chile. Los alimentos que aportaron más cantidad de potasio, como puede apreciarse, fueron los que incluían alguna verdura como ingrediente. El aporte de potasio fue menor que el sodio en todos los platillos, excepto en el arroz con leche y la capirotada.

Calcio — Los platillos que aportaron mayor cantidad de calcio (mg/100), fueron aquéllos que contienen leche o queso, tales como calabacitas con queso, 244.1; chivichangas de queso, 193.3; capirotada, 180.3 y arroz con leche, 155.2. En cambio, los que contenían menor cantidad de calcio fueron chorizo con papas, menudos, gallina pinta, y sopa de pasta (Tabla 2). Los alimentos que incluyeron el queso como ingrediente también demostraron tener mayor contenido de sodio.

TABLA 2

VALOR PROMEDIO DEL CONTENIDO DE SODIO, POTASIO Y CALCIO
EN PLATILLOS TÍPICOS DE SONORA
(100 g de alimento)

Alimento	Humedad g/100g	Sodio mg/100g	Potasio mg/100g	Calcio mg/100g
Arroz con leche	71.5	65.6	81.0	155.2
Albóndigas con arroz	82.5	334.0	71.7	45.6
Calabacitas con queso	81.2	513.4	258.8	224.1
Caldo de queso	82.5	397.8	114.1	128.2
Capirotada	42.0	156.4	237.0	180.3
Chivichangas de queso	61.6	336.0	139.3	193.3
Chorizo con papas	56.5	768.0	466.0	27.2
Ejotes con chile	77.1	509.0	175.1	45.1
Gallina pinta	84.8	161.8	63.7	38.4
Menudo	85.7	148.3	39.7	35.0
Machaca con verduras	63.3	1,036.6	184.2	84.0
Sopa de pasta	87.5	349.8	48.3	39.3
Tamales de elote	53.5	585.8	218.3	108.1
Tamales de carne	60.5	175.9	87.8	61.0
Tortillas de harina	22.0	1,372.8	213.4	73.3

1 Valor promedio del triplicado, expresado en base húmeda.

Densidad de Nutrientes (mg/1,000 kcal) y Relación Na:K

En cuanto a la densidad de los nutrientes cuantificados (mg/1,000 kcal), en la Tabla 3 se observa que la mayoría de los platillos proporcionan gran cantidad de sodio. De éstos sobresalen: el caldo de

TABLA 3

CONTENIDO DE SODIO, POTASIO Y CALCIO EN PLATILLOS REGIONALES DE SONORA EXPRESADOS COMO DENSIDAD DE NUTRIMENTOS (mg/1,000 kcal) Y SU RELACION Na:K

Alimento	Energía ¹ (kcal/100g)	Na (mg/1,000 kcal)	K	Ca	Na:K
Arroz con leche	118.57	553	683	1,309	0.81
Albóndigas con arroz	120.18	2,772	596	379	4.65
Calabacitas con queso	95.51	5,375	2,709	2,556	1.98
Caldo de queso	53.32	7,460	2,140	2,405	3.48
Capirotada	246.07	635	963	733	0.66
Chivichangas de queso	270.34	1,234	515	715	2.41
Chorizo con papas	369.02	2,081	1,263	74	1.65
Ejotes con chile	92.48	5,504	1,893	448	2.91
Gallina pinta	191.94	842	332	200	2.54
Menudo	135.22	1,096	294	258	3.73
Machaca con verduras	205.71	5,039	895	408	5.63
Sopa de pasta	96.85	3,611	499	406	7.24
Tamales de elote	215.55	2,718	1,013	502	2.68
Tamales de carne	254.21	692	345	240	2.00
Tortillas de harina	398.97	3,441	535	184	6.43

1 Calculada utilizando análisis proximal y los valores energéticos fisiológicos de Atwater (4,9,4 kcal/g), por tratarse de mezclas de alimentos (4).

queso, los ejotes con chile, calabacitas con queso y machaca con verdura. El contenido de sodio de los platillos osciló entre 553 y 7,460 mg de sodio/1,000 kcal (1.38 a 18.65 g NaCl/1,000 kcal) y el de potasio, fue entre 294 y 2,709 mg/1,000 kcal; los platillos regionales por lo tanto, tienen un alto contenido de sodio y bajo en potasio. La información que se expone en esta Tabla 3 puede utilizarse para corregir hábitos alimentarios en personas susceptibles a hipertensión que consuman algunos de estos platillos en grandes cantidades.

