

VOL. XXXVIII

JUNIO 1988

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. XXXVIII

JUNIO, 1988

No. 2

CONTENIDO

	Página
EDITORIAL	205
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION HUMANA	
Estado nutricional con respecto al calcio en la Argentina. — <i>Susana N. Zeni y María L. de Portela</i>	209
BIOQUIMICA NUTRICIONAL	
Influencia del nivel proteínico dietario sobre el patrón electroforético y los niveles de Ig G e Ig M plasmáticos en ratas gestantes y sus neonatos. — <i>Pilar Varela, Emilia Muñoz-Martínez, Ascensión Marcos y Ma. Teresa Unzaga</i>	219
Cholesterolemic effects of the lysine/arginine ratio in rabbits after initial early growth. — <i>Albert Sánchez, Donna A. Rubano, Gerald W. Shavlik, Richard W. Hubbard and Merritt C. Horning</i>	229
Separate effects of dietary protein and fat on serum cholesterol levels: Another view of amino acid content of proteins. — <i>Albert Sánchez, Donna A. Rubano, Gerald W. Shavlik, Patrick Fagenstrom, U. D. Register and Richard W. Hubbard</i>	239
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. II. Evaluación del valor nutritivo de sus proteínas. — <i>Ramón Pacheco, Mauro Valencia, Mónica Esparza, Rebeca Domínguez, Natalia González-Méndez y Enrique Ramos</i>	251
Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. III. Evaluación sensorial con panelistas no entrenados. — <i>Mónica Esparza, Rebeca Domínguez, Natalia González-Méndez, Ramón Pacheco y Enrique Ramos</i> ..	261

Desarrollo de un producto alimenticio a base de arroz para uso infantil. — <i>E. Segura V., G. Mahecha L., B. E. Moreno S. y G. S. Rodríguez</i>	278
Utilização do girassol (<i>Helianthus annus</i> , L.) na alimentação humana. I. Obtenção de farinha de girassol, concentrado proteico e complementação dessa farinha com aminoácidos lisina e metionina. — <i>Jocelem Mastrodi Salgado e Eliza Chieus</i>	288
Utilização do girassol (<i>Helianthus annus</i> L.) na alimentação humana. II. Enriquecimento do concentrado proteico de girassol com farinha de peixe e de gergelim. — <i>Jocelem Mastrodi Salgado e Eliza Chieus</i>	297
Estudo da semente de gergelim (<i>Sesamum indicum</i> L.). I. Métodos para obtenção de farinha branca comestível. — <i>Jocelem Mastrodi Salgado e Claudia M. M. Gonçalves</i>	306
Estudo da semente de gergelim (<i>Sesamum indicum</i> , L.). II. Emprego da farinha de gergelim em misturas proteicas. — <i>Jocelem Mastrodi Salgado e Claudia M. M. Gonçalves</i>	312
TOXICOLOGIA DE ALIMENTOS	
Influencia de aflatoxina B ₁ sobre o crescimento de ratos submetidos a diferentes condições nutricionais. — <i>Maria Auxiliadora Gonçalves Lapa, Sergio Miguel Zucas, Francisca Martins Bion, Sylvia Ramos de Albuquerque Barros, Eunice Salzano Lago e Ramanita Mayer Varela</i>	323
LATINFOODS — COMPOSICION DE ALIMENTOS	
Estudio comparativo de la composición química, contenido aminoacídico y valor nutritivo de la merluza fresca y congelada, y salada, secada y rehidratada. — <i>Ruth M. González Badano</i>	330
Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. I. Evaluación química y microbiológica. — <i>Rebeca Domínguez, Mónica Esparza, Ramón Pacheco y Natalia González-Méndez</i>	345
NUEVOS LIBROS	357
NOTAS	359
INFORMACION PARA LOS AUTORES	363

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXXVIII

JUNE, 1988

No. 2

CONTENTS

	Page
EDITORIAL	205
RESEARCH PAPERS	
HUMAN NUTRITION	
Calcium nutritional status in Argentina. — <i>Susana N. Zeni and María L. de Portela</i>	209
NUTRITIONAL BIOCHEMISTRY	
Influence of dietary protein level on electrophoretic pattern and Ig G and Ig M levels in plasma of pregnant rats and their offspring. — <i>Pilar Varela, Emilia Muñoz-Martínez, Ascensión Marcos and Ma. Teresa Unzaga</i>	219
Cholesterolemic effects of the lysine/arginine ratio in rabbits after initial early growth. — <i>Albert Sánchez, Donna A. Rubano, Gerald W. Shavlik, Richard W. Hubbard and Merritt C. Horning</i>	229
Separate effects of dietary protein and fat on serum cholesterol levels. Another view of amino acid content of proteins. — <i>Albert Sánchez, Donna A. Rubano, GERAL W. SAVLIK, Patrick Fagenstrom, U.D. Register and Richard W. Hubbard</i>	239
FOOD SCIENCE	
Quality characterization of different brands of bologna in Mexico. II. Evaluation of the nutritive value of the proteins. — <i>Ramón Pacheco, Mauro Valencia, Mónica Esparza, Rebeca Domínguez, Natalia González-Méndez and Enrique Ramos</i>	251
Quality characterization of different brands of bologna in Mexico. III. Evaluation by an untrained sensory panel. — <i>Mónica Esparza, Rebeca Domínguez, Natalia González-Méndez, Ramón Pacheco and Enrique Ramos</i>	261

Development of an infant food product based on rice. — <i>E. Segura V., G. Mahecha L., B.E. Moreno S. and G.S. Rodríguez</i>	278
Utilization of sunflower (<i>Helianthus annus</i> , L.) in human foods. I. Obtention of sunflower meal, protein concentrate, and complementation of the meal, with the amino acids lysine and methionine. — <i>Jocelim Mastrodi Salgado and Eliza Chieus</i>	288
Utilization of sunflower (<i>Helianthus annus</i> , L.) in human foods. II. Enrichment of the sunflower protein concentrate with fish and sesame meals. — <i>Jocelim Mastrodi Salgado and Eliza Chieus</i>	297
Study of the sesame seed (<i>Sesamun indicum</i> , L.). I. Methods for obtaining an edible white meal. — <i>Jocelim Mastrodi Salgado e Claudia M. M. Gonçalves</i>	306
Study of the sesame seed (<i>Sesamum indicum</i> , L.). II. Use of the meal in protein mixtures. — <i>Jocelim Mastrodi Salgado e Claudia M. M. Gonçalves</i>	312
FOOD TOXICOLOGY	
Influence of aflatoxin B ₁ on growth of rats subjected to different nutritional conditions. — <i>María Auxiliadora Gonçalves Lapa, Sergio Miguel Zucas, Francisca Martins Bion, Sylvia Ramos de Albuquerque Barros, Eunice Salzano Lago e Ramanita Mayer Varela</i>	323
LATINFOODS — FOOD COMPOSITION	
Comparative study on the chemical composition, amino acid content and nutritive value of fresh and frozen, and salted, dried and rehydrated hake. — <i>Ruth M. González Badano</i>	330
Quality characterization of different brands of bologna in Mexico. I. Chemical and microbiological evaluation. — <i>Rebeca Dominguez, Mónica Esparza, Ramón Pacheco and Natalia González-Méndez</i>	345
NEW BOOKS	357
NOTES	359
INSTRUCTIONS TO AUTHORS	363

EDITORIAL

NECESIDAD DE UN ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO EN LA INDUSTRIALIZACION DE ALIMENTOS BASICOS

Durante los últimos años, los países latinoamericanos, al igual que muchos otros dentro del gran grupo de países en vías de desarrollo, han ido cambiando hacia una situación socioeconómica en la que la necesidad del desarrollo agroindustrial se hace más que evidente. Los cambios más fuertes en este sentido son: el incremento poblacional, el grado de urbanización y el incremento en la población urbana, lo que a su vez induce cambios en el estilo de vida, que incluye cambios en los sistemas alimentarios; la situación económica de los países generalmente es muy poco favorable; los elevados índices de dependencia alimentaria son tan sólo algunos de los factores que sugieren la necesidad de un desarrollo agroindustrial que no sólo considere los productos de exportación, sino también y con mayor énfasis, los llamados alimentos básicos.

Por el otro lado, sin embargo, el desarrollo agroindustrial es mucho más complejo y difícil de lo que aparenta, siendo factores muy importantes en este proceso, los siguientes: la producción agrícola todavía muy deficitaria; el mercado muy limitado por el ingreso y la poca capacidad de compra; la educación y el estado socioeconómico de la población, y los difíciles sistemas de distribución y mercadeo, entre otros. De importancia en esta actividad, por lo tanto, es una firme y sólida asociación con la industria alimentaria del país, que trabaje con los grupos cuyo interés se centra en el desarrollo de materia prima y de producto.

A pesar de ello, el desarrollo agroindustrial de los alimentos básicos puede vislumbrarse como una solución atractiva a muchos de los problemas que afectan a nuestras poblaciones. Por ejemplo, para la generación de empleo y por consiguiente, de ingreso; como un incentivo al incremento de la producción; como una solución más a las pérdidas postcosecha; para favorecer el desarrollo económico, ahorrando divisas en la importación de alimentos; para reducir los costos energéticos del hogar y, así conservar los bosques; como una forma más de incrementar la disponibilidad de los alimentos, y también como un medio más para eliminar los problemas de la desnutrición en las Américas, y lograr la Seguridad Alimentaria.

Los aspectos a que se ha hecho referencia son los que puntualizan el por qué existe interés y necesidad en la industrialización de alimentos, así como en los factores que interfieren en su rápida aceptación y desarrollo. Los beneficios que de ella se pueden derivar no serán fáciles de aplicar a menos que se acepte que el desarrollo agroindustrial de los alimentos es un esfuerzo que se logrará con mayor facilidad y beneficio para la población cuando se vea como una actividad multidisciplinaria, cuya base es la Cadena Alimentaria y los sistemas alimentarios. Este concepto indica que tanto el Agrónomo como el Tecnólogo de Alimentos, los Nutricionistas, los Economistas y expertos en otras disciplinas, deben asociarse en un objetivo o meta común. Asimismo, es sumamente importante integrarla a la industria alimentaria desde el inicio de la actividad, para que el proceso de desarrollo del producto y la transferencia de la tecnología lleve las observaciones de los grupos interesados. Esta actividad multidisciplinaria no debe necesariamente estar centralizada; por el contrario, es mejor que varias instituciones participen, a fin de que se obtenga más solidez en la transformación industrial de los alimentos básicos en diferentes formas de consumo. En este rubro, es importante enfatizar la necesidad de la comunicación científica y técnica que permita conocer los problemas a resolver, y los hallazgos hacia el objetivo de industrializar los alimentos básicos. Esta comunicación, lamentablemente, es deficitaria en América Latina. Muchos esfuerzos en este sentido han estado limitados y no han sido del todo exitosos por falta de una acción multidisciplinaria y su asociación con la industria.

*Ricardo Bressani
Editor General*

TRABAJOS DE INVESTIGACION

ESTADO NUTRICIONAL CON RESPECTO AL CALCIO EN LA ARGENTINA

Susana N. Zeni¹ y María L. de Portela²

Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires
Argentina

RESUMEN

Los conocimientos acerca del estado nutricional en lo referente al Ca en la Argentina son escasos e incompletos, no existiendo estudios sistemáticos realizados a nivel nacional. Por dicho motivo, en esta revisión se han recolectado datos proporcionados por hojas de balance, encuestas y el indicador bioquímico Ca/creatinina en orina basal.

Todos estos datos, analizados en forma conjunta, permiten hacer extrapolaciones a partir de las cuales es factible inferir conclusiones acerca del estado nutricional con respecto a dicho nutriente.

Las hojas de balance indican tendencias generales de consumo y de su análisis surge la disponibilidad global insuficiente de algunos nutrientes, entre ellos el calcio. Las encuestas, efectuadas con distintos propósitos pero con metodología similar, revelan un elevado porcentaje de individuos deficientes cuando se utilizan como referencia las cifras de ingesta recomendada (IR) por la NRC (800 mg/día), para el adulto. La utilización de la relación Ca/Creat en orina basal, confirma la elevada prevalencia de esta deficiencia nutricional y sugiere que las IR, establecidas por la NRC, reflejan mejor que las de la FAO (400 mg/día) las necesidades de poblaciones, que como la nuestra, consumen elevadas cantidades de proteína.

Manuscrito modificado recibido: 9-11-87.

- 1 Ayudante de Primera, Depto. de Bromatología y Nutrición Experimental, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 1113 Buenos Aires, Argentina.
- 2 Profesora Asociada de la citada Facultad.

Estos resultados evidencian la constante deficiencia de Ca, alertando acerca de un problema nutricional generalizado en la población argentina que podría revestir características de endemia. Sus causas no parecen ligadas al nivel socioeconómico, sino más bien radicarían en las distorsiones de la dieta a consecuencia de los hábitos alimentarios comunes a la generalidad de la población del país.

INTRODUCCION

En los últimos años se ha publicado un gran número de trabajos acerca de la relación entre la ingesta de calcio (Ca) insuficiente y la etiología de la osteoporosis en la edad adulta (1). Por consiguiente, la evaluación del estado nutricional con respecto a dicho nutriente merece atención especial, ya que su insuficiente ingesta acusa una distribución diferente a la desnutrición calórica-proteínica, afectando a grupos poblacionales y a países donde la disponibilidad global de alimentos haría suponer por extensión un estado nutricional adecuado en lo que al Ca concierne (2).

En el caso particular de la Argentina, los conocimientos en este aspecto son escasos e incompletos, ya que no existen estudios realizados a nivel nacional. No obstante, de la información suministrada por las "Hojas de Balance" (Tabla 1) (2, 3) se deduce que la disponibilidad global de Ca (539 mg por habitante/día) es insuficiente para cubrir las necesidades promedio de la población, de acuerdo a las recomendaciones establecidas por la NRC (800 mg/día) (4). De estas cifras surge la alta probabilidad de que ciertos grupos poblacionales deben estar sufriendo deficiencia de Ca, lo que se ha confirmado en algunas encuestas parciales.

Por otra parte, dentro de la metodología bioquímica se ha ensayado con éxito, en los últimos años, la relación calcio/creatinina en orina basal. Este indicador es sumamente sencillo y de fácil aplicación. Su utilización en diferentes grupos de la población argentina ha mostrado una elevada correlación con los datos de ingesta de Ca (5). Por tal motivo, seguidamente se revisa la información de algunos grupos poblacionales estudiados aisladamente en el país, en base a los dos tipos de indicadores: I: "encuestas dietéticas" y II: "relación Ca/Creat en orina basal".

TABLA 1

DISPONIBILIDAD DE PROTEINAS Y CALCIO POR HABITANTE Y POR DIA

	Proteínas (g)	Calcio (mg)
Carnes (todo tipo)	47.0	15.4
Leche y productos lácteos	11.9	463.0
Huevos	2.2	10.3
Cereales (trigo y arroz)	25.1	42.3
Papas	2.4	8.0
Total aportado por los alimentos considerados	88.6	539.0

MATERIAL Y METODOS

I. Encuestas Dietéticas

En todos los casos, las encuestas se llevaron a cabo mediante el método de recordatorio del consumo de alimentos de 24 hrs (ó de 7 días en alguna de ellas). La ingesta de nutrientes fue calculada utilizando la *Tabla de Composición de Alimentos para América Latina*, editada por ICNND/INCAP (6). Sin embargo, la carencia de datos en dicha tabla sobre la composición de algunos alimentos o comidas regionales ha obligado a utilizar a veces otras fuentes de información. El problema fundamental surgió ante el consumo de quesos y la identificación correcta de sus nombres. En estos casos, por lo tanto, se utilizaron tablas de composición de alimentos italianas o alemanas (7, 8), donde figuran variedades de quesos similares a las que se encuentran en la Argentina. La adecuación nutricional se calculó tomando como Ingesta Recomendada (IR) las cifras que establece la NRC (4).

II. Calcio/Creatinina en Orina Basal

Esta relación se ha revelado como un indicador sencillo de gran utilidad, cuya fácil aplicación lo ha convertido en el indicador ideal para estudios de índole poblacional.

Se ha tomado el valor de 0.1 como cifra mínima indicativa de adecuación nutricional con respecto al Ca.

La orina basal (consistente en descartar la primera orina de la mañana y recoger la segunda, manteniendo al sujeto en ayunas) se acidifica con unas gotas de HCl conc., conservándola en congeladora a -20° centígrados hasta la determinación de Ca y de creatinina (9, 10).

RESULTADOS

I. Encuestas Individuales:

Estas procedían de distintos grupos etarios y de zonas dispares del país, como sigue:

- A. *Provincia de Salta* — Si bien no existe ninguna encuesta enfocada a nivel nacional, la que se llevó a cabo en la Provincia de Salta (Noroeste argentino) durante el año 1976 puede tomarse como modelo de encuesta parcial. La misma la efectuó el Instituto de Ciencias de la Nutrición del Noroeste Argentino (NOA), habiendo sido diseñada para obtener una muestra de tipo probabilístico, estratificada, que incluyó población urbana, semiurbana y rural. Como parte de la misma se realizaron estudios antropométricos, socioeconómicos, clínico-nutricionales y de hábitos alimentarios (11). Los resultados obtenidos (Figura 1) revelan la elevada prevalencia de deficiencia de Ca tanto a nivel familiar (80°/o), como en el grupo de los preescolares (50°/o). El menor porcentaje de individuos con ingesta deficiente, evidenciado en este último grupo, señala que los preescolares están protegidos dentro del

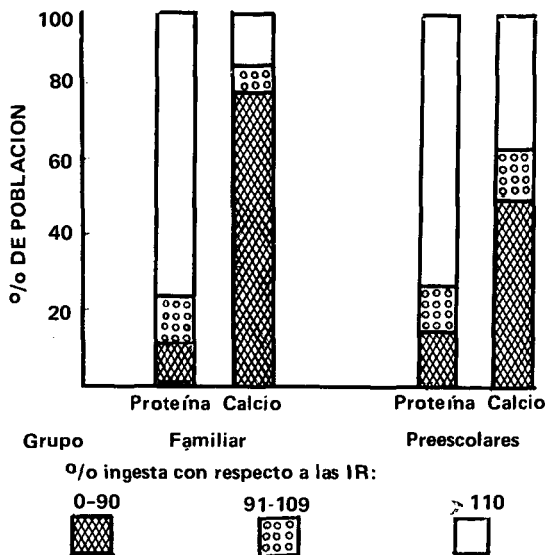


FIGURA 1

Distribución de la población según la ingesta de proteínas y calcio (Provincia de Salta, 1976) (11)

grupo familiar como consecuencia de que, habitualmente, se reservan los alimentos lácteos para los más pequeños.