Por otro lado, se ha visto que la relación Na:K de la dieta, es probablemente de mayor importancia en la hipertensión, que la ingesta sola de uno u otro mineral (1, 6, 23). El exceso de sodio en la dieta altera esta relación, por lo que se analizó este factor en los platillos. En la Tabla 2 se puede apreciar que la relación Na:K de estos alimentos acusó una variación amplia, entre 0.66 y 7.24. En consecuencia, todos los platillos sobrepasaron la recomendación de 0.58 (2), indicando con ello que tienen alto contenido de sodio y bajo en potasio. Hubo dos alimentos que estuvieron cercanos a esta recomendación: la capirotada, y el arroz con leche, que tuvieron 0.66 y 0.81, respectivamente. Además, estos alimentos tenían buen contenido de calcio (180.3 y 155.2 mg/100 g, respectivamente), por lo que se podrían sugerir como alimentos tipo postre susceptibles de incluirse en una

dieta con bajo contenido de sodio.

No obstante, a los sujetos que necesitan consumir una dieta hiposódica, se les recomienda cuidar la relación Na:K de los platillos, ya que en los regionales hay un alto contenido de sodio y un bajo aporte de potasio. Así, también cabría sugerir que se aumente la ingesta de potasio consumiendo mayor cantidad de frutas y vegetales frescos, a fin de que la relación Na:K se vea disminuida. Según se ha mencionado en otros estudios, esta última tiene influencia en pacientes con hipertensión (5, 23).

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Dr. Luis A. Mejía por sus acertadas sugerencias y comentarios. Asimismo, agradecen a Marissa Pérez la transcripción del manuscrito.

SUMMARY

SODIUM, POTASSIUM AND CALCIUM CONTENTS IN REGIONAL DISHES CONSUMED IN SONORA, MEXICO

The content of sodium, potassium and calcium was determined in 15 regional dishes, by atomic absorption spectrophotometry. The Na:K ratio was high in most of the dishes due to the high sodium content and low content of potassium found. The higher sources of the studied minerals were "tortilla de harina" with 1,372.8 mg/100 g of sodium; "chorizo con papas" with 466 mg/100 g of potassium, and "calabacitas con queso" with 244.1 mg/100 g of calcium. Two of the dishes considered as desserts, "capirotada" and "arroz con leche" showed the lowest Na:K ratio (0.66 and 0.81, respectively).

BIBLIOGRAFIA

1. Fregly, M. Estimates of sodium and potassium intake. *Annals of Internal Med.*, 98 (part 2): 792-799, 1983.
2. Holbrook, J., K. Patterson, J. Bodner, L. Douglas, C. Veillon, J. Kelsay, W. Mertz, & C. Smith. Sodium and potassium intake and balance in adults consuming self-selected diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, 40: 786-793, 1984.
3. Valencia, M., R. Jardines, E. Noriega, R. Cruz, I. Grijalva, & C. Peña. The use of 24-hour recall data from nutrition surveys to determine food preference, availability, and food consumption baskets in populations. *Nutr. Reps. Internat.*, 28: 815-823, 1983.
4. Food and Nutrition Board. *Recommended Dietary Allowances*. 9th rev. Washington, D.C., National Academy of Sciences, 1980, 170 p.
5. Weinsner, R. Salt and the development of essential hypertension. *Preventive Medicine*, 5: 7-14, 1976.
6. Wolf, I., N. Raper, & J. Rosenthal. USDA activities in relation to sodium issue-1981-83. *Food Technol.*, 37: 59-63, 1983.
7. MacGregor G., F. Best, J. Cam, N. Markandu, D. Elder, & G. Sagnella. Double-blind

- randomised crossover trial of moderated sodium restriction in essential hypertension. *The Lancet*, 1: 351-355, 1982.
8. Beard, T., W. Gray, H. Cooke & R. Barge. Randomised controlled trial of a no-added-sodium diet for mild hypertension. *The Lancet*, 2: 455-458, 1982.
 9. Camirand, W., J. Randall, K. Popper, & B. Andich. Low-sodium/high-potassium fermented sauces. *Food Technol.*, 37: 81-85, 1983.
 10. Ophir, O., G. Peer, J. Gilad, M. Blum & A. Aviram. Low blood pressure in vegetarians: The possible role of potassium. *Am. J. Clin. Nutr.*, 37: 755-762, 1983.
 11. Khaw, K. & S. Thom. Randomised double-blind cross-over trial of potassium on blood-pressure in normal subjects. *The Lancet*, 2: 1127-1129, 1982.
 12. Iimura, O., T. Kijima, K. Kikuchi, A. Miyama, T. Ando, T. Nakao, & Y. Takigami. Studies on the hypotensive effect of high potassium intake in patients with essential hypertension. *Clin. Sci.*, 61: 77s-80s, 1981.
 13. Ayachi, S. Increased dietary calcium lowers blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Metabolism*, 28: 1234-1238, 1979.
 14. Belizán, J., O. Pineda, E. Saínz, A. Menéndez, A. González & J. Villar. Efectos sobre la ingesta de calcio sobre la tensión arterial. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 32: 38-43, 1982.
 15. McCarron, D., C. Morris, H. Henry & J. Stanton. Blood pressure and nutrients intake in the United States. *Science*, 224: 1392-1398, 1984.
 16. Castenmiller, J., R. Mensik, L. van der Heijden, T. Kouwenhoven, J. Hautvast, P. de Leeuw & G. Schaafsma. The effect of dietary sodium on urinary calcium and potassium excretion in normotensive men with different calcium intakes. *Am. J. Clin. Nutr.*, 41: 52-60, 1984.
 17. Instituto Nacional de la Nutrición (INN). *Valor Nutritivo de los Alimentos. Tablas de Uso Práctico*, 8a. ed. México, D.F., El Instituto, 1980, p. 6-32.
 18. Wu Leung, Woot-Tsuen, con la colaboración de Marina Flores. *Tabla de Composición de Alimentos para Uso en América Latina* ("Food Composition Table for Use in Latin America"). Preparada bajo los auspicios del Comité Interdepartamental de Nutrición para la Defensa Nacional, Instituto Nacional para Artritis y Enfermedades Metabólicas, Institutos Nacionales de la Salud, Bethesda, Maryland, EE.UU., y del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, ciudad de Guatemala, C.A. Washington, D.C., U.S. Government Printing Office, junio, 1961, 132 p.
 19. Jardines, R., M.C. Bermúdez, P. Wong & G. León. Platos típicos consumidos en Sonora: Regionalización y aporte de nutrientes. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 35: 586-602, 1985.
 20. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 14th ed. Washington, D.C., The Association, 1984, p. 152.
 21. Perkin Elmer. *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry*. The Perkin Elmer Corporation, 1971, p. AY-5.
 22. Noller, B.N. & H. Bloom. Method of analysis for major and minor elements in foods. *Food Technol. Australia*, 1: 11-23, 1978.
 23. Miller, G.D. Sodium, potassium and blood pressure - an epidemiologic study. *J. Nat. Med. Assoc.*, 76: 47-52, 1984.

NUEVOS LIBROS

Compendio de Enfermedades Alérgicas e Inmunológicas. — (Edición original en inglés: Primer on Allergic and Immunologic Diseases, publicada en el JAMA, el Journal of the American Medical Association, Vol. 258, No. 20, November 27, 1987). Preparado por la Academia Americana de Alergia e Inmunología. Dr. Richard F. Lockey (Editor) y Dr. Samuel C. Bukantz, (Editor Asociado). La traducción al español fue realizada por la Dra. Marta Pulido. Washington, D.C., Organización Panamericana de la Salud, 1989. 288 p. (Publicación Científica No. 513). ISBN 92 75 31513 2.

En los últimos años la Organización Panamericana de la Salud ha asumido un profundo compromiso con la identificación de conocimientos relevantes útiles para los trabajadores de salud en la tarea diaria de enfrentar los problemas prevalentes de salud que afectan a los habitantes de la Región. Por esta razón, dedica una parte importante de sus recursos de cooperación técnica a la amplia diseminación de conocimientos científicos necesarios para cumplir ese objetivo.

Como lo manifiesta el prólogo a la edición en español, la publicación que nos ocupa "es una expresión genuina del compromiso de la Organización con el propósito antes enunciado. Las enfermedades de naturaleza alérgica o inmunológica representan una parte importante de la demanda de atención de salud en las Américas, y se requieren sólidos conocimientos básicos sobre ellas para hacerles frente a otros muchos problemas de salud. Y como los nuevos conocimientos en ese campo avanzan permanentemente, la OPS no dudó en traducir al español esta importante obra.