- B. En el *Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (UBA)*, desde 1979 hasta la fecha —los alumnos que cursan el 8º cuatrimestre de la Carrera de Bioquímica llevan a cabo, como parte de sus trabajos prácticos, una autoencuesta nutricional. Sistemáticamente, en ella se ha evidenciado un elevado porcentaje de individuos con ingestas insuficientes de Ca. En la Tabla 2 se consignan datos correspondientes a los años que fueron revisados cuidadosamente por el personal docente auxiliar. Los porcentajes de población femenina deficiente en los años 1979, 1983 y 1984, fueron 88, 70 y 68.50% respectivamente. En todos los casos se evidenció —como ya se mencionó— que la deficiencia de Ca era independiente del déficit calórico-proteínico y coexistió con cifras de ingesta proteínica superiores a las recomendadas (12). En general nuestra población estudiantil de la carrera de Bioquímica es mayoritariamente femenina, pero durante 1984 la cantidad de estudiantes varones fue elevada y en consecuencia, se pudieron estudiar comparativamente ambos sexos.
- C. *Personal docente del Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA)* — Se estudió un grupo constituido por 17 mujeres, clínicamente sanas, de 20 a 35 años, que se ofrecieron voluntariamente para realizar una

TABLA 2

PREVALENCIA DE LA DEFICIENCIA DE CALCIO EN DIVERSOS GRUPOS POBLACIONALES
(PORCENTAJE DE INDIVIDUOS)

	Estudiantes universitarios				Docentes UBA Mujeres	Preescolares
	Curso 1979 Mujeres	1983 Mujeres	1984 Valrones	1984 Mujeres		
Según indicador bioquímico						
Calcio/creatinina	—	93.0	52.5	83.0	84.0	95.0
Según encuesta	67.0	70.0	68.5	69.5	78.0	75.0

autoencuesta dietética. En dicha oportunidad, el 90% acusaron ingestas de Ca inferiores a 800 mg/d y el 40% inferiores a 400 mg/día (13).

- D. *Población infantil* — Se estudió un grupo de 230 niños (158 varones y 72 niñas) de 4 a 11 años, pertenecientes a familias de bajo nivel socio-económico, concurrentes al consultorio externo de Pediatría del Hospital Interzonal de Agudos Prof. Dr. M. Castex, con objeto de realizar exámenes rutinarios de salud o vacunación. La encuesta dietética realizada por personal idóneo arrojó un 75% de individuos con ingestas inferiores a 800 mg/día (14).

II. *Relación Ca/Creatinina*

A. *Población adulta*

1 — *Alumnos del Ciclo de Bioquímica* — Paralelamente a las encuestas nutricionales, se determinó el índice Ca/Creat. en los alumnos del Ciclo de Bioquímica mencionados en la Sección I.B. Los resultados obtenidos señalan un elevado porcentaje de población con estado nutricional inadecuado y son concordantes con los datos de encuestas. En la Tabla 2 pueden observarse los porcentajes de alumnos con estado nutricional deficiente en los años 1983 y 1984, según dicho índice y según la ingesta de calcio.

2 — *Personal docente del Departamento* — Al estudiar la relación Ca/Creat. en la población de docentes mencionada en I.C., se observó un alto predominio de deficiencia (78%) y concordancia con los datos que arrojó la encuesta. En dicha oportunidad, luego de suministrar durante 60 días un suplemento de 500 mg diarios de Ca, se observó un descenso significativo en el porcentaje de individuos deficientes (de acuerdo a la relación Ca/Creat) (13).

B. *Preescolares*

En el estudio citado en la Sección I.D., se observó un alto predominio de población deficiente, así como concordancia entre las encuestas y el indicador bioquímico (95% y 75% respectivamente) (14).

C. *Escolares*

Se determinó la relación Ca/Creat, en la población escolar concurrente a tres escuelas de la Provincia del Chaco (Noroeste argentino). Estas escuelas integraron un estudio piloto diseñado con miras de evaluar carencias nutricionales de una franja poblacional en una zona de comunidades marginadas en las que no existen comedores escolares. Dicho proyecto cristalizó en un Plan Piloto de Suplementación Alimentaria, en cuya ejecución intervino un equipo multidisciplinario formado por médicos, bioquímicos, nutricionistas, una antropóloga y un sociólogo. El Proyecto incluyó el diseño, formulación, elaboración y evaluación de un suplemento constituido por una galletita de elevada densidad energética, la que sirvió de vehículo a nutrientes deficitarios. Al inicio del Programa, la relación Ca/Creat reveló un 100% de indi-

viduos deficientes en las tres escuelas (Figura 2), mientras que después de tres meses de administrar el suplemento alimenticio (que aportaba el 500/o de las IR de Ca), se observó una disminución en el número de individuos con estado nutricional deficiente (32, 69 y 620/o para las escuelas 1, 2 y 3 respectivamente) (15).

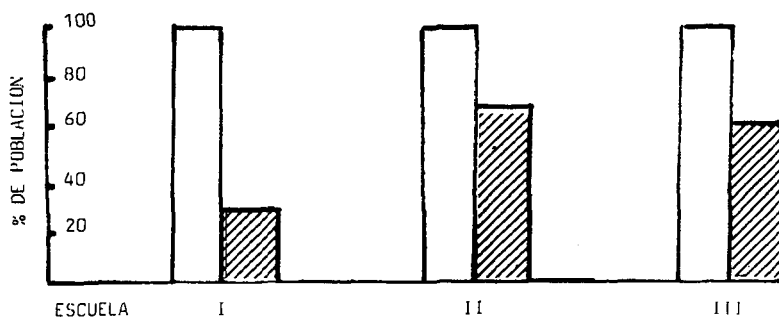


FIGURA 2

Porcentaje de escolares con deficiencia de Ca en tres escuelas de la Provincia del Chaco al comienzo  y al final  del Programa de Ayuda Alimentaria

DISCUSION

La evaluación del estado nutricional en lo concerniente a Ca se ha realizado habitualmente por medio de encuestas o métodos radiológicos (16), agregándose en los últimos años métodos de medida directa de la masa ósea que son de mayor sensibilidad, pero cuya utilización está supe- ditada a la disponibilidad de costosos equipos (17).

Todas estas técnicas presentan problemas diversos que hacen dificultosa su aplicación.

Los inconvenientes derivados de la utilización de las Tablas de Composición hacen resaltar la imperiosa necesidad de contar con tablas actualizadas de composición de alimentos nacionales. En este sentido, se están haciendo esfuerzos encaminados a promover, en nuestro país, la actualización y el mejoramiento de los datos existentes en el marco del LATIN-FOODS, para lo cual ya existe un proyecto específico.

Cabe agregar que a los inconvenientes propios de las encuestas, se suma la dificultad de interpretación de los datos obtenidos, debido a las enormes discrepancias en las cifras de ingestas recomendadas por los diversos Organismos Internacionales. En el caso particular del adulto estas diferencias alcanzan el 1000/o y se deben a los criterios metodológicos dispares utilizados para establecerlas. Por consiguiente, el porcentaje de individuos deficientes será distinto según se utilicen las IR por FAO/OMS (400 mg/día), por NRC (800 mg/día) o las sugeridas para

nuestro país por el VI Congreso Argentino de Nutrición (600 y 700 mg/día para la mujer y el hombre, respectivamente) (18).

En el caso particular de las encuestas en referencia, en la revisión que nos ocupa se han tomado como cifras de adecuación nutricional las aconsejadas por el NRC, por considerar que son las que mejor representan las verdaderas necesidades de poblaciones como la nuestra, que acusan ingestas proteínicas muy elevadas (cerca o superiores a 100 g/día (12).

La carencia de indicadores bioquímicos indujo a probar, en los últimos años, en el Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental, la relación Ca/Creat en orina basal. Los resultados de dichos estudios revelaron su utilidad como indicador, sugiriendo que esta relación representa no sólo la excreción urinaria de Ca en respuesta a la ingesta habitual del mismo, sino también la dependencia con la velocidad de recambio óseo, de acuerdo al grado de osificación (9), de modo que cuando existe depleción cálcica y baja ingesta, la velocidad de recambio ósea es baja, reflejándose en un valor mínimo de la relación Ca/Creat. El incremento en la ingesta se evidencia mediante un aumento paulatino de la velocidad de recambio, y en consecuencia, la relación Ca/Creat aumenta hasta alcanzar un máximo cuando las ingestas de Ca son permanentemente elevadas. Se acepta que existe un mecanismo fisiológico de la regulación por el cual el contenido mineral del esqueleto condiciona, de acuerdo a sus necesidades, su absorción intestinal (19). Por consiguiente, debido a dicho mecanismo de control, a medida que los depósitos se repleonen se producirá una disminución en la absorción del Ca y, por lo tanto, el índice no aumentará indefinidamente sino hasta alcanzar una meseta (13).

Trabajos en voluntarias adultas sometidas a una ingesta fija de Ca han permitido establecer un valor normal de referencia de 0.1 con una variabilidad entre 0.07 y 0.15 (13). En los estudios mencionados en esta revisión, sin embargo, se ha tomado 0.1 como valor mínimo indicativo de adecuación nutricional debido a la elevada correlación entre los datos de encuesta y los de la relación Ca/Creat, cuando se tomá como IR los 800 mg aconsejados por NRC, y 0.1 como valor de referencia para la relación Ca/Creat (20).

Las elevadas cifras de individuos con estado nutricional inadecuado, reveladas por los trabajos mencionados, pueden parecer sorprendentes si no se tienen en cuenta ciertas características singulares de los hábitos alimentarios de la población argentina. Estas difieren netamente de los otros países, ya que existe un consumo predominante de carnes rojas, seguido de carnes blancas, cereales, pastas y huevos; el consumo de papas (patata) y lácteos es menor, y el de frutas, verduras y hortalizas es variado y depende de la región, de las estaciones y fluctuaciones estacionales.

No hay estudios disponibles acerca de la biodisponibilidad del Ca de las dietas argentinas. No obstante, en base a sus características y la tendencia a la baja ingesta de Ca, hacen prever que la biodisponibilidad puede ser elevada.

Por otra parte, la pirámide poblacional acusa un 70% de individuos con edades comprendidas entre 15 y 64 años y la estratificación social se distingue por un predominio neto de una clase media de condiciones socioeconómico-culturales similares a las de los países europeos. Por este motivo, puede asumirse que el conocimiento del estado nutricional de adultos jóvenes como son los estudiantes universitarios del conurbano

bonaerense, es representativo de la clase media (21) y permite extrapolar conclusiones sobre el estado nutricional de una amplia franja de la población de nuestro país.

De acuerdo a la información presentada aquí y que recopila trabajos realizados en grupos de diferentes edades y nivel socioeconómico, se puede concluir que al constante y generalizado consumo insuficiente de Ca en distintos grupos etarios, se deben sumar otros factores nutricionales que agravan el deterioro del estado nutricional con respecto al Ca. Estos son, por ejemplo, el consumo habitualmente elevado de proteínas (22), el consumo creciente de alimentos industrializados mediante procesos tecnológicos que llevan aparejada la utilización de fosfatos y polifosfatos, y el consumo cada vez más elevado de alimentos ricos en fibra.

En consecuencia, estos resultados están alertando sobre el deterioro que evidentemente tiene que sufrir el estado nutricional de la población argentina en lo que a este nutriente se refiere.

SUMMARY

CALCIUM NUTRITIONAL STATUS IN ARGENTINA

Knowledge about calcium nutritional status in Argentina is scarce, due to the lack of systematic studies carried out in the country. For this reason, in the present report we have gathered information from data of food availability, nutritional surveys and the biochemical indicator Ca/Creatinine ratio in basal urine. All these data, jointly analyzed, allow certain extrapolations, based on which it is feasible to deduce conclusions as to the nutritional status in regard to such nutrient.

Food availability data reveal an inadequate supply of calcium. On the other hand, the surveys, carried out for different purposes but with similar methodology, reveal a high percentage of deficient individuals, with referencé to the Recommended Dietary Allowances (RDA) of the NRC (800 mg/day for adults). The use of the Ca/Creatinine ratio, in basal urine, confirms the high prevalence of Ca nutritional deficiency. Therefore, in our population which has a high protein consumption, Ca requirements are better reflected by NRC's RDA than FAO's (400 mg/day).

These results clearly show that Ca deficiency is a generalized nutritional problem in the country. The causes seem to be not dependent on socioeconomic level, but would be closely related to dietary imbalance derived from the alimentary habits common to the Argentine population.

BIBLIOGRAFIA

1. Consensus Development Conference. Osteoporosis. *JAMA*, 252: 799-802, 1984.
2. Valencia, M. La tecnología de alimentos como causa o solución de deficiencias nutricionales. Presentado en: **III Seminario y I Congreso Latinoamericano de Ciencia y Tecnología de Alimentos**. Buenos Aires, noviembre de 1979.
3. Britos S. & S. Scacchia. Disponibilidad de alimentos en Argentina - Revisión 1954-84 según hojas de balance CESNI - 1987 (En prensa).
4. Food and Nutrition Board. **Recommended Dietary Allowances**. Washington D. C., National Academy of Sciences, National Research Council, 1974.

5. Zeni, S. —Estado nutricional con respecto al calcio en la Argentina—. Presentado en: **IX Congreso Argentino de Nutrición**. Buenos Aires, agosto de 1986.
6. ICNND/INCAP. **Tabla de Composición de Alimentos Para Uso en América Latina**. Washington, D.C., U.S. Government Printing Office, junio 1961, 132 p.
7. **Tabelle di Composizione degli Alimenti**. Ministerio de l' Agricoltura e delle Foreste. Roma, Instituto Nazionale della Nutrizione, 1979.
8. Die Zusammensetzung der Lebensmittel Aahrwert-tabellen. Wissens chaftliche Verlagsgesellschaft MBH Stuttgart, 1974.
9. Portela M.L., M.E. Río & S. Zeni. Utilización de la relación calcio/creatinina urinaria como indicador del estado nutricional con respecto al calcio. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **33**: 633-641, 1983.
10. Zeni, S., M.L. de Portela, M.C. Morasso & M.E. Río. Calcio/creatinina en orina basal en relación a la ingesta de calcio y al estado nutricional, en menores de tres años. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **34**: 35-45, 1984.
11. Memoria Anual 1975. Instituto de Ciencias de la Nutrición del NOA. Secretaría del Estado de Salud Pública de la Nación. Universidad Nacional de Salta, Argentina.
12. Boyer, P., M.L. Portela, M.E. Río & J.C. Sanahuja. Evaluación del estado nutricional de una población estudiantil. **Medicina**, **47**: 51-56, 1987.
13. Portela, M.L., C. Calandri, S. Zeni & M.E. Río. Valores normales de la relación Ca/Creat. en mujeres adultas. Presentado en: **XXX Reunión de la Sociedad Argentina de Investigaciones Clínicas**. Mar del Plata, 24-28 de noviembre, 1985.
14. Río, M.E., L. Zago, Y. Perillo, S. Zeni & M.L. Portela. Prevalencia de la deficiencia de calcio en el área metropolitana: Uso del indicador calcio/creatinina en orina basal. Presentado en: **VII Congreso Latinoamericano de Nutrición**. Brasilia (Brasil), 26-29 de noviembre, 1984.
15. Río, M.E., M.L. Portela & S. Closa. Resultados de una experiencia piloto con una galletita de elevada densidad energética. **La Alimentación Latinoamericana**, **15**(128): 68-71, 1981 (Separata PNITA No. 4).
16. Portela, M. L. Pita Martín de. Revisión de los conocimientos actuales acerca de la evaluación del estado nutricional de los elementos minerales. I. Elementos mayores. II. Elementos traza. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **32**: 429-449, 1982.
17. Riggs, B.L., H.W. Wahner, W.L. Dunn, R.B. Mazess, K.P. Offord & L.J. Melton. Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging. **J. Clin. Invest.**, **67**: 328-335, 1981.
18. **VI Congreso Argentino de Nutrición. Recomendaciones Nutricionales para la República Argentina**. Buenos Aires, 3-7 de octubre, 1976.
19. Stanbury, S.W. The intestinal absorption of Ca in normal, primary hiperparathyroidism and renal failure. En: **Nutrition in Renal Disease**. G.M. Berlyne (Ed.), London, 1968.
20. Portela, M.L., S. Zeni & M.E. Río. Correlación entre el índice Calcio/creatinina y los datos de encuesta dietética, en adultos. Presentado en: **VII Congreso Argentino de Nutrición, Paraná (Entre Ríos)**, junio de 1980.
21. **Reforma Universitaria. Documento de trabajo No. 10. Costo de Graduados en la Universidad de Buenos Aires**. Secretaría de Planeamiento. Dirección de Estadísticas, octubre de 1985.
22. Gregory, J.F. & J.R. Kirk. High protein diets and bone homeostasis. **Nutr. Revs.** **39**: 11-13, 1981.

INFLUENCIA DEL NIVEL PROTEINICO DIETARIO SOBRE EL PATRON ELECTROFORETICO Y LOS NIVELES DE Ig G e Ig M PLASMATICOS EN RATAS GESTANTES Y SUS NEONATOS

Pilar Varela,¹ Emilia Muñoz-Martínez,¹
Ascención Marcos¹ y Ma. Teresa Unzaga¹

Universidad Complutense
Madrid, España

RESUMEN

En vista de la influencia que los estados nutricional y fisiológico tienen sobre la capacidad inmunológica del individuo, se llevó a cabo un estudio de las modificaciones que inducen tres niveles de proteína en la dieta: 4^o/o, 10^o/o (control) y 20^o/o sobre la tasa de inmunoglobulinas G y M plasmáticas, así como los niveles de proteínas totales en plasma (PPT) y sus fracciones, en ratas no gestantes (NG) y gestantes (G) y sus neonatos.