Dos objetivos fundamentales del Compendio son resumir los hallazgos básicos de la inmunología y su aplicación práctica a la medicina clínica, y servir de guía para profundizar los estudios científicos del sistema inmune y de las enfermedades alérgicas."

El volumen contiene un total de 26 capítulos en los que se tratan temas como los siguientes: investigaciones inmunológicas sobre la patogenia del SIDA; la aplicación experimental de las citoquinas derivadas de los linfocitos y de los macrófagos así como de otros agentes modificadores de la respuesta inmune en las enfermedades neoplásicas; la preparación de nuevos compuestos antiinflamatorios para el tratamiento de las reacciones de hipersensibilidad inmediatas y tardías, y el descubrimiento de nuevos mediadores derivados de los mastocitos, para citar algunos ejemplos tan sólo de los nuevos conocimientos adquiridos recientemente y que se incluyen también en este Compendio.

Esta obra, brevemente, tiene por finalidad resumir la aplicación práctica de los conocimientos básicos de la inmunidad a la medicina clínica, empezando por la

actualización de los principios de la inmunología. Los conocimientos en el campo de la inmunología son esenciales para que los clínicos modernos de todas las especialidades puedan contribuir a la tarea de detener la progresión epidémica del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, y tratar tanto las enfermedades malignas, infecciones y atópicas como la autoinmunidad.

El Compendio, por lo consiguiente, servirá de guía a estudiantes, médicos generales y especialistas interesados en un estudio más extenso de los aspectos científicos de las enfermedades alérgicas e inmunológicas.

Para mayores detalles en cuanto a su adquisición, se sugiere dirigirse a: Servicio Editorial de la Organización Panamericana de la Salud, 525 - Twenty-third Street, N.W., Washington, D.C. 20037, EUA.

Obesity In Europe 88. — Proceedings of the 1st European Congress on Obesity, 5-8 June 1988, Stockholm, Sweden. Edited by Per Björntorp (University of Göteborg, Sweden) and Stephan Rössner (University of Stockholm, Sweden). London-Paris, John Libbey & Company Ltd., 1989, 380 p. Precio: 30 libras esterlinas. ISBN 0 86196 167 6. ISSN 0955-6389.

El primer Congreso Europeo sobre Obesidad se celebró en Estocolmo, Suecia, en las fechas indicadas, y constituye la primera reunión de la Asociación Europea para el Estudio de la Obesidad (EASO), de reciente organización. Fue, en verdad, una impresionante demostración de la calidad e intensidad de la investigación europea en este campo. El trabajo global cubrió amplias y muy diversas áreas: biología molecular y psicología, por ejemplo, y según lo atestiguan las Memorias, incluye varias ideas originales y adelantadas muy a la vanguardia de la investigación. Si este Congreso ha de tomarse como criterio para nuevas y similares reuniones, podremos ver gran progreso en este campo en un breve lapso, según lo prevé el Prefacio.

Muy someramente, ajeno al Prefacio, el libro contiene un total de 10 capítulos en los que se tratan los temas siguientes. Capítulo 1 — “Conferencia Plenaria sobre Ordenamiento Neuroendocrino del Hambre y la Saciedad.” II — “Artículos de Revisión”, capítulo que trata temas tales como “La base molecular del crecimiento del tejido adiposo.” El Capítulo III — “Estudios Clínicos y Epidemiológicos” cubre 10 tópicos diferentes. IV — “Factores Patógenos” comprende cinco interesantes trabajos. V — “Ordenamiento Neuroendocrino de la Ingesta de Alimentos”, expone también 10 temas de gran interés. Capítulo VII — “Metabolismo Regional del Tejido Adiposo” incluye un total de ocho trabajos relacionados con el tema. VIII — “Aspectos Terapéuticos”, incluye cuatro trabajos. IX — “Principios del Tratamiento Farmacológico”, abarca cinco trabajos y el último Capítulo, X — “Problemas Metodológicos”, también con cinco presentaciones. El texto —que abarca en total 56 trabajos originales— se acompaña de un Índice por Materia y un Índice por Autores.

El libro puede obtenerse de John Libbey & Company, Limited: Smiths Yard, Summerley Street, London SW18 4 HR, England, enviando su cheque por la suma de 30 libras esterlinas, juntamente con su solicitud.