Efecto de la dieta en ratas adultas — En ratas no gestantes aparece un incremento en la tasa de Ig G por acción de la dieta alta en proteína. Los niveles de PPT disminuyen con las dietas alta y baja en proteína. En animales G disminuyen ambas Ig con las dos dietas experimentales (4^o/o y 20^o/o), mientras la tasa de PPT se incrementa a medida que aumenta la cantidad de proteína ingerida.

Efecto de la gestación — Los niveles de Ig G e Ig M se elevan con las dietas del 4^o/o y 10^o/o. Sin embargo, estos niveles sufren un descenso cuando las ratas ingieren la dieta del 20^o/o de proteína. La tasa de PPT desciende con el déficit proteínico dietario y aumenta con la dieta más alta en proteína.

Efecto de la dieta en neonatos — Los niveles de Ig M sólo se detectaron en la progenie de ratas alimentadas con las dietas alta y baja en proteína. Por su parte, la tasa de PPT se incrementa en función directa de la ingesta proteínica dietaria.

INTRODUCCION

El estado nutricional del individuo afecta profundamente su capacidad inmunológica. Tanto la privación nutritiva como la sobrealimentación, parecen incidir desfavorablemente sobre los mecanismos de defensa.

Manuscrito Modificado recibido: 9-5-88.

¹ Miembros de la Sección Departamental de Fisiología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España.

Se han descrito diversas alteraciones del sistema inmune humoral producidas por malnutrición. Así, las subpoblaciones de linfocitos B (1), los niveles séricos de Ig G, Ig M e Ig A (2,3) y la síntesis de inmunoglobulinas y su metabolismo (4) en general, aumentan o no se modifican.

Ocasionalmente, las tasas de inmunoglobulinas G, M y A séricas pueden ser bajas, en especial cuando el inicio de la deficiencia nutricional se produce en la vida fetal o en los primeros días de la vida (5).

La respuesta inmune también se presenta disminuida en neonatos en segunda generación, procedentes de madres en ayuno (6,7) o con deficiencia proteínica dietaria. Ello se relaciona, ya sea con la existencia de un daño intenso en el aparato linfoide durante la etapa embrionaria del desarrollo o bien con una lactación pobre de los neonatos malnutridos.

No obstante, la variabilidad en las tasas de Ig G transferidas en la unidad materno-fetal, hace que no exista correlación entre los niveles de inmunoglobulinas y el grado de déficit nutricional prenatal.

La malnutrición no sólo parece alterar los mecanismos de defensa, sino que también la ingesta excesiva de varios nutrientes da lugar a una susceptibilidad incrementada a infecciones víricas y bacterianas (8) dependientes de una respuesta inmune deficiente.

Por otra parte, de acuerdo con datos en la literatura (9), la administración de dietas bajas (4^o/o) y altas (20^o/o) en proteína a ratas gestantes, da lugar a una redistribución de sustratos proteínicos. Esta afecta al reparto materno-fetal de los mismos, perjudicando así el desarrollo neonatal.

A nuestro juicio, esta anómala disponibilidad de sustratos podría también incidir sobre la formación de proteínas inmunocompetentes, en especial Ig G e Ig M, tanto en ratas gestantes como en sus neonatos, y en esta forma, modificar la capacidad inmune humoral de estos individuos.

En consideración a los conceptos precedentes, el presente trabajo constituye un estudio de los niveles plasmáticos de Ig G e Ig M en ratas no gestantes y gestantes, y sus neonatos. Para dicho propósito, los animales adultos se someten a tres niveles proteínicos en la dieta: 4^o/o, 10^o/o y 20^o/o, a fin de establecer la sensibilidad de la función de los linfocitos B a la interacción dieta-gestación. También se estudia el patrón electroforético de las proteínas plasmáticas.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 60 ratas Wistar con un peso inicial de 160 ± 10 g que se dividieron aleatoriamente en dos lotes: 1) 30 ratas no gestantes (NG) y 2) 30 ratas gestantes (G). Cada lote se dividió a su vez en tres grupos de 10 animales cada uno, los que se sometieron a tres niveles proteínicos dietarios: 4^o/o, 10^o/o y 20^o/o. También se utilizaron 40 neonatos de cada grupo de gestantes.

Se utilizó el plasma de los animales adultos, así como un pool de plasma de cuatro neonatos por camada, extraídos el día 21 del experimento, que correspondió al día del parto.

Los parámetros Ig G e Ig M se determinaron por el método de Neuman *et al.* (9). La tasa de proteínas plasmáticas se evaluó por la técnica de

Henry, Sobel y Berkman (10), y el patrón electroforético, de acuerdo con el procedimiento de Tiselius y Floidini (11).

La composición de las dietas se llevó a cabo según datos previos (12, 13), utilizando caseína láctea de 98^o/o de riqueza (E. Merck Darmstadt R.F. de Alemania).

Los animales se sometieron a un período de adaptación a cada dieta, que duró una semana. Después de la obtención del lote de gestantes, los animales fueron alojados en células individuales de metabolismo, ubicadas en una habitación termostregulada a 23°C e iluminada de 8 a 20 horas. Durante el experimento se suministró agua y dieta *ad libitum*.

Los resultados siguientes se expresan como valores medios \pm EE. El tratamiento estadístico de los datos obtenidos se hizo aplicando el test "t" de Student (14). La probabilidad menor de 0.05 se considera significativa.

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto del Nivel Proteínico Dietario en Ratas No Gestantes. (Se comparan entre sí los grupos no gestantes) (Tabla 1).

El grado de disponibilidad de aminoácidos afecta profundamente la síntesis hepática de proteínas exportables, en especial con la dieta de 40^o/o de proteína, de acuerdo con los datos de Kirsch *et al.* (15), Waterlow, Garlick y Millward (16) y Schelp *et al.* (17).

Ello da lugar a que el patrón electroforético de los animales malnutridos no gestantes, acuse valores que no son proporcionales al porcentaje de proteína.

La causa de este resultado hay que buscarla en la pérdida de la capacidad de síntesis de proteínas exportables por el hígado, cuyo exponente más claro es la disminución de la albuminemia. De acuerdo con esto, Pain, Clemens y Garlick (18) señalan la pérdida selectiva de RNAm, necesario para la formación de albúmina, en casos de malnutrición proteínica.

Esta alteración funcional se acompaña de daño celular hepático según lo confirma el descenso en la razón albúmina/globulina.

Por otra parte, el descenso de las β -globulinas parece ser el factor condicionante del efecto hipoproteínico encontrado con las dietas del 20^o/o de proteínas, lo que podría estar relacionado con una menor necesidad de transporte de sustratos, especialmente lipídicos. En este sentido, Terpstra (19), indica que los niveles más bajos de colesterol se presentan en ratas sometidas a dietas que contienen del 12 al 18^o/o de caseína. En cambio, con dietas de 7.5^o/o, se produce una elevación moderada, siendo el incremento mayor con dietas del 40^o/o de proteína, lo que sugiere la existencia de un posible descenso en la tasa de β -lipoproteínas.

No obstante, para Chia-Po Lin (20), la proteinemia no se modifica en ratas sometidas a dietas con 25 y 40^o/o de proteína, comparada frente al día cero del experimento, al mantenerse constantes todas las fracciones proteínicas.

Por otra parte, de acuerdo con Cooper, Good y Mariani (21), el incremento en la tasa de β -globulinas registrado en los animales malnutridos,

TABLA 1

EFFECTO DEL NIVEL DE PROTEINA INGERIDA SOBRE LA INGESTA Y PROTEINAS PLASMATICAS
DE RATAS NO GESTANTES Y GESTANTES

	4 ^o /o		10 ^o /o		20 ^o /o	
	NG	G	NG	G	NG	G
Ingesta (g.s.s/rata/día)	14.24 ± 0.38 ^a	14.60 ± 0.24 ^a	13.89 ± 0.33 ^a	18.04 ± 0.65 ^b	12.53 ± 0.56 ^c	14.97 ± 0.45 ^d
Proteínas totales*	5.51 ± 0.12 ^b	4.76 ± 0.18 ^c	6.09 ± 0.19 ^a	6.01 ± 0.14 ^a	5.41 ± 0.13 ^b	6.41 ± 0.70 ^d
Albúmina*	2.26 ± 0.50 ^b	2.11 ± 0.15 ^b	3.36 ± 0.06 ^a	2.72 ± 0.11 ^c	3.45 ± 0.23 ^a	3.48 ± 0.14 ^a
α-globulinas*	1.12 ± 0.09 ^a	1.07 ± 0.09 ^a	0.71 ± 0.18 ^a	1.71 ± 0.09 ^b	0.90 ± 0.08 ^a	1.18 ± 0.14 ^a
β-globulinas*	1.23 ± 0.08 ^a	0.78 ± 0.06 ^b	1.47 ± 0.12 ^a	1.00 ± 0.05 ^c	0.76 ± 0.05 ^b	1.07 ± 0.06 ^c
γ-globulinas*	0.90 ± 0.08 ^c	0.80 ± 0.09 ^c	0.43 ± 0.16 ^a	0.56 ± 0.06 ^c	0.30 ± 0.001 ^a	0.73 ± 0.07 ^c
Ig G**	138.48 ± 14.02 ^a	229.80 ± 10.14 ^c	151.32 ± 9.89 ^a	344.04 ± 30.57 ^b	209.24 ± 21.00 ^b	159.74 ± 16.47 ^d
Ig M**	38.93 ± 3.14 ^a	76.48 ± 7.03 ^c	40.93 ± 4.35 ^a	379.20 ± 32.78 ^b	50.94 ± 4.51 ^a	24.48 ± 1.89 ^d
Albúmina/globulinas	0.67 ± 0.05 ^b	0.79 ± 0.07 ^b	1.28 ± 0.11 ^a	0.83 ± 0.08 ^b	1.76 ± 0.15 ^c	1.16 ± 0.02 ^d

* mg/dl.

** µg/dl.

Las letras distintas indican diferencias significativas entre columnas (P ≤ 0.05).

podría estar determinado por un proceso infeccioso concomitante, aun cuando los niveles de Ig G e Ig M no varían.

A pesar de ello, y puesto que los niveles altos de γ -globulina se acompañan de tasas bajas de albuminemia en los animales hiponutridos (4^o/o) mientras que estos valores se invierten en el caso de los animales sometidos al 20^o/o de proteína, se podría sugerir que la dieta es el único factor desencadenante de este efecto, a fin de mantener una presión coloidal adecuada (22).

El factor dieta parece también ser el responsable del incremento de las tasas plasmáticas de Ig G detectado en los animales sometidos a la dieta de alto nivel proteínico, a consecuencia de una mayor disponibilidad de aminoácidos por parte de los linfocitos B.

Efecto del Nivel Proteínico Dietario en Ratas Gestantes. (Se comparan entre sí los grupos gestantes). (Tabla 1).

En los animales gestantes, los niveles de proteínas plasmáticas varían en proporción directa a la tasa de proteína en la dieta.

Esta variación ocurre a expensas de la albuminemia, hecho que confirma la sensibilidad de la síntesis de proteína hepática al aporte de aminoácidos dietarios (23). Este efecto es visible en el aumento paulatino de la razón albúmina/globulina en los tres niveles de proteína sometidos a estudio.

Sólo los animales gestantes malnutridos acusan una relación recíproca entre la concentración de albúmina y de γ -globulinas, lo que podría compensar la presión osmótica coloidal. Por el contrario, el gran aumento de la albuminemia y el mantenimiento de las β y γ -globulinas producido por la dieta del 20^o/o de proteína, podría generar un aumento de la presión oncótica con el consiguiente incremento de la volemia.

Ello indicaría que los niveles altos de proteína dietarios determinan modificaciones en la hemodinámica de las ratas gestantes, los que se adicionan a los cambios fisiológicos normales ya conocidos (24).

En cuanto a la disminución de las α -globulinas con las dietas con 4^o/o y con 20^o/o de proteína, ésta podría relacionarse con una menor actividad de γ -antitripsina. Esta globulina —según Powanda (25)— es capaz de inhibir la acción lítica de varias proteinasas, por lo que su disminución contribuiría a incrementar los mecanismos de degradación de las proteínas periféricas, puestos en marcha en la fase catabólica de la gestación, a fin de facilitar un mejor aporte de aminoácidos al feto (26). Este mecanismo, sin embargo, no parece suficiente para alcanzar un nivel adecuado de transferencias materno-fetales, puesto que, de acuerdo con datos al respecto (12, 27), los neonatos sometidos a las dietas con 4^o/o y 20^o/o de proteína sufren efectos deletéreos, dada la competencia negativa con la madre por dichos sustratos.

La disminución en las tasas de Ig G e Ig M halladas en el plasma de los animales sometidos a estas dos dietas (4^o/o y 20^o/o de proteína) parece ser un efecto negativo más, que podría relacionarse con la existencia, en ambos casos, de una hipofunción de los linfocitos B.

La escasez de sustratos y la mala utilización de los mismos sería la causa de esta disminución en los animales malnutridos y en los animales sometidos al 20^o/o de proteína respectivamente. De acuerdo con esto,

Chandra y Newberne (28) y Waddel, Taunton y Twoney (29), señalan el efecto inmunosupresor de la malnutrición, así como de la sobrealimentación.

Efecto de la Gestación en cada Nivel Proteínico Dietario. (Se comparan entre sí los grupos no gestantes y gestantes de cada dieta). (Tabla 1).

Las modificaciones del patrón electroforético debidas al estado gestacional, varían en cada uno de los grupos estudiados sin que en caso alguno la distribución de las fracciones responda a las variaciones encontradas por diversos autores en la gestación humana (30, 31).

Así, los animales gestantes sometidos al 10⁰/o de proteína mantienen la tasa de proteínas plasmáticas totales al nivel del de las ratas no gestantes.

Por el contrario, en mujeres gestantes, Lind y Path (32), indican un descenso de este parámetro, debido a la pérdida de albúmina.

Asimismo se observa una caída de las tasas de albúmina y de β -globulinas y un gran incremento en α -globulinas. Es este aumento de α -globulinas el que parece contribuir a la inalterabilidad de la tasa total de proteínas plasmáticas, y favorecer un catabolismo proteínico materno menor, lo que explicaría el defectuoso paso de sustratos al feto (26).

La existencia de esta disminución de sustratos circulantes podría explicar también, la pérdida de la tasa de globulinas transportadoras tipo β -globulinas. Por el contrario, Mc Gillivray y Torey (33), informan que en mujeres gestantes, existe un 30⁰/o de aumento en la tasa de estas globulinas.

En los animales malnutridos, la gestación induce una disminución de proteínas totales, que podría depender de la fracción β -globulinas, condicionada por el descenso neto de sustratos circulantes en estos animales. Ajeno a ello, parece existir un mecanismo de protección de la síntesis hepática de albúmina, que permite su mantenimiento al mismo nivel que en los animales hiponutridos no gestantes (34), de acuerdo con la invariabilidad en la razón albúmina/globulina.

Por otra parte, los animales sometidos a la dieta con 20⁰/o de proteína demuestran un aumento en la tasa de β -globulinas, siendo esta fracción la única que responde al patrón electroforético normal de la mujer gestante (31). Al parecer, está relacionado con la necesidad de un mayor transporte de sustratos circulantes.

El alza de la tasa de proteínas totales y de las α -globulinas, así como el mantenimiento de la albúmina, también parece indicar que la interacción dieta hiperproteínica-gestación influye sobre estos parámetros. Se originan así los profundos cambios hemodinámicos de la rata en la gestación, que llevan a alteraciones en la volemia, y la consiguiente readaptación a esta sobrecarga.

Por otra parte, el incremento de Ig G e Ig M en los animales sometidos a las dietas con 4⁰/o y 10⁰/o de proteína, parecen señalar la presencia de un proceso infeccioso concomitante (21).

Por el contrario, en los animales sometidos al nivel más alto de proteína (20⁰/o), la gestación produce una disminución de ambas inmunoglobulinas, de acuerdo con las variaciones encontradas en clínica humana (38). Sin embargo, en nuestro criterio, este resultado parece estar

determinado por un efecto negativo adicional de dicha dieta, que determina una mayor depresión de los mecanismos de defensa en estos animales.

De todo ello se deduce, que algunos mecanismos fisiológicos —mediante los cuales se produce la adaptación a la gestación— como los hemodinámicos y los mecanismos de defensa, dependen del nivel de sustratos proteínicos disponibles en cada momento.

Efecto de la Ingesta Prenatal de Distintos Niveles Proteínicos Dietarios sobre los Neonatos (Tabla 2).

El nivel de proteína en la dieta materna marca la aparición de un incremento proporcional en la tasa de las proteínas plasmáticas totales de los neonatos, lo que parece indicar que la transferencia placentaria de aminoácidos y proteínas aumenta con la elevación de los sustratos disponibles (13).

Esto puede originar modificaciones en la capacidad de la síntesis proteínica hepática del neonato, la que sería mayor con los mayores porcentajes de proteína en la dieta, y viceversa.

En condiciones normales se ha comprobado una alta tasa de formación proteínica en el hígado de neonatos en el momento del nacimiento (35).

El aumento de la proteinemia en los neonatos sometidos a la dieta de 20% de proteína depende básicamente de la fracción β -globulina, para facilitar un mayor transporte de nutrientes, ya que tanto la albúmina como las α -globulinas permanecen estacionarias. Este resultado parece estar en consonancia con la observación previa de que los neonatos sometidos a esta dieta no parecen utilizar bien el exceso de sustratos proteínicos, lo que da lugar a una síntesis proteínica precaria a nivel tisular (27).

Ello se manifiesta por el mantenimiento de los niveles de albúmina y por un notable descenso de la proteína tisular del neonato (12).

Por el contrario, todas las fracciones proteínicas contribuyen a la disminución de la tasa total de proteínas plasmáticas de los neonatos malnutridos, lo que señala la escasez de sustratos disponibles.

Además, la diferente concentración de proteína dietaria no afecta la tasa de Ig G, la cual permanece inalterada en todos los grupos estudiados. Ello significa que la transferencia placentaria de Ig G es normal, a pesar del deterioro de los tejidos intrauterinos, provocado tanto por el déficit como por el exceso proteínico (12).

Por el contrario, Mata (36) encuentra tasas disminuidas de Ig G en recién nacidos con bajo peso al nacer.

No obstante, el incremento de los valores de Ig M en los neonatos sometidos a las dietas alta y baja en proteína, indica la puesta en marcha de una respuesta inmune frente a un estímulo antigénico de carácter infeccioso.