NOTAS

DE INTERES PARA LOS LECTORES

LA XIV REUNION INTERNACIONAL DEL GRUPO CONSULTIVO DE VITAMINA A (IVACG) SE CELEBRARA EN ECUADOR EN JUNIO DE 1991. LAS PERSONAS INTERESADAS EN PRESENTAR INFORMES CORTOS DE INVESTIGACIONES PUEDEN DIRIGIRSE A LAURIE LINDSAY, R.D., SECRETARIA DE IVACG, THE NUTRITION FOUNDATION, INC., 1126, SIXTEENTH STREET, N.W., WASHINGTON, D.C., 200336.

**VIII CONGRESO LATINOAMERICANO DE ENFERMEDADES
DE TRANSMISION SEXUAL Y SIDA**

**Santiago, Chile
1 a 4 de septiembre de 1991**

Este Congreso, realizado por la Unión Latinoamericana contra las Enfermedades de Transmisión Sexual (ULACETS), que será patrocinado por la Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS), tendrá su organización a cargo de la Fundación Nacional contra el SIDA (FUNACS).

De conformidad con datos disponibles al momento, este evento se dividirá por especialidades, tanto médicas como no médicas, sociología, leyes, teología, educadores, etc., y se dará especial importancia al profesional joven con el fin de estimular el interés por el tema, que ocupará por muchos años el quehacer social y médico latinoamericano.

Desde ahora, pues, se hace del conocimiento de todos los profesionales que cualquiera de ellos que considere puede aportar algo a este Congreso, envíe su tema y *curriculum vitae* para avalar su petición. Los mejores trabajos de los jóvenes serán premiados con estadía e inscripción gratuita y otras modalidades que se están estudiando en conjunto con la Organización Panamericana de la Salud.

Según reza la nota que a este particular nos enviara gentilmente el Dr. Juan Bernal, Editor de la *Revista Chilena de Enfermedades de Transmisión Sexual* (ETS), y Presidente del VIII Congreso Latinoamericano ETSySIDA, para Latinoamérica, la cuota de inscripción será de US\$100.00, y la recepción de trabajos durará hasta el 31 de mayo de 1991.

En vista de la gravedad de las proyecciones del SIDA, tan pronto tengamos mayores detalles en lo relativo a este evento, gustosos los haremos del conocimiento de los lectores en un número próximo de ALAN.

IX CONGRESO LATINOAMERICANO DE NUTRICION

"CONRADO F. ASENJO"

PRIMER CONGRESO IBEROPANAMERICANO DE NUTRICION

San Juan, Puerto Rico, Septiembre 22-26 de 1991

**Para mayor información sobre el particular, se sugiere a los interesados
escribir a:**

**G.P.O. Box 2156. San Juan, Puerto Rico 00936
Teléfono (809) 758-2525 Ext. 1433 y 1460. FAX (809)759-6719**

Se agradece la valiosa ayuda que al mantenimiento de esta Revista prestan las siguientes instituciones y entidades comerciales:

ENTIDADES PATROCINANTES

Fundación CAVENDES (Caracas, Venezuela)

**Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
(Guatemala, Guatemala)**

KELLOGG'S AMERICA LATINA

PRODUCTOS ROCHE (GUATEMALA), S.A.

INFORMACION PARA LOS AUTORES

A. CONTRIBUCIONES A LA REVISTA

La Revista publica Editoriales, Artículos Generales, Trabajos de Investigación y de Nutrición Aplicada, y Cartas al Editor. Para su aceptación, las diversas contribuciones deben tratar temas de nutrición humana o animal, ciencia y tecnología de alimentos, factores socioeconómicos, de orden antropológico o cultural, relacionados con la nutrición humana.

1. Los *Artículos Generales* son revisiones críticas sobre algún tema de interés en el campo de la nutrición y ciencias afines, o discusiones generales que contengan criterios propios o recomendaciones de aplicación práctica, debidamente respaldadas por argumentos válidos.
2. Los *Trabajos de Investigación* se refieren a los resultados de estudios de experimentación llevados a cabo hasta el punto que permite la deducción de conclusiones válidas.
3. Los trabajos de *Nutrición Aplicada* conciernen a la implementación de medidas basadas en la investigación, cuya finalidad es mejorar el estado nutricional de nuestras poblaciones.
4. Las *Cartas al Editor* son notas cortas, de un máximo de 3 páginas, sobre temas de interés general u observaciones o críticas sobre alguna contribución publicada en la Revista.