A este respecto, Stiehm (37), informa que la presencia de Ig M en el recién nacido, se puede utilizar en el diagnóstico de infección intrauterina.

Ajeno a los conceptos precedentes, ello sugiere, además, que tanto la dieta de 4% como la de 20% de proteína determinan un aumento en la susceptibilidad a la infección en estos animales.

TABLA 2

EFECTO DEL NIVEL PROTEINICO EN LA DIETA MATERNA
SOBRE PROTEINAS PLASMATICAS EN NEONATOS

	4 ^o /o	10 ^o /o	20 ^o /o
Número de neonatos/camada	7.62 ± 0.42 ^b	10.50 ± 0.84 ^a	9.55 ± 0.67 ^a
Proteínas totales*	0.94 ± 0.13 ^b	1.96 ± 0.26 ^a	2.45 ± 0.12 ^c
Albumina*	0.42 ± 0.07 ^b	1.04 ± 0.17 ^a	1.02 ± 0.08 ^a
α-globulinas*	0.21 ± 0.02 ^b	0.40 ± 0.03 ^a	0.45 ± 0.05 ^a
β-globulinas*	0.16 ± 0.03 ^b	0.31 ± 0.06 ^a	0.57 ± 0.13 ^c
γ-globulinas*	0.11 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.02 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
Ig G**	91.40 ± 0.28 ^a	81.70 ± 4.79 ^a	86.40 ± 0.20 ^a
Ig M**	16.02 ± 0.34 ^b	— — — ^a	18.79 ± 2.16 ^b
Albúmina/globulinas	0.87 ± 0.07 ^b	1.15 ± 0.01 ^a	0.80 ± 0.07 ^b

* mg/dl.

** μg/dl.

Las letras distintas indican diferencias significativas entre columnas ($P \leq 0.05$).

SUMMARY

INFLUENCE OF DIETARY PROTEIN LEVEL ON ELECTROPHORETIC PATTERN
AND Ig G AND Ig M LEVELS IN PLASMA OF PREGNANT RATS
AND THEIR OFFSPRING

In view of the influence that nutritional and physiological status exert on the immunological capacity of the subject, a study was carried out for the purpose of studying the changes induced by three protein levels in the diet: (4^o/o, 10^o/o (control), and 20^o/o) on total plasma proteins (TPP) and their fractions, as well as Ig G and Ig M levels in non-pregnant (NP) and pregnant (P) rats and their offspring.

Effect of the diet on adult rats — In non-pregnant rats submitted to the high protein diet, Ig G levels increased while TPP decreased in P rats fed on 4^o/o and 20^o/o protein diets. The higher the protein level in the diet, the higher were the TPP values.

Effect of pregnancy — Ig G and Ig M levels suffered an increase in rats fed the 4^o/o and 10^o/o protein diets, while a decrease was observed in rats submitted to the 20^o/o protein level diet. The TPP rate diminished in rats fed on the low protein diets, and increased when the highest protein diet was administered.

Effect of the diet on offspring — Ig M levels were only detected in neonates from rats fed with the low and high protein diets. Moreover, the TPP rate increased as a direct function of the dietary protein intake.

BIBLIOGRAFIA

1. Bang, B.G., D. Mahalanabis, K.L. Mukherjee & F.B. Bang. T and B lymphocyte rosetting in undernourished children. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **149**: 199-202, 1975.
2. Chandra, R.K. Immunoglobulins and antibody response in protein-calorie malnutrition. A review. En: **The Immune Response**. R. M. Suskind (Ed.). New York, N. Y., Raven Press, 1977, p. 155-168.
3. Neumann, C. G., G. J. Lawlov Jr. & E. R. Stiehm. Immunologic responses in malnourished children. **Am. J. Clin. Nutr.**, **28**: 89-104, 1975.
4. Cohen, S. & J. D. L. Hansen. Metabolism of albumin and gamma-globulins in kwashiorkor. **Clin. Sci.**, **23**: 351-359, 1962.
5. Chandra, R. K., S. K. Ali, K. M. Kutty & S. Chandra. Thymus dependent lymphocytes and delayed hypersensitivity in low birth-weight infants. **Biol. Neonat.**, **31**: 15, 1977.
6. Gebhardt, B. M. & P. M. Newberne. Nutrition and immunological responsiveness. **Immunology**, **26**: 489-495, 1974.
7. Chandra, R. K. Antibody formation in first and second generation offspring of nutritionally deprived rats. **Science**, **190**: 289-290, 1975.
8. Chandra, R. K. Cell mediated immunity in nutritional imbalance. **Fed. Proc.**, **39**: 3088-3092, 1980.
9. Neuman, U., D. Kretzler, E. Munz, K. H. Schappe & J. Ziegenhorn. Bestimmung von immunoglobulinen mit analysen automaten. **Lab. Med.**, **2**: 62-65, 1978.
10. Henry, R. J., C. Sobel & S. Berkman. Determinación de las proteínas mediante la reacción del Biuret. En: **Química Clínica. Bases y Principios**. R. J. Henry & A. Zubizarreta (Eds.). Barcelona, Juns Ed., 1969, p. 213-216.
11. Tiselius, A. & P. Flodin. Zone electrophoresis. En: **Advances in Protein Chemistry**. Vol. 8. New York, N. Y., Academic Press, 1953, p. 461.
12. Varela, P., E. Muñoz-Martínez, A. Marcos M. T. Unzaga & G. Varela. Dieta hiperproteica en la gestación. Efectos sobre el metabolismo neonatal. **Rev. Esp. Fisiol.**, **42**: 111-116, 1986.
13. Muñoz-Martínez, E., A. Marcos, P. Varela, M. T. Unzaga & G. Varela. Efectos aditivos de la malnutrición proteínica y del cortisol en las proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas de ratas gestantes, y sus neonatos. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **36**: 714-724, 1986.
14. Sokal, R. R. & F. J. Rohlf. Estimación y test de hipótesis. En: **Biometría. Los Principios y la Práctica de la Estadística en la Investigación Biológica**, H. Blume (Ed.). Madrid, Héroes, 1979, p. 145-194.
15. Kirsch, R.E., L. Frith, E. Black & R. Hoffenberg. Regulation of albumin synthesis and catabolism by alteration of dietary protein. **Nature**, **217**: 578-579, 1968.
16. Watherlow, J. C., P. J. Garlick & D. J. Millward. En: **Protein Turnover in Mammalian Tissues and in the Whole Body**. Amsterdam, North Holland, N. Y. Elsevier, 1978.
17. Schelp, F. P., P. Migasette, S. Saovakotha, S. Pougpaewl & V. Supawan. Serum protein fractions from children of differing nutritional status analysed by polyacrylamide gel electrophoresis and electroimmunoassay. **Brit. J. Nutr.**, **35**: 221, 1976.
18. Pain, V. M., V. J. Clemens & P. J. Garlick. The effect of dietary deficiency on albumin synthesis and on the concentration of actine albumin messenger ribonucleic acid in rat liver. **Biochem. J.**, **172**: 129-137, 1978.

19. Terpstra, A. H. M. **The Effect of Semipurified Diets Containing either Casein on Soybean Protein on the Concentration of Serum Cholesterol and the Lipoprotein Composition in Rabbits.** Doctoral Thesis, Department of Human Nutrition, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, 1981.
20. Chia Po Lin & Po Chao Hnang. Actual nitrogen deposition in mature adult rats fed moderate to high protein diets. *J. Nutr.*, **112**: 1067-1074, 1982.
21. Cooper, W. C., R. A. Good & T. Mariani. Effects of protein insufficiency on immune responsiveness. *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**: 647-664, 1974.
22. Coward, W. A., R. C. Whitehead & D. G. Coward. Quantitative changes in serum protein fractions during the development of kwashiorkor and in recovery. *Brit. J. Nutr.*, **28**: 433-441, 1972.
23. Golden, M. H. N. Transport protein as indexes of protein status. *Am. J. Clin. Nutr.*, **35**: 1159-1165, 1982.
24. Knopp, R. H., M. A. Boroush & J. B. O'Sullivan. Lipid metabolism in pregnancy. Postheparin lipolytic activity and hypertriglycerinemia. *Metabolism*, **24**: 481-488, 1975.
25. Powanda, M. C. Changes in body balances of nitrogen and other key nutrients. Description and underlying mechanism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**: 1254-1257, 1977.
26. Naismith, D. J. The requirement for protein and the utilization of protein and calcium during pregnancy. *Metabolism*, **15**: 582, 1986.
27. Marcos, A., P. Varela, M. T. Unzaga, E. Muñoz-Martínez, B. Jiménez-Gancedo & G. Varela. Nivel proteínico dietario durante gestación. Su influencia sobre el reparto materno-fetal de sustratos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **36**(3): 443-455, 1986.
28. Chandra, R. K. & P. H. Newberne. Mechanisms of host defense. En: **Nutrition, Immunity and Infection.** R. K. Chandra & P. H. Newberne (Eds.). New York, N. Y., Plenum Press, 1977, p. 11-29.
29. Waddel, C. C., O. D. Taunton & J. J. Twoney. Inhibition of lymphoproliferation by hyperlipoproteinemic plasma. *J. Clin. Invest.*, **58**: 950-957, 1976.
30. Reboud, P., P. Gros Lambert, C. Ollivier & J. Groulade. Proteines et lipides plasmatiques au course de la gestation normale et du post-partum; *Ann. Biol. Chem.*, **25**: 383-388, 1967.
31. De Alvarez, R. R., J. F. Alfonso & D. J. Sherrard. Serum protein fractionation in normal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **82**: 109-115, 1961.
32. Lind, T. M. B. & M. R. C. Path. Nutrient requirements during pregnancy I. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**: 669-678, 1979.
33. Mc Gillivray, I. & J. E. Torey. A study of the serum protein changes in pregnancy and toxemia using paper electrophoresis. *J. Obstet. Gyneacol. Br. Emp.*, **64**: 361-368, 1957.
34. Rosso, P. & C. Cramoy. Nutrition and pregnancy. En: **Human Nutrition.** B. Roslyn & A. Slater (Eds.), New York, N. Y., Plenum Press, 1979, p. 228.
35. Miller, S. A. Protein metabolism during growth and development. En: **Mamalian Protein Metabolism.** H. N. Munro (Ed.), New York, N. Y., Academic Press Inc., 1969, p. 183-233.
36. Mata, L. J. Environmental determinants and origins of malnutrition. En: **Malnutrition and the Immune Response.** R. M. Suskind (Ed.), New York, N. Y., Raven Press, 1977, p. 9-19.
37. Stiehm, E. R. Humoral immunity in malnutrition. *Fed. Proc.*, **39**: 3093-3097, 1980.

CHOLESTEROLEMIC EFFECTS OF THE LYSINE/ARGININE RATIO IN RABBITS AFTER INITIAL EARLY GROWTH

Albert Sánchez¹, Donna A. Rubano², Gerald W. Shavlik³,
Richard Hubbard⁴ and Merritt C. Horning⁵

School of Health and
School of Medicine
Loma Linda University
Loma Linda, California

SUMMARY

The lysine/arginine ratio has been directly associated with serum cholesterol levels. Male, New Zealand rabbits with a mean weight of 2.1 kg were fed, *ad libitum*, one of three diets containing 14% vegetable oil and 20% protein from casein, soy or almonds with lysine/arginine ratios of 2.2, 0.9, or 0.3, respectively. At the end of three weeks for phase 1, the serum cholesterol level of the casein group (154 ± 25 mg/dl, mean \pm SD) was twice the level and significantly greater ($p < 0.02$) than either of the plant protein groups (soy 70 ± 7 , almond 78 ± 6 mg/dl). During phase 2, the almond diet was supplemented with L-lysine to increase the lysine/arginine ratio from 0.3 to 3.0 while casein remained as the high, and soy the low lysine/arginine ratio control diets. Serum cholesterol levels remained high for the casein, and low for the soy groups, while lysine supplementation significantly increased ($p < 0.05$) the serum cholesterol level in the almond protein group (from 78 ± 6 to 101 ± 10), but not greater than the casein group. Growth was similar for rabbits fed soy or casein diets throughout the study, but lower ($p < 0.02$) for the almond group. Thus, growth rate was not related to the effect of dietary protein on levels of serum cholesterol.

Manuscrito modificado recibido: 1-3-88.

- 1 Professor of Nutrition, School of Public Health, Loma Linda University, Loma Linda, CA 92450, USA. Reprint requests to be sent to Dr. Sánchez, at the same address.
- 2 Graduate Student, Program in Nutrition, School of Public Health of the above-mentioned University.
- 3 Assistant Professor of Biostatistics, School of Public Health.
- 4 Associate Professor of Biochemistry, Department of Pathology, School of Medicine, Loma Linda University.
- 5 President, Lasser Foundation, Chino, California.

While there is a direct relationship between hypercholesterolemia and the absolute amount of dietary lysine and with the lysine/arginine ratio, the data suggest that this is only a partial explanation for the effect of proteins on the control of serum cholesterol levels.

INTRODUCTION

Protein quality is dependent on the amino acid composition of proteins and, in general, animal proteins provide the best balance of amino acids for maximum growth in animals when given as the sole source of protein in the diet (1-3). Lysine appears to be one of the amino acids most closely associated with the growth rate of weanling animals, and with the biological value of diets containing ordinary proteins of plant origin (4-6). Lysine is a common limiting amino acid in cereal grains, which are a major source of the total dietary protein intake in many countries. For this reason, lysine supplementation of cereals has been considered for improving protein quality (7-9), and foods high in lysine content have been developed (10). Recent data, however, relate the lysine content of proteins to serum levels of cholesterol (11-16).

The protein quality of soy protein and casein, the two most studied proteins in nutrition, are adequate proteins for infant and adult nutrition (17-19), have similar growth promoting qualities (20) and lysine content (21). Nevertheless, soy protein with a lysine to arginine ratio of 0.9 is hypocholesterolemic, and casein with a lysine to arginine ratio of 2.2 is hypercholesterolemic (11-14). It is becoming apparent that low lysine to arginine ratios are associated with a low atherogenic index (11), and low levels of serum cholesterol in animals (11-13) and human subjects (14). Since plant proteins are generally low in lysine relative to arginine, changing from a typical meat-containing diet of populations on a high protein intake to a vegetarian diet, results in significant reduction in serum cholesterol and triglycerides as well as a significant lowering of the lysine to arginine ratio of plasma in subjects attending a lifestyle modification center (15, 16). Thus, the amino acid composition of proteins is not only responsible for protein quality, but is also implicated in the control of serum cholesterol associated with cardiovascular disease.

The purpose of this study was to determine the level of serum cholesterol in rabbits fed animal or vegetable proteins having a lysine to arginine ratio that is high (casein = 2.2), low (soy = 0.9), or very low (almonds = 0.3). In addition, serum cholesterol was measured in rabbits fed almond protein, wherein the lysine/arginine ratio was increased to 3.0 by lysine supplementation.

MATERIAL AND METHODS

Animals

Each diet group was composed by six young male New Zealand rabbits with an average weight of 2.1 kg. They were housed in individual raised-bottom stainless steel cages in a room kept at 21-22°C, and 45-

60% humidity. Animals were allowed food and water *ad libitum*. After a 12 to 15 hour overnight fast, the rabbits were placed in restraining cages, the ear was swabbed with xylenol to draw the blood into the vein, and then with glycerol to prevent clotting *in situ*. Blood was removed by a transverse cut of the marginal vein in the ear and caught in a centrifuge tube without anticoagulant. The blood was then centrifuged after clotting, and the serum was frozen. All animals were weighed at the end of 1, 3 and 5 weeks.

Diet

Table 1 shows the diet composition. The dietary proteins were vitamin-free casein from ICN Nutritional Biochemicals, isolated soy protein from Ralston Purina Company⁶, or partially defatted almond meal⁷. The almond powder and almond oil were prepared by hexane extraction of whole almond meal. The vitamin mix, cellulose as alphacel, and the U.S.P. Salts XIV, were from ICN Nutritional Biochemicals. The salt mix was fortified with 0.68 mg of copper sulfate, 0.338 mg of zinc sulfate and 1 g choline per kg of diet. The diets were mixed and kept in a refrigerator at 5°C. These diets contained 30% of the calories as fat. The lysine/arginine ratio of almonds, soy and casein was 0.3, 0.9 and 2.2, respectively (21). Diets were fed *ad libitum* for a period of three weeks during phase 1. Phase 2 was the continuation of the experiment for an additional two weeks during which L-lysine was added to the almond diet to increase the lysine to arginine ratio from 0.3 to 3.0, which is similar to whole milk, with a ratio of 2.8 (21). The casein group remained as the high lysine to arginine ratio control group, and the soy protein as the low ratio control group to the lysine-supplemented almond group. Nitrogen was analyzed by the macro Kjeldahl method (22). The standard factors for converting nitrogen to protein were used (21).

TABLE 1

WEIGHT OF RABBITS FED DIFFERENT PROTEINS

Ingredient*	o/o by weight
Protein	20
Almond oil	14
Dextrin	50
Cellulose	10
Mineral mix	5
Vitamin mix	1

* See text for complete details of ingredients.

6 Anonymous. Isolated soy protein general product description. St. Louis, MO, Ralston Purina Company, Protein Division, 1979.

7 Almond powder and its composition were kindly supplied by Dr. J.A. Mattei.

Total serum cholesterol was analyzed from the frozen serum by the enzyme methods of Lie *et al.* (23) and Allain *et al.* (24) using the Technicon SMAC I System. LDL and HDL cholesterol were measured by the same enzyme methods mentioned above, coupled with separation of the lipoproteins by electrophoresis according to Castelli *et al.* (25). The LDL cholesterol includes the VLDL cholesterol fraction. The data were statistically evaluated by analysis of covariance, paired t-test and multiple comparison F-test analyses (26).

RESULTS

The initial weight was similar for all groups, as shown in Table 2. All animals significantly increased ($p < .005$) in weight throughout the experimental period. Weight gain was similar for rabbits fed casein and soy during phase 1 and phase 2. Animals fed almond protein during phase 1, or almond protein supplemented with lysine during phase 2, grew less compared to the other two groups.

TABLE 2
WEIGHT OF RABBITS FED DIFFERENT PROTEINS

Protein source	N	Phase 1 (0-3 wks)			Phase 2 ^a (3-5 wks)		Significance
		0	3 ^b	5			
Casein	5	2161 ± 61 ^{b1}	2431 ± 85 ^{1,2}	2644 ± 90 ¹			p < .005
Soy	6	2074 ± 55 ¹	2571 ± 80 ¹	2728 ± 107 ¹			p < .005
Almond	6	2159 ± 92 ¹	2276 ± 80 ²	2313 ± 116 ²			p < .005
Significance		NS	p < .02	p < .002			

a L-lysine was added to the almond diet during phase 2 to raise the lysine/arginine ratio from 0.3 to 3.0.

b Mean ± SEM reported in grams; significant differences between diet (vertical comparisons) are indicated by mean values with different number superscripts; significant growth between time periods (horizontal comparisons) is not specified, but all animals gained weight.

Table 3 depicts the serum cholesterol of rabbits fed the three different proteins. The mean total serum cholesterol was statistically similar for all three groups at the beginning of the experiment. At the end of phase 1, mean serum cholesterol was significantly higher in rabbits fed casein (154 ± 25 mg/dl, mean ± SEM) compared to soy (70 ± 7) or almond (78 ± 6). At the end of phase 2, the total serum cholesterol was also higher ($p < .02$) in the casein (109 ± 7) as compared to the soy group (58 ± 12). Adding lysine to the almond diet during the two weeks of phase 2 resulted in a higher cholesterol level (101 ± 10) than the soy group ($p < .02$), and

TABLE 3

SERUM LIPIDS IN RABBITS FED SEMIPURIFIED DIETS DIFFERING
IN PROTEIN SOURCE

A. Total cholesterol protein source	N	Phase 1 (0-3 wks)		Phase 2 ^a (3-5 wks)		Significance
		0	3 ^b	5		
Casein	5	63 ± 4 ^{b1}	154 ± 25 ¹	109 ± 7 ¹		p < .003
Soy	6	56 ± 6 ¹	70 ± 7 ²	58 ± 12 ²		NS
Almond	6	64 ± 5 ¹	78 ± 6 ²	101 ± 10 ¹		p < .03
Significance		NS	p < .02	NS		
B. LDL cholesterol						
Casein	5	40 ± 6 ¹	90 ± 21 ¹	74 ± 4 ¹		p < .002
Soy	6	36 ± 6 ¹	47 ± 7 ²	42 ± 10 ¹		NS
Almond	6	39 ± 4 ¹	43 ± 5 ²	56 ± 7 ¹		NS
Significance		NS	p < .02	NS		
C. HDL cholesterol						
Casein	5	23 ± 3 ¹	46 ± 6 ¹	36 ± 6 ¹		NS
Soy	6	20 ± 4 ¹	22 ± 2 ²	16 ± 1 ²		NS
Almond	6	25 ± 2 ¹	29 ± 2 ²	44 ± 4 ¹		p < .02
Significance		NS	p < .05	p < .05		

a L-lysine was added to the almond diet at 3 weeks to raise the lysine/arginine ratio from 0.3 to 3.0

b Mean ± SEM; significant differences between diet (vertical comparisons) are indicated by mean values with different numbers; significance between time periods (horizontal comparisons) are not specified.

statistically similar to the casein group. There were apparent, but not statistically significant differences, when comparing total serum cholesterol at the end of phase 1 to the end of phase 2 for the soy protein group, or the casein group. The tendency of cholesterol to decrease with time may be the result of a physiological adjustment to the stress of the experimental procedure.

Table 3 also indicates the LDL (low-density lipoprotein, including the very low density lipoproteins) and HDL (high-density lipoprotein) cholesterol levels. In general, the results with the LDL cholesterol follow the same pattern as those with the total cholesterol levels. LDL

cholesterol was higher ($p < .02$) during phase 1 in the casein group (90 ± 21 mg/dl) as compared to the soy (47 ± 7) or the almond group (43 ± 5). After adding lysine to the almond diet in phase 2 to change the lysine to arginine ratio from 0.3 to 3.0, the LDL cholesterol was increased (43 ± 5 to 56 ± 7 mg/dl), although not significantly, compared to the unsupplemented diet period. The HDL cholesterol was significantly greater ($p < .05$) in the casein group (46 ± 6) as compared to the soy (22 ± 2) or almond groups (29 ± 2) at the end of phase 1. The addition of lysine to the almond diet resulted in an increase of HDL cholesterol ($p < .02$). The HDL cholesterol was greater ($p < .05$) in the casein group (36 ± 6), and the lysine-supplemented almond group (44 ± 4) as compared to the soy group (16 ± 1) at the end of the two weeks of phase 2.

DISCUSSION

The protein quality of casein and soy is considered to be equivalent in growing weanling animals as determined by the rat growth method (20). In the present study, weight gain in maturing young rabbits was similar for soy and casein diets (Table 2), but their effect on serum cholesterol levels was markedly different (Table 3). Interestingly, changes in HDL cholesterol levels were in opposite direction of what might be expected in humans. Growth rate was different between the groups fed plant proteins, unsupplemented almond or soy, but both had similarly low levels of serum cholesterol as compared to casein. Therefore, growth rate is not necessarily related to the level of serum cholesterol. Animal proteins are generally higher in lysine and other essential amino acids (21) and thus have higher protein quality when single foods are fed as the sole protein source (1-3, 6). On the other hand, plant proteins are generally higher in arginine and nonessential amino acids in comparison to animal proteins (21), and are associated with lower serum cholesterol levels. Soy protein has over twice as much glycine and arginine than casein, and is consistently hypocholesterolemic (11-13, Table 3). The lower quality of plant proteins when fed separately can be made comparable to animal proteins by amino acid supplementation (7) or by judicious combinations of plant proteins (6). Since plant proteins are generally low in the lysine/arginine ratio compared to animal proteins, the common practice of ingesting complementary plant proteins in Third World countries is fortuitous, because it leads not only to diets adequate in protein quality, but also to lower levels of serum cholesterol.

Lysine addition to the hypocholesterolemic almond protein to increase the lysine/arginine ratio led to elevated serum cholesterol concentrations (Table 3). However, there has been some question as to the association of dietary lysine with serum cholesterol. Gibney (27) showed that the addition of lysine to soy significantly increased serum cholesterol in rabbits fed the diet for a period of four weeks, but the level of serum cholesterol was not necessarily proportional to the content of lysine in the diet (27, 28). The association of lysine with hypercholesterolemia and atherosclerosis has been observed in man (14) and animals (11, 27). This view is challenged by Serougne and Rujak (29) who observed a lowering rather than an increase of serum cholesterol in rats fed a diet supplemented with lysine. Their diet contained 10% lysine by weight in a 23% casein

diet, i.e., 30% of the total protein is free lysine. This amount of lysine is well within the toxic level, as shown by the decreased growth of the rats fed additional lysine; therefore, their data cannot be considered in the context of normal dietary effects of amino acids on serum cholesterol.

On the other hand, Mokady and Liener (30) showed that raising the lysine content from 0.18% to 0.9% in a 20% gluten protein diet significantly increased serum cholesterol in rats from 266 to 409 mg/dl. This was approaching the 637 mg cholesterol/dl of serum in rats fed casein which contained 0.7% lysine. The data of Serougne and Rujak (29) addresses the question of the toxic effect of lysine, while that of Mokady and Liener (30) shows a direct relationship between normal levels of lysine in the diet and serum cholesterol. Our data (Table 3) is consistent with a hypercholesterolemic effect of dietary lysine in mammals. There is substantive data to show that, in chicks, dietary lysine *per se* is hypercholesterolemic when added up to 4% of the diet; lysine apparently increases the biosynthesis of cholesterol (31).

The lysine/arginine ratio has been directly associated with hypercholesterolemia and atherosclerosis (11-14). The present study shows that the lowest serum cholesterol levels are achieved by a dietary lysine to arginine ratio of 0.9 in soy and is not decreased further by almond protein with a lysine/arginine ratio of 0.3 (Table 3). Also, a lysine/arginine ratio of 3.0 in the lysine supplemented almond group does not increase serum cholesterol above that of casein with a lysine/arginine ratio of 2.2. Egg protein, used as the standard of protein quality (6), has a lysine/arginine ratio of only 1.0, but is hypercholesterolemic (13). These data demonstrate limitations to the possible dietary lysine/arginine ratio effect on serum cholesterol in the control of serum cholesterol levels. A 1:1 combination of soy and casein protein eliminates the hypercholesterolemic effect of casein (32) which may be due to amino acid interactions. It is possible that less almond protein is required to produce a similar effect as soy, due to its high content of arginine in relation to lysine in almond protein.

Multiple plasma amino acid relationships with serum cholesterol levels in humans, including leucine (15, 16), provide additional evidence that many plasma amino acids are related to the level of serum cholesterol in humans and not only lysine and arginine. Thus, the absolute amount of dietary lysine and the lysine/arginine ratio are directly associated with the level of serum cholesterol, but these only partially explain the effects of dietary proteins on serum cholesterol levels. Our recent studies in humans (33) suggest that the dietary amino acid effects on serum cholesterol are mediated by several plasma amino acid-induced changes in blood concentrations of insulin and glucagon, which control the rate-limiting step in cholesterol biosynthesis.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported in part by the graduate student research traineeship for Donna Rubano provided by the Rex Callicott family grant, NIH grant 2507RR05821, Loma Linda Foods, Riverside, California, and the Lasser Foundation, Chino, California. The authors are grateful

to Timothy Hughlett, Paul Yahiku, Paul Allred and Inherla Hernando for their technical assistance, Lester Morris for sample analyses, Sunethra Benjamin for typing of the manuscript, and Richard Scharffenberg, for his bibliographical assistance.

RESUMEN

EFFECTOS COLESTEROLEMICOS DE LA RAZON LISINA/ARGININA EN CONEJOS, DESPUES DEL CRECIMIENTO INICIAL

La razón lisina/arginina ha sido asociada directamente con los niveles séricos de colesterol. Se utilizaron conejos macho de la cepa Nueva Zelandia, con un peso promedio de 21 kg, los que fueron alimentados *ad libitum* con una de tres diferentes dietas que contenían 140/o de aceite vegetal y 200/o de caseína de proteína soja o de almendras, cuya razón lisina/arginina era de 2.2, 0.9 ó 0.3, respectivamente. Al término de tres semanas de la primera fase del estudio, el nivel sérico de colesterol del grupo de caseína era de 154 ± 25 mg/dl (promedio \pm DE), o sea el doble ($P < 0.02$) que cualquiera de los grupos alimentados con proteínas de origen vegetal (soja 70 ± 7 mg/dl; almendras, 78 ± 6 mg/dl). Durante la segunda fase, la dieta con proteína de almendras se suplementó con L-lisina para aumentar la razón lisina/arginina de 0.3 a 3.0, mientras que la dieta de caseína se mantuvo como grupo control alto, y la de soja, como grupo control con una razón lisina/arginina, baja. Los niveles séricos de colesterol se mantuvieron elevados en el grupo de caseína y bajos en el grupo que recibió soja, mientras que la suplementación con lisina incrementó significativamente ($P < 0.05$) el nivel sérico de colesterol en el grupo alimentado con almendras, el que ascendió de 78 ± 6 mg/dl a 101 ± 10 mg/dl, pero sin sobrepasar el nivel del grupo de caseína. Así, el crecimiento fue similar en los conejos alimentados con soja o caseína durante todo el período del estudio, pero más bajo ($P < 0.02$) en el grupo al que se administró proteína de almendras. El crecimiento, por lo tanto, no se relaciona con el efecto de las proteínas de la dieta en los niveles de colesterol sérico.

Si bien la cantidad absoluta de lisina en la dieta y la razón lisina/arginina están asociadas positivamente con hipercolesterolemia, los datos sugieren que esto es tan sólo una explicación parcial del efecto que las proteínas ejercen en el control de los niveles séricos de colesterol.

BIBLIOGRAPHY

1. Morgan, A. F., C. N. Hunt, L. Arnrich & E. Lewis. Evaluation of five partially purified proteins by nitrogen balance in mature dogs, including a study of the antitryptic activity of egg white. *J. Nutr.*, **43**:63-75, 1951.
2. Morrison, A. B., Z. I. Sabry, N. T. Gridgeman & J. A. Campbell. Evaluation of protein in foods. VIII. Influence of quality and quantity of dietary protein on net protein utilization. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **41**:275-281, 1963.
3. Carpenter, K. J. & K. Anantharaman. The nutritive value of poor proteins fed at high levels. I. The growth of rats. *Br. J. Nutr.*, **22**:183-197, 1968.
4. Harper, A. E. & H. J. H. de Muelenaere. The nutritive value of cereal proteins with special reference to the availability of amino acids. *Proc. Fifth Intl Congr. Biochem.*, **8**:82-107, 1963.

5. Albanese, A. A., R. A. Higgons, G. M. Hyde & L. Orto. Lysine and tryptophan content of proteins and their utilization for human growth. *Am. J. Clin. Nutr.*, **4**:161-168, 1956.
6. Sánchez, A., J. A. Scharffenberg & U. D. Register. Nutritive value of selected proteins and protein combinations. I. The biological value of proteins singly used in meal patterns with varying fat composition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **13**:243-249, 1963.
7. Bressani, R., N. S. Scrimshaw, M. Béhar & F. Vitale. Supplementation of cereal proteins with amino acids. II. Effect of amino acids supplementation of corn masa at intermediate levels of protein intake on the nitrogen retention of young children. *J. Nutr.*, **66**:501-513, 1958.
8. Committee on Amino Acids. **Evaluation of Protein Nutrition.** A Report of the Food and Nutrition Board, Division of Biology and Agriculture, Washington, D.C., National Academy of Sciences – National Research Council, 1959, p. 43 (Publication 711).
9. Rosenberg, H. R. & R. E. Eckert. Multiple amino acid supplementation of proteins. In: **Meeting Protein Needs of Infants and Children.** Washington, D. C., National Academy of Sciences – National Research Council, p. 451-467, 1961 (Publication 843).
10. Mertz, E. T., O. A. Vernon & L. S. Bates. Growth of rats on opaque-2 maize. *Sci.*, **148**:1741-1742, 1965.
11. Kritcheosky, D., S.A. Tepper, S.K. Czarnecki & D.M. Klurfeld. Atherogenicity of animal and vegetable protein – Influence of the lysine to arginine ratio. *Atherosclerosis*, **41**:429-431, 1982.
12. Kritcheosky, D. Vegetable protein and atherosclerosis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**:135-140, 1979.
13. Carroll, K. K. Soya protein and atherosclerosis. *J. Am. Oil Chem., Soc.*, **58**:416-419, 1981.
14. Sirtori, C. R., G. Nosedà & G. C. Descorich. Studies on the use of a soybean protein diet for the management of human hyperlipidemia. In: **Animal and Vegetable Proteins in Lipid Metabolism and Atherosclerosis.** M. J. Gibney & D. Kritcheosky (Eds.). New York, N. Y., Alan R. Liss, Inc., 1983, p. 135-148.
15. Sánchez, A., M. C. Horning & D. C. Wingelet. Plasma amino acids in humans fed plant proteins. *Nutr. Repts. Intl.*, **28**:497-507, 1983.
16. Sánchez, A., M. C. Horning, G. W. Shavlik, D. C. Wingelet & R. W. Hubbard. Changes in levels of cholesterol associated with plasma amino acids in humans fed plant proteins. *Nutr. Repts. Intl.*, **32**:1047-1056, 1985.
17. Fomon, S. J. Comparative study of human milk and soya bean formula in promoting growth and nitrogen retention by infants. *Pediatrics*, **24**:577-584, 1959.
18. Torún, B. Nutritional quality of soybean protein isolates: Studies in children of preschool age. In: **Soy Protein and Human Nutrition.** H. L. Wilke, D. T. Hopkins & D. H. Waggle (Eds.). New York, N. Y., Academic Press, 1979, p. 101-119.
19. Scrimshaw, N. S. & V. R. Young. Soy protein in adult human nutrition: A review with new data. In: **Soy Protein and Human Nutrition.** H. L. Wilke, D. T. Hopkins & D. H. Waggle (Eds.). New York, N. Y., Academic Press, 1979, p. 121-143.
20. Sánchez, A. U. D. Register, J. W. Blankenship & C. C. Hunter. Effect of microwave heating of soybeans on protein quality. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **31**:44-51, 1981.
21. Orr, M.L. & B.K. Watt. **Amino Acid Content of Foods.** Washington, D. C., US

- Government Printing Office, 1957, p. 8, 20. (Home Economic Research Report No. 4).
22. Horwitz, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 13th ed. Washington, D. C., The Association, 1980, p. 15.
 23. Lie, R., J. M. Schmitz, K. J. Pierre & N. Gochman. Cholesterol oxidase-based determination, by continuous-flow analysis of total and free cholesterol in serum. **Clin. Chem.**, **22**:1627-1630, 1976.
 24. Allain, C. C., L. S. Poon, C. S. G. Chane, W. Richmond & P. C. Fu. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chem.**, **20**:470-475, 1974.
 25. Castelli, W. P., J. T. Doyle, T. Gordan, C. G. Hames, M. C. Hjortland, S. B. Hulley, A. Kagan & W. J. Zukel. ADL cholesterol and other lipids in coronary heart disease: The cooperative lipoprotein phenotyping study. **Circulation**, **55**: 767-772, 1977.
 26. Nie, N. A., C. H. Hull, J. G. Jenkins, K. Stein Brenner & D. H. Bent. **Statistical Package for the Social Sciences**. 2nd ed. New York, N. Y., 1975, p. 398-418.
 27. Gibney, M. J. The effect of dietary lysine to arginine ratio on cholesterol kinetics in rabbits. **Atherosclerosis**, **47**:263-270, 1983.
 28. Goulding, N. J., M. J. Gibney, T. G. Taylor & P. J. Gallagher. Reversible hypercholesterolemia produced by cholesterol-free fish meal protein diets. **Atherosclerosis**, **49**:127-137, 1983.
 29. Serougne, C. & A. Rukaj. Plasma and lipoprotein. Cholesterol in rats fed L-amino acid-supplemented diets. **Ann. Nutr. Metab.**, **27**:386-395, 1983.
 30. Mokady, S. & I. E. Liener. Effect on plant proteins on cholesterol metabolism in growing rats fed atherogenic diets. **Ann. Nutr. Metab.**, **26**:138-144, 1982.
 31. Schmeisser, D. D., F. A. Kummerow & D. H. Baker. Effect of excess dietary lysine on plasma lipids of the chick. **J. Nutr.**, **113**:1777-1783, 1983.
 32. Huff, N. W., R. M. G. Hamilton & K. K. Carroll. Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, cholesterol-free, semipurified diets: Effects of dietary proteins, protein hydrolysates and amino acid mixtures. **Atherosclerosis**, **28**:187-195, 1987.
 33. Hubbard, R. W., C. Loder, L. Berk, G. Shavlik & A. Sánchez. The effect of dietary protein (amino acids) on serum insulin and glucagon levels in hyper- and normocholesterolemic men. (Submitted for publication).