B. NORMAS PARA LA ELABORACION DE MANUSCRITOS

1. Las diversas contribuciones deben ser originales, a máquina, a doble espacio y en triplicado.
2. Los trabajos serán remitidos al Editor General de la Revista después de haber sido cuidadosamente revisados por el autor.
3. Los manuscritos pueden ser redactados en español, inglés, portugués y francés, según la preferencia del autor.
4. No se aceptarán trabajos que, a juicio del Editor General, ocupen desproporcionado espacio.

C. ORGANIZACION DEL MANUSCRITO

Se recomienda organizar cada manuscrito como sigue:

1. *Título*

La primera página del manuscrito debe contener el título completo del trabajo en mayúsculas, nombre completo y apellido del autor, institución de origen con letras iniciales mayúsculas y el resto en minúscula. (En la página siguiente debe indicarse el cargo que cada autor desempeña, identificándolos debidamente).

2. *Resumen en el idioma original del artículo*

Este debe ser informativo, presentado en hoja separada del texto, y preparado en forma clara y concisa para el lector que no ha leído el texto del artículo. Debe especificar también el propósito, método, resultados importantes y principales conclusiones.

3. *Introducción*

Debe indicar claramente el objetivo o hipótesis de la investigación y sus relaciones con la nutrición y otros trabajos existentes, evitándose largas revisiones bibliográficas.

4. *Material y Métodos*

La descripción de los materiales debe hacerse en forma concisa. Cuando las técnicas o procedimientos utilizados hayan sido publicados, deberán mencionarse, e incluir sólo los detalles de técnica que representan modificaciones substanciales del procedimiento original. Cuando se utilicen términos locales o regionalismos, éstos deberán ser aclarados mediante su denominación científica o de uso general.

5. *Resultados*

Estos se presentarán en lo posible en *Tablas y/o Gráficas* que serán respaldadas por cálculos estadísticos, evitando la repetición de datos y seleccionando la forma que en cada caso resulte adecuada para la mejor interpretación de los resultados. Si hubiera subdivisiones ellas se encabezarán con un subtítulo.

a) Las gráficas e ilustraciones deberán ser presentadas en fotografías de papel brillante, no montadas, y llevar el nombre del autor y el número correspondiente en el dorso. Cuando sea necesario deberá señalarse la parte superior e inferior de la gráfica.

b) En caso de dibujos o esquemas, éstos serán realizados en tinta negra en papel de buena calidad. La ubicación de cada gráfica deberá indicarse, a lápiz, al margen del texto original. Los símbolos deberán especificarse en la propia gráfica.

c) Los ejes (coordenadas) de las ilustraciones deben tener una indicación clave del fenómeno que representan, así como de las unidades de medida.

d) Cada gráfica o ilustración deberá identificarse con la leyenda respectiva y contar con los datos imprescindibles para su interpretación.

e) Las tablas deben numerarse según su orden de presentación en el texto y se entregarán en hojas aparte.

f) Cada tabla debe contener un breve título que indique claramente su contenido. Las aclaraciones a las tablas deben hacerse mediante notas al pie, y se identificarán con letras minúsculas consecutivas colocadas como post-fijo superior en la cifra o valor correspondiente. Los encabezamientos de las columnas deben ser cortos o abreviados, incluyéndose, en nota al pie, una aclaración en caso necesario. Las líneas horizontales deben reducirse al mínimo y nunca usar las verticales.

g) En cada columna se indicará claramente la medida usada, por ej., mg/g, etc. Para concentraciones no se debe usar la expresión % sino, por ej. g/100 g ó mg/100 ml. Se deben indicar con claridad todas las pruebas estadísticas usadas. Las tablas deben tener toda la información necesaria para su interpretación.

h) No debe presentarse simultáneamente el mismo material experimental en forma de tablas y gráfica.

6. *Discusión*

Debe ser breve y restringirse a los hechos significativos del trabajo. Es recomendable usar subtítulos en las diversas secciones del manuscrito, indicando las diferentes materias tratadas. En caso que, a juicio de los autores, la naturaleza del trabajo lo permita, puede hacerse una discusión de los resultados inmediatamente después de su expresión, bajo el título general de RESULTADOS Y DISCUSION. Lo expresado en los incisos a) a h) en la sección precedente, aplican igualmente a esta sección.