SEPARATE EFFECTS OF DIETARY PROTEIN AND FAT ON SERUM CHOLESTEROL LEVELS: ANOTHER VIEW OF AMINO ACID CONTENT OF PROTEINS

Albert Sánchez,¹ Donna A. Rubano,² Gerald W. Shavlik,³ Patrick Fagenstrom,⁴ U.D. Register⁵ and Richard W. Hubbard⁶

School of Health and
School of Medicine
Loma Linda University
Loma Linda, California

SUMMARY

Casein or soy protein with vegetable or animal fat were used to determine the dietary protein or fat effects and their possible interaction on serum cholesterol levels. Young, male New Zealand white rabbits with a mean weight of 2.1 kg were divided into groups of six and fed one of four different diets containing 20% of the calories as protein, 30% as fat (according to dietary guidelines for the United States) and 50% as carbohydrate. The diets contained casein or soy (lysine/arginine ratio = 2.2 or 0.9, respectively) as the protein sources with fat from either almond oil or butter. There was no significant difference in weight gain among the diet groups. Total serum cholesterol level was highest among animals fed the diet containing butter with casein (177 ± 25 mg/dl) or soy protein (189 ± 50 mg/dl), it was intermediate in animals fed the vegetable oil with casein (121 ± 14 mg/dl), and lowest in the soy protein with vegetable oil group (58 ± 12 mg/dl). There was a significant difference in serum cholesterol levels due to the protein effect when vegetable oil was used ($p < 0.05$) but not with butter. There was also a significant fat effect on

Manuscrito modificado recibido: 1-4-88.

- ¹ Professor of Nutrition, School of Public Health, Loma Linda University, Loma Linda, CA 92450, USA. Reprint requests to be sent to Dr. Sánchez, at the same address.
- ² Graduate Student, Program in Nutrition, School of Public Health of the above-mentioned University.
- ³ Assistant Professor of Biostatistics, School of Public Health.
- ⁴ Resident in Medicine, School of Medicine, Loma Linda University.
- ⁵ Professor of Nutrition, School of Public Health of the same University.
- ⁶ Associate Professor of Biochemistry, Department of Pathology, School of Medicine, Loma Linda University.

serum cholesterol when the diet contained soy protein ($p < 0.005$) but not when the protein was casein. No significant interaction was observed between the dietary fat and protein sources on serum cholesterol levels, which suggests that dietary protein and fat independently affect the levels of serum cholesterol.

Thus, dietary protein has a significant effect on serum cholesterol levels and may be a factor in the low levels of serum cholesterol observed among vegetarians and in humans of Third World countries where the diets is primarily of vegetable origin.

INTRODUCTION

Estimates of protein quality have largely centered on the amino acid composition of proteins that provide rapid growth and nitrogen retention (1). Using these criteria of protein quality, early studies demonstrated that animal proteins elicit fast growth and have a higher biological value than plant proteins when the diet is composed of only single foods and is fed for prolonged periods of time (2-4). These data indicate that the proportion of amino acids in single foods of animal origin more nearly meets the requirements for maximum growth of animals and humans than plant proteins.

From these important experiments, the conclusion has been drawn that animal proteins are complete and plant proteins, generally, are incomplete. Moreover, animal proteins are richer sources of the essential amino acids and poorer sources of the nonessential amino acids than plant proteins (5). Subsequent studies on protein quality have shown that plant proteins can be combined to produce a protein quality similar to that found in diets containing animal proteins (6-8). Bressani and Béhar (9) have called attention to the importance of evaluating protein quality on the basis of the amino acid content of the entire meal rather than relegating proteins into poor or high quality proteins based on their growth-promoting properties when separate proteins are fed as the sole source of protein.

Recent studies on protein nutrition (10-16) show that, aside from dietary lipids and carbohydrates (17), proteins are involved in modulating the level of cholesterol in serum of animals and humans. In general, plant proteins are hypocholesterolemic and animal proteins are hypercholesterolemic. These effects of dietary proteins on serum cholesterol are attributed to their amino acid content (10-16), i.e., protein quality and not quantity of protein in the diet. Thus, this phase of research on protein nutrition is focusing on the possible role of proteins in health and disease which is distinct from protein quality based on growth and nitrogen retention. The superiority of animal proteins over plant proteins resides in an amino acid content that promotes growth and nitrogen retention in the young. The value of plant proteins seems to reside in an amino acid content that is associated with lowered serum cholesterol levels and thereby a lower risk to cardiovascular disease.

The two most studied proteins are casein and soy protein which have comparable protein quality (18) but a remarkably different effect on cholesterol levels and atherogenesis (12-16). Casein is known to be hypercholesterolemic and soy protein hypocholesterolemic. The arginine and glycine content of soy protein isolate is over two times greater than

for casein (19). Arginine and glycine have been associated with hypocholesterolemia in animals (20) and have been found to increase in fasting plasma of humans which changed from a typical meat-containing diet to a vegetarian diet (10) or who were fed a soy protein diet (21). A previous report on rabbits (19) revealed that casein is hypercholesterolemic compared to soy or almond protein when the diet contains vegetable oil. The present article compares the serum lipids levels of rabbits fed either casein or soy protein with either an animal or vegetable fat.

This study was designed to determine if there was an interaction between dietary fat and protein in their effects on the serum cholesterol levels in animals fed diets with a fat contributing 30% of the calories, as recommended (22) for human diets.

MATERIAL AND METHODS

Animals and Diets

Male rabbits of the New Zealand white strain from Red Beau Farms, Redlands, California, were kept individually in stainless steel cages with wire-mesh bases in a room with controlled illumination (12 hr/day), temperature (21-22°C) and humidity (45-50%). All animals were fed a pelleted commercial diet (Ralston Purina Chow) for 10 days after arrival. The rabbits then were divided randomly into four groups of six animals per group, with mean weights of 2.1 kg and allowed a semi-purified diet containing casein + butter (CB), casein⁷ + almond oil⁸ (CO), soy⁹ + butter (SB), or soy + almond oil (SO). Nitrogen was measured by the Kjeldahl method according to Horwitz (23) and the standard nitrogen conversion factors were used (5). The composition of the diets is given in Table 1. Diets were formulated so as to contain 20% protein by weight and 14% fat (30% of calories) which is the dietary fat goal for the United States. A typical analysis of the almond oil used in this study⁸ was 61% oleic, 29% linoleic acids and 10% saturated fatty acids. Butter, on the other hand, is rich in saturated fatty acids (50%) but low in polyunsaturated fatty acids (3%). The butter-containing diets were estimated to contain 31 mg of cholesterol per 100 g of feed as calculated (24) from the cholesterol content of butter (219 mg/100 g). The diets contained 1% AIN Vitamin Mix 76 supplemented with 1 g choline chloride/kg ration and 5% USP Salts XIV supplemented with 1.5 mg copper (as copper sulfate) and 34 mg zinc (as zinc sulfate) per kilogram of dry ration. Food and water were allowed *ad libitum*. The animals were weighed at weeks 1, 3 and 5 of the experimental period. During the experiment, one rabbit from the CB group died of an unknown cause and one from the SB group was diagnosed as having a congenitally

⁷ Vitamin-free casein from ICN Nutritional Biochemicals.

⁸ Almond oil and its analyses were supplied by courtesy of John Mattei of Blue Diamond, California Almond Growers Exchange.

⁹ Ralston Purina Supro 620T soy protein isolate with 0.1% titanium.

TABLE 1

COMPOSITION OF SEMIPURIFIED DIETS^a

Ingredient	% Weight
Protein ^b	20.0
Lipid	14.0
Dextrin	50.0
Cellulose	10.0
Vitamins	1.0
Minerals	5.0

a See text for details.

b Purified high nitrogen casein or soy protein isolate.

malformed jaw. No relationship between diet group and mortality or morbidity was apparent.

Analysis of Serum Lipids

On day 35 of the experimental period, blood samples were drawn between 0800 and 1,200 hours after the removal of any remaining food in the cage at 2,200 hours the previous day. Approximately 5 ml of blood were collected in tubes without anticoagulant after a transverse cut of the marginal ear vein. After coagulation of blood at room temperature, serum was prepared by low-speed centrifugation also at room temperature. Cholesterol in serum was measured enzymatically according to the method of Lie *et al.* (25) and Allain *et al.* (26). The cholesterol in lipoproteins was analyzed by the electrophoresis methodology of Castelli *et al.* (27).

Statistics

The overall effects between dietary protein or fat on serum total cholesterol levels were statistically analyzed by the general linear hypothesis test. The multiple F-test analysis was used to evaluate the differences between diet groups. These statistical tests were run by use of the SPSS package of Nie *et al.* (28).

RESULTS

There were no significant differences in weight gain between the casein and soy groups although, for unknown reasons, the group fed the soy with butter gained the least, and the soy with almond oil group gained the most weight (Table 2).

The concentration of lipids in rabbit serum is shown in Table 3. There was a significant difference in serum total cholesterol levels between

TABLE 2
WEIGHT GAIN OF RABBITS FED EXPERIMENTAL DIETS DURING Ad35-DAY

Diet	Sample size	Weight gain
		Mean \pm SE
Casein & butter	5	568 \pm 135 ^a
Casein & oil	6	484 \pm 76
Soy & butter	5	341 \pm 131
Soy & oil	6	654 \pm 89

a No statistical significance between any group means.

TABLE 3
THE DIETARY PROTEIN OR FAT EFFECTS ON SERUM CHOLESTEROL
IN RABBITS DURING 5 WEEKS

Serum lipid diet		Diet		Significance ^a	
		(mg/dl) Mean \pm SE	(mg/dl) Mean \pm SE		
A. TOTAL	CB ^b	177 \pm 25	CO ^c	121 \pm 14	NS
	SB ^b	189 \pm 50	SO ^c	58 \pm 12	p < .005
		NS		p < .05	
B. VLDL + LDL	CB	136 \pm 25	CO	80 \pm 8	NS
	SB	158 \pm 50	SO	42 \pm 11	p < .005
		NS		NS ρ	
C. HDL-C	CB	41 \pm 1	CO	41 \pm 7	NS
	SB	25 \pm 3	SO	16 \pm 2	p < .05
		p < .05		p < .001	

a Horizontal values (means \pm SEM) compare the fat effect, vertical values compare the protein effect; statistical analysis by the F-test.

b Sample size = 5.

c Sample size = 6.

dietary fat groups when the diets contained soy protein ($p < .005$), but not when they contained casein. There was also a significant difference in total serum cholesterol levels between protein groups ($p < .05$) when the diets contained almond oil but not when they contained butter.

Table 3 depicts the combined value for the cholesterol in the VLDL (very low density lipoproteins) and the LDL (low density lipoproteins) fractions of the lipoproteins in serum of rabbits. As observed, the mean values were proportionately similar to those for total cholesterol, shown

above. Again, the lowest concentration of serum lipids was in the group fed plant protein and vegetable oil.

Table 3 also indicates the results of dietary protein on high-density lipoprotein cholesterol. There was a significant decrease in HDL (high density lipoprotein) cholesterol due to soy protein when the diet included either animal ($p < .05$) or vegetable fat ($p < .001$). A difference in fat effect was noted only when the protein was from soy ($p < .05$), not casein.

The linear hypothesis analysis of the data in Table 3, to determine 1) whether dietary protein or fat affects the serum lipid levels, and 2) whether there is an overall interaction between the dietary protein and fat on the serum lipid levels, is shown in Table 4. As the data reveal, there was a significant dietary fat effect on all the serum lipid fractions ($p < .04$ to $p < .006$) and a significant dietary protein effect on HDL cholesterol ($p < .04$). No significant overall interaction between dietary protein and fat on the level of cholesterol or its lipoprotein fractions was observed.

TABLE 4

OVERALL STATISTICAL SUMMARY LEVEL OF INTERACTION AND EFFECTS OF DIETARY PROTEINS AND FATS ON SERUM LIPIDS IN RABBITS

Serum lipid	Protein-fat interaction	Nutrient effect	
		Protein	Fat
<i>Cholesterol</i>			
<u>Total</u>	NS ^a	NS	$p < 0.006$
<u>LDL-C</u>	NS	NS	$p < 0.007$
<u>HDL-C</u>	NS	$p < 0.001$	$p < 0.04$

a Statistical analysis by the general linear hypothesis; NS = No statistically significant difference.

DISCUSSION

This study was designed to test the effects of dietary fat and protein and the possible interaction of these nutrients on serum cholesterol levels in rabbits fed diets containing fat at 30% of calories as suggested by the United States dietary guidelines (22). It is significant to note that the lowest serum cholesterol level was achieved in rabbits fed a diet where both the protein and fat are of plant origin (Table 3), indicating that dietary protein as well as fat, affect the serum cholesterol level. The dietary fat effect on serum total cholesterol level became significant only when the diet contained the plant protein, but not when casein was fed. Similarly, the dietary protein effect was evident only when the fat was plant origin.

Our study corroborates the hypothesis of a dietary protein effect on serum cholesterol, as reported by others in the rabbit (13-15), hamster (31, 32) mouse (33), rat (33-35), pig (29, 30, 36) and humans (12). In all these studies the serum cholesterol was lower when the diet contained plant protein as compared to animal protein. The data suggest that the

effect of dietary protein on serum cholesterol was separate from that of the effects of dietary fat, since we found no significant interaction (i.e., additive or synergistic effect) between dietary proteins and fats in their effects on the level of serum cholesterol (Table 4). This conclusion is supported by data from Walsh, Beitz and Jacobson (29) and Forsythe *et al.* (30) who found no interaction between dietary protein and fat on serum cholesterol in pigs fed diets containing 40-42% of calories as fat.

The high level of serum cholesterol in rabbits fed a diet containing soy protein and butter (Table 3) seems unusual, given the hypocholesterolemic effect of soy protein. High levels of serum cholesterol have been reported by Kattleman and Carroll (37) in rats fed diets prepared with soy protein and beef tallow or lard at 40% of calories and by Forsythe *et al.* (29) in pigs fed soy protein in a diet containing tallow at 42% of calories. The high level of serum cholesterol in rabbits (Table 3), rats (37) or pigs (30) fed soy protein diets containing different animal fats, suggest that these high levels of saturated fats which contain cholesterol appear to mask the serum cholesterol-lowering effect of soy protein. Diersen-Schade *et al.* (38) found that serum cholesterol levels were consistently low in pigs fed soy protein with soy oil, but the level of serum cholesterol was the same as in beef-fed pigs if the soy protein diets contained cholesterol in the form of egg yolk. Since cholesterol intake and excretion were similar for both diets containing cholesterol, they conclude that the soy protein is unable to inhibit cholesterol biosynthesis when dried egg yolk is added to an otherwise hypocholesterolemic diet. This effect of egg yolk is confounded by its lipid (38) or protein content (15), which are hypercholesterolemic.

Soy protein and vegetable oil have a lowering effect on serum HDL cholesterol levels (Table 3). The rabbit serum HDL-lowering effect of soy protein has been noted previously in our laboratory (19). In humans, diets that lower total serum cholesterol generally elevate HDL-cholesterol (39). Nevertheless, no correlations between rabbits and man can be made with respect to their HDL cholesterol levels, since the response of high density lipoproteins to diet in these two species appears to be markedly different. Kattleman and Carroll (37) and Forsythe *et al.* (30) found no difference in serum HDL cholesterol due to dietary protein in rats or pigs, respectively. The differences in fatty acid content of tallow, lard and butter (24), as well as species differences may partially explain the differences between our findings and those of others on HDL cholesterol levels.

The data in Table 3 indicate that the differences in amino acid composition of soy protein and casein must be responsible for the differences in levels of serum cholesterol since all other dietary factors are constant. While the possible differential digestibility of casein and soy protein has been considered (36), this does not explain the large differences exerted by these proteins on serum cholesterol levels. Supplements of arginine and glycine, which are high in soy protein, have been associated with hypocholesterolemia in animals (20), and plasma arginine and glycine concentrations are increased in human subjects who change from a typical American to a vegetarian diet (10, 11). Moreover, increases of plasma arginine and glycine in humans are associated with decreased levels of serum cholesterol. Although low serum cholesterol levels and diet-related

low mortality rates among vegetarians has been largely attributed to lipid intake (40-42), our present data show that dietary protein has a specific modifying effect on the levels of serum cholesterol aside from that of fat. Also, a review of epidemiological data (43) provides evidence for a correlation between dietary protein and incidence of coronary heart disease in 20 industrialized or developing countries where animal or plant protein predominate, respectively. The preoccupation with the role of dietary lipids in cardiovascular disease during the past three decades, has caused an oversight of the role of protein in relation to low serum cholesterol levels and the low incidence from cardiovascular disease among vegetarians and persons ingesting primarily plant proteins in Third World countries.

Research has established casein as a standard of protein quality which is directly related to the proportion of essential amino acids in proteins. Recently, however, the hypercholesterolemic effects of casein and the causal association between serum cholesterol levels and cardiovascular disease (44, 45) have been recognized. The hypocholesterolemic effects of soy protein are attributed to its nonessential amino acid content (19). Thus, high quality proteins having an essential amino acid composition that provides the best growth and development in the young may not be the best protein in adult nutrition for the purpose of maintaining low serum cholesterol levels. It now appears that our former concepts on amino acid content of protein to maximize growth and nitrogen retention must be expanded to include the entire physiological response of the body to dietary proteins.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported in part by the graduate student research traineeship for Donna Rubano provided by the Rex Callicott family grant, NIH grant 2507RR05821, Loma Linda Foods, Riverside, California and the Lassen Foundation, Chino, California.

The authors are grateful to Timothy Hughlett, Paul Yahiku, Paul Allred and Inherla Hernando for technical assistance, Lester Morris for the sample analyses, Blanca Rivera for her typing of the manuscript, and to Richard Scharffenberg, for his bibliographical assistance.

RESUMEN

EFFECTOS SEPARADOS DE LA PROTEINA Y DE LA GRASA DE LA DIETA SOBRE LOS NIVELES SERICOS DE COLESTEROL: OTRO PUNTO DE VISTA DEL CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN LAS PROTEINAS

Se usó caseína o proteína de soja juntamente con grasa vegetal o grasa animal para estudiar los efectos y posibles interacciones de las proteínas con las grasas de la dieta en los niveles de colesterol sérico. Se utilizaron conejos macho jóvenes, blancos, de la cepa Nueva Zelanda, con un promedio de peso de 2.1 kg. Estos se dividieron en grupos de seis y se alimentaron con una de cuatro dietas diferentes en las que un 20% de las calorías provenía de proteínas, 30% de grasas (según las recomendaciones dietéticas de los Estados Unidos) y 50% de carbohidratos. Las dietas contenían

caseína o soja (razón de lisina/arginina = 2.2 ó 0.9, respectivamente) como fuente de proteína y aceite de almendras o mantequilla, como grasa. No hubo ninguna diferencia significativa en el aumento del peso corporal entre los grupos sujetos a las diferentes dietas. El nivel sérico de colesterol total más alto se encontró en los animales alimentados con las dietas que contenían mantequilla y caseína (177 ± 25 mg/dl) o mantequilla y proteína de soja (189 ± 50 mg/dl); ese nivel fue mediano en el grupo de animales que recibieron dietas con aceite vegetal y caseína (121 ± 14 mg/dl) y el más bajo se detectó en el grupo cuya dieta contenía proteína de soja y aceite vegetal (58 ± 12 mg/dl). Hubo una diferencia significativa en los niveles séricos de colesterol debido al efecto de las proteínas cuando se utilizó aceite vegetal ($P < 0.05$), pero no así cuando se usó mantequilla. Se observó también un efecto significativo debido a la grasa en el nivel sérico de colesterol cuando la dieta contenía proteína de soja ($P < 0.005$), pero no cuando la proteína era caseína. No se observó ninguna interacción significativa entre las grasas y las proteínas de la dieta, lo que sugiere que la proteína y la grasa de la dieta afectan los niveles séricos de colesterol independientemente. Por consiguiente, la proteína de la dieta tiene un efecto significativo en los niveles séricos de colesterol, y bien puede ser un factor en los bajos niveles de colesterol sérico que se observan entre los vegetarianos, así como en las personas que viven en los países del Tercer Mundo, donde la dieta es predominantemente de origen vegetal.

BIBLIOGRAPHY

1. Pellet, P.L. & V.R. Young (Eds.) **Nutritional Evaluation of Protein Foods**. Tokyo, Japan, The United Nations University, 1980, p. 103-117.
2. Mitchell, H.H. The biological utilization of proteins and protein requirements. In: **Proteins and Amino Acids in Nutrition**. M. Sahynn (Ed.). New York, N.Y., Reinhold Publishing Corporation, 1948, p. 46-81.
3. Munro, H.N. An introduction to nutritional aspects of protein metabolism. In: **Mammalian Protein Metabolism**. Vol. 2. H.N. Munro and J.B. Allison (Eds.). New York, N.Y., Academic Press, 1964, p. 3-39.
4. Allison, J.B. The nutritive value of dietary proteins. In: **Mammalian Protein Metabolism**. Vol. 2. H.N. Munro and J.B. Allison (Eds.). New York, N.Y., Academic Press, 1964, p. 41-86.
5. Orr, M.L. & B.K. Watt. **Amino Acid Content of Foods**. Washington, D.C., United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1968, p. 8, 20. (Home Economics Research Report No. 4).
6. Sánchez, A., J.A. Scharffenberg & U.D. Register. Nutritive value of selected proteins and protein combinations. I. The biological value of proteins singly and in meal patterns with varying fat composition. **Am. J. Clin. Nutr.**, **13**: 243-249, 1963.
7. Sánchez, A., G.G. Porter & U.D. Register. Effect of entree on fat and protein quality. **J. Am. Dietet. Assoc.**, **49**: 492-496.
8. João, W. da S.J., L.G. Elias & R. Bressani. Valor nutritivo de dietas elaboradas a base de tubérculos y leguminosas consumidas en tres proporciones diferentes. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **34**: 315-320, 1984.
9. Bressani, R. & M. Béhar. The use of plant protein foods in preventing malnutrition. In: **Proceedings of the Sixth International Congress of Nutrition**. Edinburgh, Eds. Livingstone Ltd., 1964, p. 181-206.
10. Sánchez, A., M.C. Horning & D.C. Wingelet. Plasma amino acids in humans fed plant proteins. **Nutr. Reps. Intl.**, **28**: 497-507, 1983.

11. Sánchez, A., M.C. Horning, G.W. Shavlik, D.C. Wingeleth & R.W. Hubbard. Changes in levels of cholesterol associated with plasma amino acids in humans fed plant proteins. *Nutr. Repts. Intl.*, **32**: 1047-1056, 1985.
12. Sirtori, C.R., G. Nosedà & G.C. Descovich. Studies on the use of a soybean protein diet for management of human hyperlipidemia. In: **Animal and Vegetable Proteins in Lipid Metabolism and Atherosclerosis**. M.J. Gibney and D. Kritchevsky (Eds.). New York, N.Y., Alan R. Liss, Inc. 1983, p. 135-148.
13. Kritchevsky, D., S.A. Tepper, S.K. Czarnecki & D.M. Klurfeld. Atherogenicity of animal and vegetable protein - influence of the lysine to arginine ratio. *Atherosclerosis*, **41**: 429-431, 1982.
14. Kritchevsky, D. Vegetable protein and atherosclerosis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**: 135-140, 1979.
15. Carroll, K.K. Soya protein and atherosclerosis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**: 416-419, 1981.
16. Tepstra, A.H.M., R.J.J. Hermus & C.E. West. The role of dietary protein in cholesterol metabolism. *World Rev. Nutr. Dietet.*, **42**: 1-55, 1983.
17. Report of the Working Group on Arteriosclerosis of the National Heart, Lung, and Blood Institute. **Environmental and Genetic Factors in Atherosclerosis. Arteriosclerosis 1981**, Vol. 2, N11- Pub. No. 82-2035, Washington, D.C., National Institutes of Health, 1981, p. 52-74.
18. Sánchez, A., U.D. Register, J.W. Blankenship & C.C. Hunter. Effect of microwave heating of soybeans on protein quality. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **31**: 44-51, 1981.
19. Sánchez, A., D.A. Rubano, G.W. Shavlik, R.W. Hubbard & M.C. Horning. Cholesterolemic effects of the lysine/arginine ratio in rabbits after initial early growth. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **38**(2): 229-238, 1988.
20. Katan, M.B., L.H.M. Vroomen & R.J.J. Hermus. Reduction of casein-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis in rabbits and rats by dietary glycine, arginine, and alanine. *Atherosclerosis*, **43**: 381-391, 1982.
21. Descovich, G.C., M.S. Benassi, M. Capelli, A. Gaddi, G. Grossi, S. Piazzini, Z. Sangiorgi, G. Mannino & S. Lenzi. Metabolic effects of lecithinated and non-lecithinated textured soy protein treatment in hypercholesterolemia. In: **Lipoproteins and Coronary Atherosclerosis**, Sym. Giovanni Lorenzini Found, Vol. 13. G. Nosedà, C. Frangiaco, R. Fumagali and R. Paoletti (Eds.). New York, N.Y., Elsevier Biomedical Press, 1982, p. 279-288.
22. **Dietary Guidelines for Americans**. 2nd ed. Hyattville, MD, US Department of Agriculture, 1985 (Home and Garden Bulletin No. 232).
23. Horwitz, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 13th ed. Washington, D.C., The Association, 1980, p. 15.
24. Posati, L.P. & M.L. Orr. **Composition of Foods: Dairy and Egg Products, Raw, Processed, Prepared**. Washington, D.C., United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1976 (Agriculture Handbook No. 8-1).
25. Lie, R., J.M. Schmitz, K.J. Pierre & N. Gochman. Cholesterol oxidase-based determination, by continuous-flow analysis of total and free cholesterol in serum. *Clin. Chem.*, **22**: 1627-1630, 1976.
26. Allain, C.C., L.S. Poon, C.S.G. Chané, W. Richmond & P.C. Fu. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.*, **20**: 470-475, 1974.
27. Castelli, W.P., J.T. Doyle, T. Gordon, C.G. Hames, M.C. Hjortland, S.B. Hulley, A. Kagan & W.J. Zukel. HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease: The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation*, **55**: 767-772, 1977.

28. Nie, N.H., C.H. Hull, J.G. Jenkins, K. Steinbrenner & D.H. Bent. **Statistical Package for the Social Sciences**. 2nd ed. New York, N.Y., McGraw-Hill, 1975, p. 398-418.
29. Walsh, L.S., D.C. Beitz & N.L. Jacobson. LDL uptake and cholesterol and fat concentrations in tissues of miniature pigs fed fats and proteins of vegetable and animal origin. **Fed. Proc.**, **43**: 796, 1984 (Abstract).
30. Forsythe, W.A., E.R. Miller, G.M. Hill, D.R. Romsos & R.C. Simpson. Effects of dietary protein and fat sources on plasma cholesterol parameters, LCAT activity and amino acid levels and on tissue lipid content of growing pigs. **J. Nutr.** **110**: 2467-2479, 1980.
31. Mahfouz-Cerone, S., J.E. Johnson & G.U. Liepa. Effect of dietary animal and vegetable protein on gallstone formation and biliary constituents in the hamster. **Lipids**, **19**: 5-10, 1984.
32. Beynen, A.C. & J.A. Schouten. Influence of dietary soybean protein and casein on the level of plasma cholesterol in hamsters. **Nutr. Reps. Intl.**, **28**: 835-841, 1983.
33. Nagata, Y., T. Kazunari & M. Sugano. Serum and liver cholesterol levels of rats and mice fed soya-bean or casein. **J. Nutr. Sci. Vitaminol**, **2R**: 583-593, 1981.
34. Lefevre, M. & B.O. Scheeman. High-density lipoprotein composition in rats fed casein or soy protein isolate. **J. Nutr.**, **114**: 768-777, 1984.
35. Beynen, A.C., A.H.M. Terpstra, C.E. West & G. Van Tintelen. The concentration of serum cholesterol in rats fed cholesterol-free, low-fat semipurified diets containing either casein or soybean protein. **Nutr. Reps. Intl.**, **28**: 363-374, 1983.
36. Beynen, A.C., C.E. West, J. Huisman, P. van Leeuwen & J.B. Schutte. Differential cholesterol effects of dietary casein and soy protein in pigs: Role of protein digestibility. In: **Cholesterol Metabolism in Health and Disease**. A.C. Beynen, M.J.H. Geelen, J.B. Katan and J.A. Schouten (Eds.). Wageningen, Ponsen and Looijen, 1985, p. 145-150.
37. Kattleman, K.K. & S.C. Carroll. Effects of saturated and polyunsaturated fats fed to rats at 40% of the metabolizable energy on the hypocholesterolemic properties of soy protein. **Fed. Proc.**, **43**: 465 (Abstract).
38. Diersen-Schade, D.A., M.J. Richard, D.C. Bietz & N.L. Jacobson. Plasma, tissue and fecal cholesterol of young pigs fed restricted or liberal amounts of beef, soy or conventional diets. **J. Nutr.**, **116**: 2086-2095, 1986.
39. Vega, G.L. & S.M. Grundy. Role of diet in lipoprotein metabolism: Implications for coronary heart disease. In: **Nutrition and Killer Diseases: The Effects of Dietary Factors on Fatal Chronic Diseases**. J. Rose (Ed.). Park Ridge, New Jersey, Noyes Publications, 1982, p. 96-106.
40. Fraser, G.E., D.R. Jacobs, Jr., J.T. Anderson, N. Foster, M. Palta & H. Blackburn. The effect of various vegetable supplements on serum cholesterol. **Am. J. Clin. Nutr.**, **34**: 1272-1277, 1981.
41. Hardinge, M.G. & F.J. Stare. Nutritional studies of vegetarians. 2. Dietary and serum levels of cholesterol. **Am. J. Clin. Nutr.**, **2**: 83, 1954.
42. Phillips, R.L. & D.A. Snowdon. Mortality among Seventh-day Adventists in relation to dietary habits and lifestyle. In: **Plant Proteins: Applications, Biological Effects, and Chemistry**. R.L. Orly (Ed.). Washington, D.C., American Chemical Society, 1986, p. 162-174. (ACS Symposium Series 312).
43. Coronary heart disease and dietary habits. **Nutr. Revs.**, **18**: 9-11, 1960.
44. WHO Expert Committee. **Prevention of Coronary Heart Disease**. Geneva, World Health Organization, 1982 (Technical Report Series 678).

45. Lipid Research Clinics Program. The lipid research clinics. Coronary primary prevention trials. II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. **J. Am. Med. Assoc.**, **251**: 365-374, 1984.

**CARACTERIZACION DE LA CALIDAD DE ALGUNAS
BOLOGNAS EN MEXICO.
II. EVALUACION DEL VALOR NUTRITIVO DE SUS PROTEINAS**

*Ramón Pacheco,¹ Mauro Valencia,² Mónica Esparza,³
Rebeca Domínguez,⁴ Natalia González-Méndez⁵ y Enrique Ramos⁶*

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

RESUMEN

La bologna (conocida en la región como bolonia) es el producto cárnico procesado de mayor consumo en el Estado de Sonora, México. En el estudio que nos ocupa, se evaluó el valor nutritivo de las proteínas del producto de cada marca, por medio del índice de eficiencia proteínica (PER). Adicionalmente, se determinó digestibilidad aparente (Cr_2O_3) y digestibilidad *in vitro* de las proteínas, así como la energía digestible en los mismos productos. Los resultados del PER muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las bolonias comerciales con respecto a caseína ANRC. Al probar el contraste específico caseína con respecto al promedio de todas las bolonias, sin embargo, no se detectaron diferencias significativas. De igual forma tampoco hubo diferencia en cuanto a consumo de energía digestible aparente, y digestibilidad de proteína *in vivo* o *in vitro*.

INTRODUCCION

La producción porcina y bovina en el estado de Sonora, México, ha

Manuscrito Modificado recibido: 10-5-88.

- 1 Estudiante de Posgrado, Oregon State University. Corvallis, Oregon, USA.
- 2 Director de la División de Nutrición y Alimentos del CIAD, A.C.
- 3 Estudiante de Posgrado en el Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, España.
- 4 Química Biológica con especialidad en Tecnología de Alimentos.
- 5 Miembro del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD, A.C.), Apartado Postal 1735, 83000 Hermosillo, Sonora, México. En la actualidad, cursa estudios de posgrado en Université de Clermont-Ferrand II.
- 6 Investigador del CICTUS, Universidad de Sonora, México.

alcanzado niveles importantes dentro del abasto nacional en los últimos años, por lo que se han expandido las posibilidades de industrialización de estas materias primas. El consumo de carnes frías en este Estado, es del orden de 403 toneladas/mes, de las cuales casi la mitad son de producción local y donde se ha identificado un producto tipo emulsión —la bologna— como el producto cárnico de mayor consumo actual, a través de una encuesta entre los productores y centros de distribución y abasto.

Las proteínas de origen muscular se consideran de alto valor nutritivo (1). El colágeno del tejido conectivo y de gran importancia en los productos tipo emulsión, sin embargo, tiene menor valor nutritivo (2), debido a la proporción de aminoácidos indispensables, principalmente ausencia de triptofano y bajo contenido de cisteína (3). Ajeno a ello, son de mayor resistencia a hidrólisis enzimática, y por lo tanto, de menor digestibilidad de acuerdo a ciertos informes de la FDA de los EUA (4).

Por otra parte, en experimentos de balance de nitrógeno con humanos adultos (5), se sustituyó hasta 50% de la proteína muscular en estos productos por gelatina, sin disminuir el valor nutritivo. Ello era de esperar, ya que los requerimientos de aminoácidos esenciales son mucho menores en los adultos que en los niños en proceso de crecimiento (6). Laser-Reutersward *et al.* (3), encontraron una digestibilidad de 95% de colágeno en experimentos con ratas, aunque también observaron disminución del valor biológico y de la NPU con el incremento de colágeno.

Otras investigaciones informan diferencias no significativas en las características funcionales, tales como estabilidad de emulsión, rendimiento al cocinado, pH, Aw, densidad y jugosidad, con sustituciones hasta de 30% de la proteína total por colágeno (7).

Aun cuando la información es controversial en algunos puntos, queda en evidencia la importancia de estudiar el valor nutritivo de estos productos, especialmente cuando no existe una sujeción adecuada a las normas de calidad.

El objetivo del presente trabajo, por lo tanto, fue evaluar el valor nutritivo de las proteínas de las bolonias comerciales que se expenden en el mercado sonorense, como potencial indicador de calidad del producto. Se aplicaron para el caso, los métodos de índice de eficiencia proteínica (PER), consumo de energía digestible aparente, digestibilidad aparente de proteína y digestibilidad de proteína *in vitro*.

MATERIAL Y METODOS

Las seis bolonias comerciales de mayor consumo en el Estado de Sonora se obtuvieron de supermercados y expendios de alimentos, tal como se señaló en la parte I del trabajo que se informa (15). Para su manejo y conservación durante la experimentación, las bolonias fueron deshidratadas en un secador de túnel, a una temperatura que no excediera de 50°C y hasta 6% de humedad final.

Las bolonias se sometieron a análisis de proteína, grasa, fibra y humedad, de acuerdo a los métodos oficiales de la AOAC (8). El extracto libre de nitrógeno fue calculado por diferencia.