7. *Resumen en inglés*

Todo trabajo deberá acompañarse de un resumen en inglés, si el trabajo original fuese en español, francés o portugués. Si el trabajo es en inglés, este resumen debe presentarse en español. El título del trabajo también debe redactarse en inglés.

8. *Agradecimiento* (si lo hubiere)

9. *Citas bibliográficas y Bibliografía*

Las citas bibliográficas se indican con números arábigos en el texto, entre paréntesis y por orden de aparición, no por orden alfabético de autores.

Para la Sección *Bibliografía*, al final del trabajo, aplican las mismas normas y serán presentadas de acuerdo a los siguientes ejemplos:

a) De revistas:

Liendo Coll, P. & J.M. Bengoa. Necesidades calóricas de la población venezolana. *Arch. Venez. Nutr.*, 5: 39-50, 1954.

b) De libros:

Gómez, P., F. Silvio & R. Gámora. *Los Aminoácidos en Alimentos*. Caracas, Ed. Futura, 1972, p. 30.

c) De libros sin autor individual:

Asociacion of Official Agriculturas Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 12th ed. Washington, D.C., The Association, 1975, p. 30.

d) De un artículo o capítulo de un autor(es) consignado en un libro publicado por casa editora:

Hoskins, W.G. & M. Charles. Macaroni production. En: **The Chemistry and Technology of Cereals as Food and Feed**. S.A. Matz (Ed.). Westport, Conn., The Avi Publishing Co., 1959, p. 274-320.

e) De cita de compendios:

Krebs, H.A. & K. Henseleit. Urea formation in animal body. **Z. Physiol. Chem.**, 210: 33-66, 1932. (Original no consultado; compendiado en **Chem. Abst.**, 26: 5624, 1923).

10. *Notas al pie de la página*

Las notas al pie de la página deben ser reducidas al mínimo. Cuando su inclusión sea necesaria deberá indicarse su orden de aparición en el texto mediante números arábigos, consecutivos colocados como post-fijo superior. (Estas notas se redactan, debidamente identificadas, en la 2a. hoja del manuscrito, después de la identificación de los autores).

11. *Abreviatura y siglas*

Se deben usar las abreviaturas aceptadas internacionalmente (American Chemical Society, Journal of Nutrition, British Journal of Nutrition). En caso de utilizarse siglas poco comunes, que se repitan frecuentemente en el manuscrito, deberán indicarse completas la primera vez que se citan, seguidas de la sigla entre paréntesis. De preferencia, deberán usarse las siglas internacionales en vez de las del idioma original del artículo, por ej., DNA, RNA, PER, etc. Todas las abreviaciones y siglas se usan sin punto, g, b, m, etc.

12. *Nomenclaturas*

Deberá usarse la nomenclatura de la Unión Internacional de Ciencias de la Nutrición (IUNS) para vitaminas y otros nutrientes. En las unidades de medición se empleará el Sistema Métrico Decimal. Para las unidades de energía se usarán caloría (Cal) o Joules (J) indiscriminadamente.

13. *Resultados numéricos*

Al consignar números se usará el punto (.) para indicar decimales, p. ej. 35.7; 389.9, y la coma (,) para indicar miles, millones, etc.

D. SEPARATAS

El costo de las separatas o sobretiros de los trabajos es de US\$3.00 por página de 25 separatas. El autor(es) deberá notificar a la Oficina Editorial el número de separatas deseado tan pronto se le informe que su trabajo ha sido aceptado.

E. CARGO POR PAGINA

La Revista es un órgano de divulgación científica sin fines de lucro y es mantenida fundamentalmente con donaciones. Sin embargo, a los efectos de contribuir con los gastos de publicación, la Asamblea General de la SLAN ha creado un cargo de US\$12.00 por página de trabajo publicado. La Oficina Editorial puede considerar una reducción por concepto de cargo por página previa solicitud expresa dirigida en ese sentido por el autor(es). Tan pronto como su factura sea cancelada, se les proporcionará 25 separatas libres de costo.

SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION (SLAN)

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada el 10 de noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental. La actual Junta Directiva de la SLAN está constituida por los siguientes miembros:

Dr. Jaime Ariza – Presidente
Dr. Eleazar Lara Pantín – Vicepresidente
Prof. Hilda Díaz – Secretaria
Lic. María de los Angeles Díaz – Tesorera
Dr. Sergio Valiente – Presidente saliente
Lic. María Teresa Menchú – Vocal
Dr. José María Bengoa – Vocal
Dr. José Maguiña – Vocal
Dr. Helio Vannucchi – Vocal
Dra. Sara Josefina Ciosa – Presidente Capítulo Argentino
(Consejo Directivo 1989–1991)

Dirección actual hasta el 31 de diciembre de 1991:

Facultad de Ciencias Biosociales y Escuela Graduada de Salud Pública
Universidad de Puerto Rico
Recinto de Ciencias Médicas
G.P.O. Box 2156
San Juan, Puerto Rico 00936

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Integrado por miembros de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición
Editor General: Dr. Ricardo Bressani
Jefe, Oficina Editorial y de Publicación: Sra. Amalia G. de Ramírez
Encargada de Asuntos Administrativos: Srta. Carmen Noemi Castro

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL – PERIODO 1989–1991

Dr. Juan Alvarado	Dr. J.E. Dutra de Oliveira
Dr. Héctor Araya	Dr. Wener G. Jaffé
Dra. Julia Araya	Dr. Franco M. Lajolo
Lic. Adriana Blanco	Dr. Alfredo Lam-Sánchez
Dr. José Belizán	Dr. Reynaldo Martorell
Lic. Concha M. de Bosque	Dr. Luis A. Mejía
Dr. Héctor Bourges	Dra. Josefina Morales
Dr. Adolfo Chávez	Dra. Nelly Pak
Dr. José Félix Chávez	Dr. Nelson de Souza
Dr. Hernán Delgado	Dr. Emilio Vargas

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

CONTENIDO

	Página
EDITORIAL	143
ARTICULOS GENERALES	
Características químicas y bioquímicas de la biomasa microbiana. — <i>Carlos Rötz</i>	147
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION HUMANA	
La prevención de caries a través de un vehículo nutricional. — <i>Alberto Villa, Sonia Guerrero, Patricia Cisternas y Fernando Mönckeberg</i>	197
Hemoglobin-fortified biscuits: Bioavailability and its effect on iron nutriture in school children. — <i>Manuel Olivares, Eva Hertrampf, Fernando Pizarro, Tomás Walter, Marisol Cayazzo, Sandra Llaguno, Patricia Chadud, Nelson Cartagena, Virginia Vega, Mirna Amar and Abraham Stekel</i>	209
BIOQUIMICA NUTRICIONAL	
Biodisponibilidade de zinco em dieta regional de São Paulo. — <i>R.P. Dantas e S.M.F. Cozzolino</i>	221
Efecto del aumento de los ácidos grasos poliinsaturados (Omega 6) dietéticos en el contenido de glutatión hepático y actividad de gama glutamil transpeptidasa en riñón de ratas. — <i>Julia Araya, Gloria Vera, Héctor Araya y Nelly Pak</i>	231
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Avaliação sensorial e nutricional de macarrão suplementado com concentrado protéico de pescado. — <i>Neuza Maria Brumoro Costa, Dilson Teixeira Coelho e Mitsué Hironaka Bicudo</i>	240
Chemical composition of a mixture of single-cell protein obtained from <i>Kluyveromyces fragilis</i> and whey proteins. — <i>Amanda Gálvez, María de Jesús Ramírez and Mariano García-Garibay</i>	252
Efecto de los tratamientos caseros en la preparación de frijol pinto (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) sobre el contenido de taninos y valor nutritivo de las proteínas. — <i>Francisco Goycoolea, Elvira González de Mejía, Jesús M. Barrón y Mauro E. Valencia</i>	263
Estudio de las variaciones en macronutrientes y valor nutritivo de la proteína de una conserva de atún a los tres años de su preparación. — <i>Marta Trinidad García Arias, Ana Marta Castrillón Díaz y María del Pilar Navarro Martos</i>	275
LATINFOODS - COMPOSICION DE ALIMENTOS	
Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from Northeastern Brazil. — <i>Hana K. Arima and Delia B. Rodríguez-Amaya</i>	284
Contenido de sodio, potasio y calcio en platillos típicos consumidos en Sonora, México. — <i>Marta Isabel Grijalva Haro, Mauro E. Valencia y Jane Wyatt</i>	293
NUEVOS LIBROS	303
NOTAS	305
ENTIDADES PATROCINANTES	308
INFORMACION PARA LOS AUTORES	309