Indica de Eficiencia Proteínica (PER)

El PER se determinó mediante una modificación al método oficial de la AOAC (8), en lo que al número de unidades experimentales por tratamiento y nivel de grasa de las dietas se refiere. En cada tratamiento se utilizaron tres ratas hembras y tres ratas macho recién destetadas, de la raza Sprague Dawley. Las dietas formuladas para determinar el PER no pudieron ajustarse al 8^o/o de grasa fijado por el método oficial de la AOAC (8) debido al alto contenido de grasa de algunas de las fuentes. Por este motivo, se decidió formular al mínimo nivel posible (14.4^o/o), pero uniforme en todas las dietas, a fin de tener una base equicalórica, donde se incluía al control (Tabla 1). Todos los ingredientes excepto el aceite, fueron de Bioserv, Inc. N.J., EUA. Las ratas se alojaron en jaulas y comederos individuales de acero inoxidable, manteniéndose a una temperatura de $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$, humedades relativas de 50-65^o/o, y un ciclo de luz-obscuridad de 12 horas. Se les ofreció alimento y agua *ad libitum* por un período de 28 días experimentales.

Energía Digestible Aparente

Se determinó la energía digestible aparente (EDA) por medio de un Calorímetro Adiabático Automático Parr, Modelo 1241 para cada dieta. La EDA se calculó como la diferencia entre la energía bruta y la dieta y la excreta fecal, corregidas para la proporción de óxido de cromo, de acuerdo a Edward y Gillis (9) y Valencia, Maiorino y Reid (10).

Digestibilidad in vivo de Proteína

Esta se estableció analizando la proteína en dieta y heces por el método de Kjeldhal (8), y la proporción de óxido de cromo como marcador, igual que en el caso anterior.

Digestibilidad de Proteína in vitro

La determinación se realizó por un método multienzimático para estimar la digestibilidad de proteína, modificado por Satterlee (13) en cuanto al número de enzimas utilizadas, tiempos y temperaturas de digestión.

Diseño Experimental

Se utilizaron tres ratas macho y tres ratas hembra recién destetadas por tratamiento, asignándose siete ratas macho distribuidas aleatoriamente a cada uno, procedimiento que se repitió en el caso de las hembras. Esta operación se replicó tres veces para completar el proceso.

Se estableció un diseño experimental de tres criterios de clasificación (tratamiento, sexo y repetición), de acuerdo con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + \gamma_k + \xi_{ijk}$$

donde $i = 1, \dots, 7$
 $j = 1, 2$
 $k = 1, 2, 3$

TABLA 1

COMPOSICION^a DE LA DIETA BASAL AL 10^o/o DE PROTEINA (o/o)

Intredientes	o/o
Aceite	14.4
Minerales ^b	5.0
Vitaminas ^c	1.0
Cr ₂ O ₃	0.2
Celulosa	1.0
Agua	5.0
Fuente de proteína para hacer el 10 ^o /o de la dieta	
Almidón y Dextrosa para hacer el 100 ^o /o de la dieta	

- a El aceite, la premezcla de minerales, la celulosa y el agua se ajustaron después de un análisis de ingredientes a la muestra. Se calculó como (1.6^o/o N en muestra) X 100, de acuerdo al método AOAC (43.212), aplicable a materiales con ^o/oN por encima de 1.8.
- b La premezcla mineral contiene lo siguiente en g/kg de dieta: aluminio, 0.0005; calcio, 11.8; cloro, 4.79; cobre, 0.0175; flúor, 0.0027; yodo, 0.003; hierro, 0.385; magnesio, 0.3818; manganeso, 0.0055; fósforo, 2.53; potasio, 5.88; sodio, 1.396; aucre, 0.1162, y zinc, 0.0637.
- c La premezcla vitamínica contiene lo siguiente en g/kg de dieta: ácido ascórbico, 0.45; biotina, 0.0002; pantotenato de calcio, 0.03; ácido fólico, 0.0009; inositol, 0.5; menadiona, 0.02; niacina, 0.04; ácido p-aminobenzoico, 0.05; piridoxina, 0.01; riboflavina, 0.01; tiamina, 0.001; vitamina A, 9000 U.I.; vitamina D, 1000 U.I., y vitamina E, 25 U.I.

Previo al análisis del diseño aplicado, se probó la homogeneidad de varianzas y se determinaron las combinaciones estadísticamente distintas por medio de las pruebas de rango múltiple de Duncan (12). También se hizo una prueba de contraste para probar el Contraste Específico (C₁) de que la caseína fuese igual al promedio de todas las marcas, donde el estimador del contraste era la media de los tratamientos del PER corregido.

RESULTADOS Y DISCUSION

PER

Se encontraron diferencias significativas en el PER (corregido) por efecto de tratamiento entre la caseína ANRC y las bolonias comerciales estudiadas ($P < 0.05$), utilizando el diseño de tres criterios de clasificación que incluía también sexo y repetición (Tabla 2). Aun cuando el criterio sexo tuvo efecto significativo, el diseño permitió separar este efecto de la suma de cuadrados del error y detectar en forma independiente el criterio de tratamiento; esta situación es de especial importancia cuando

TABLA 2

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PER DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DEL TRATAMIENTO, SEXO Y REPETICIÓN

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F computada
Tratamiento	6	0.7265	0.121	4.43 ^a
Sexo	1	0.688	0.688	25.11 ^b
Repetición	2	0.074	0.37	1.35
Sexo-Trat.	6	0.149	0.25	0.91
Sexo-Repet.	2	0.0001	0.00005	0.002
Trat.-Repet.	12	0.242	0.20	0.738
Error	12	0.328	0.0273	
Total	41	2.12		

a Significativo ($P < 0.05$).

b Significativo ($P < 0.01$).

se hacen modificaciones a los métodos oficiales. Luego se procedió a la aplicación de una prueba de rango múltiple (12) para detectar diferencias entre las bolonias comerciales. Ello permite apreciar una variabilidad considerable entre los productos analizados, como es el caso de la diferencia entre los productos Chimex con un PER de 2.67 y los Ponderosa con 2.24 (Tabla 3).

Por otra parte, se sometió a prueba el contraste específico (C_1) propuesto, en el que es igual al promedio de todas las bolonias. Así, como lo indica la Tabla 4, al probar $H_0: C_1 = 0$, no se encontró diferencia significativa entre el PER de la caseína ANRC y el PER promedio de todas las bolonias.

Energía Digestible Aparente

Según revelan los datos en la Tabla 5, la densidad calórica de las dietas expresadas como energía digestible aparente y determinadas experimentalmente en las ratas, quedó en 3.85 ± 0.11 kcal/g como promedio, concordando con los requerimientos de energía digestible especificados para ratas en crecimiento, que es de 3.85 kcal/g (7). Adicionalmente, al estudiar el consumo de alimento y la energía digestible de cada dieta para obtener consumo de energía digestible, no se encontró una diferencia significativa por efecto de tratamiento, una vez separados los efectos de sexo y repetición de la suma de cuadrados del error (Tabla 6). Tampoco se encontraron interacciones significativas entre dichos efectos.

Ajeno a ello, la posible influencia del consumo de energía digestible o consumo de alimento sobre el PER, también quedó descartada por prueba de independencia ($X^2 = 0.104$), y dependencia funcional por regresión lineal ($t = 0.021$ para el coeficiente de correlación).

TABLA 3

INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA DE DIETAS EN BASE DE BOLONIA^a

Dietas al 10 ^o /o de proteína	Medias del PER corregido
Caseína	2.50 ^{abc}
Chimex	2.67 ^a
Alfino	2.52 ^{ab}
Burr	2.41 ^{bc}
Rosarito	2.35 ^{bc}
Cortez	2.35 ^{bc}
Ponderosa	2.24 ^c

a Las medias con diferente superíndice son significativamente distintas ($P < 0.05$), (12).

TABLA 4

ANALISIS DE VARIANZA DEL CONTRASTE

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F computada
Tratamiento	6	0.727	0.121	2.853 ^a
C ₁	(1)	0.0319	0.032	0.761
Error	35	1.486	0.042	
Total	41			

a Significativo ($P < 0.05$).

Digestibilidad

La digestibilidad aparente de proteína con Cr_2O_3 , dio resultados de mayor magnitud que los valores correspondientes de digestibilidad *in vitro* (Tabla 7).

El método de digestibilidad *in vitro* acusa una diferencia significativa ($P < 0.05$) al comparar las bolonias con el producto control (caseína ANRC), pero no entre sí (12). De acuerdo con algunos informes como el de Laser-Reutersward (3), en el que no se ha encontrado disminución de digestibilidad por efecto del colágeno, si se considerara que éste pudiese ser el factor principal en las diferencias de calidad de proteína observadas. En virtud de lo expuesto, es factible suponer que dichas diferencias podrían estar más bien relacionadas con la proporción de aminoácidos indispensables que con la cantidad de colágeno en los productos.

TABLA 5

CONSUMO DE ENERGIA DIGESTIBLE EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Dietas al 10 ⁰ /o de proteína	Energía bruta (kcal/g)	Energía digestible (kcal/g)	Alimento ^a consumido (g)	Energía digestible (kcal/animal/día)
Caseína ANRC	4.38	3.99	332 ± 43	47.40 ± 6.21
Burr	4.19	3.79	398 ± 58	54.04 ± 7.96
Ponderosa	4.29	3.81	375 ± 42	52.09 ± 5.80
Rosarito	4.30	3.91	403 ± 49	56.36 ± 6.82
Alfino	4.16	3.79	365 ± 55	49.62 ± 7.50
Chimex	4.49	3.99	382 ± 23	54.55 ± 3.28
Cortez	4.28	3.69	376 ± 69	49.69 ± 9.10
Media aritmética	4.30 ± 0.11	3.85 ± 0.11	375 ± 23	51.82 ± 3.22

a No se detectó diferencia significativa entre las medias.

TABLA 6

ANALISIS DE VARIANZA DIGESTIBLE (kcal) DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DE TRATAMIENTO, SEXO Y REPETICION

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F computada
Tratamiento	6	293,502	48,917	1.88
Sexo	1	205,885	205,885	7.90 ^a
Repetición	2	41,909	20,954	0.80
Sexo-Trat.	6	60,990	10,164	0.39
Sexo-Repet.	2	41,929	20,965	0.80
Trat.-Repet.	12	638,281	53,190	2.04
Error	12	312,598	26,050	
Total	41	1,595,094		

a Significativo ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES

El consumo de energía digestible aparente (*in vivo*), no presentó diferencias significativas. Por otra parte, el método de digestibilidad *in vitro* tampoco detectó diferencia alguna entre las bolonias comerciales, concordando con el método *in vivo*, aunque sí hubo diferencia entre caseína y las diversas bolonias.

Las diferencias encontradas ($P < 0.05$) en relación al PER, —una vez descartados los posibles efectos de densidad calórica en las dietas— pueden estar relacionadas con la proporción de colágeno utilizado en los

TABLA 7

DIGESTIBILIDAD APARENTE (Cr_2O_3) Y DIGESTIBILIDAD
in vitro MULTIENZIMATICA

Producto	Digestibilidad aparente Cr_2O_3 (%)	Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)
Caseína	91.23	77.03 ^a ± 2.22
Chimex	87.06	70.60 ^b ± 2.46
Alfino	87.70	72.93 ^b ± 2.04
Burr	89.81	72.13 ^b ± 2.73
Rosarito	87.69	70.41 ^b ± 2.18
Cortez	82.03	74.02 ^b ± 4.60
Ponderosa	86.34	72.86 ^b ± 2.68

Los datos tabulados representan la media ± la desviación estándar de 6 muestras. Las medias con diferente superíndice son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

productos, o bien con la proteína incluida en la formulación, aunque esto último se considera poco probable. Aunado a lo anterior, el promedio de todas las bolonias en lo que al PER concierne, no fue significativamente distinto al someter a prueba este contraste específico con respecto a la caseína ANRC. Ello significa que el PER promedio en las bolonias no sería diferente de 2.5. Este último se considera como valor teórico para la caseína y ha sido propuesto por la legislación del USDA (14) como punto de referencia; correspondería a 28.5% de colágeno de acuerdo a las investigaciones de Yubang Lee *et al.* (2). De lo expuesto se desprende que se podría utilizar de 25 a 40% de colágeno como porcentaje de la proteína total en productos cárnicos procesados, sin afectar por ello el valor nutritivo del producto, y que sería adecuado "teóricamente" como una fuente de proteína hasta en alimentos para niños en el proceso de destete (11).

AGRADECIMIENTO

Este trabajo se llevó a cabo con el apoyo económico de la Dirección Adjunta de Desarrollo Tecnológico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y de la Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica de la Secretaría de Educación Pública (SEP) de México.

SUMMARY

**QUALITY CHARACTERIZATION OF DIFFERENT BRANDS OF
BOLOGNA IN MEXICO. II. EVALUATION OF THE NUTRITIVE
VALUE OF THE PROTEINS**

Bologna is the most widely consumed processed meat product in the State of Sonora, Mexico. In the study herein described, the nutritive value of the protein in each brand was evaluated by means of the protein efficiency ratio (PER). Additionally, protein apparent digestibility (Cr_2O_3) and protein digestibility, both *in vivo* and *in vitro*, were determined, as well as apparent digestible energy in the same products.

Results revealed significant differences in PER ($p < 0.05$) among the commercial bologna brands with respect to ANRC casein. Nevertheless, when tested against the specific contrast, no significant PER differences were detected among the six bologna brands, and the control. Neither was there any difference detected in regard to apparent digestible energy consumption, or protein digestibility *in vitro* or *in vivo*.

BIBLIOGRAFIA

1. Niinivaara, F. A. & P. Antilla. **El Valor Nutritivo de la Carne**. España, Editorial Acribia, 1972, 1972, p. 47, 88-89, 95-96, 102-105.
2. Lee, Y., J. G. Elliot, D. A. Richansrud & E. C. Hagberg. Predicting protein efficiency ratio by the chemical determination of connective tissue content in meat. **J. Food Sci.**, **43**(5): 1359-1362, 1978.
3. Laser-Reutersward, A., N. G. Asp, I. Bjorck, & H. Rudérus. Effect of collagen content and heat treatment on protein digestibility and biological value of meat products. **J. Food Technol.**, **17**: 115-123, 1982.
4. Food Department of Agriculture (FDA). **Monograph on Collagen**. US Dept. of Commerce, National Technical information Service, 1978, p. 289-599.
5. Kofranyi, E. & F. Jekat. Zur bestimmung der biologischen Wertigkeit von Nahrungsproteinen. XIV. Die Mischung von Rindfleisch mit Gelatine. **Hoppe Seyler Z. Physiol. Chem.**, **350**: 1405-1409, 1969.
6. **Energy and Protein Requirements**. Report of a Joint FAO/WHO *ad hoc* Expert Committee. Rome, 22 March - 2 April, 1971. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1973, 20 p. (FAO) Nutrition Meetings Report Series No. 52; WHO Technical Report Series No. 522).
7. National Research Council. **Recommended Dietary Allowances**, 9th ed. Washington, D. C., NRC-NAS, 1980, p. 39-40.
8. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 12th ed. Washington, D. C., The Association, 1980.
9. Edwards, H. M. & M. B. Gillis. A chromic oxide balance method for determining phosphate availability. **Poultry Science**, **38**: 569-574, 1959.
10. Valencia, M. E., P. M. Maiorino & B. L. Reid. Energy utilization by laying hens. **Poultry Science**, **59**(9): 2071, 1980.
11. Rao, B. R. & R. L. Henrickson. Food grade hide collagen in bologna. Effect on functional properties, texture and color. **J. Food Quality**, **6**(1): 1-10, 1983.
12. Duncan, D. B. Multiple range and multiple F test. **Biometrics**, **11**(1): 42, 1955.

13. Satterlee, L. D. **In vitro** assay for predicting protein efficiency ratio as measured by rat bioassay: Collaborative study. **Association of Official Analytical Chemists, Inc.**, 65(4), 1982.
14. United States Department of Agriculture (USDA). **Federal Register**. April 27. United States, 1979.
15. Domínguez R, M. Esparza, R. Pacheco N. González-Méndez. Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. I. Evaluación química y microbiológica. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, 38(2): 345-356, 1988.

No. _____

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá - INCAP

PROGRAMA DE BECAS "DR. VICTOR VALVERDE G."

Agradeceré que me registren como patrocinador del Programa

NOMBRE:

DIRECCION:

Adjunto cheque* por la suma de: US\$

Otra moneda: _____

Como contribución única:

Anual:

Otro: (especifique): _____

Deseo me mantengan informado acerca de las actividades del programa:

SI

NO

* Favor emitir cheques a nombre de: INCAP, Beca "Victor Valverde G."

NOTA: Si Ud. desea participar como patrocinador de dicha beca, le agradeceremos completar el formato adjunto en este boletín y remitirlo a: INCAP, Apartado Postal 1188, Guatemala, Guatemala.

SU CONTRIBUCION, EN LA CANTIDAD QUE SEA, SERA MUY BIENVENIDA.

A vuelta de correo le enviaremos el recibo correspondiente.

CREACION DE LA BECA "DR. VICTOR VALVERDE GOMEZ"

Con el propósito de contribuir a la capacitación de profesionales en Alimentación y Nutrición en la región Centroamericana, el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), a solicitud de un grupo de amigos de quien en vida fuera el Dr. Víctor Valverde Gómez, acordó establecer una beca para que anualmente un profesional de la Región pueda realizar estudios de postgrado en el campo de la Alimentación y Nutrición en el INCAP.

La creación de una beca "Víctor Valverde Gómez" para un profesional destacado en el campo de la alimentación y nutrición es un claro reconocimiento de la importante contribución de Víctor a la formación de recursos humanos en Centro América y a nivel mundial en estos campos, así como de su constante preocupación por la situación alimentario-nutricional de nuestros países.


Los fondos para la beca provendrán de la contribución voluntaria de amigos del Dr. Valverde, que serán depositados en una cuenta bancaria, a modo de constituir un sistema autosuficiente que genere los fondos necesarios para proporcionar al becario fondos para sus gastos de manutención e investigación durante la vigencia de su beca.

El Instituto contribuirá con la exoneración de la matrícula en los cursos de postgrado de Alimentación y Nutrición en Salud y de Ciencias Agrícolas y Tecnología de Alimentos.

La beca "Dr. Víctor Valverde Gómez" será otorgada anualmente en forma rotativa a candidatos de cada uno de los cursos. El profesional beneficiario será seleccionado por un comité de profesionales del INCAP, asociados a los cursos de postgrado.

Nos dirigimos a usted, como amigo de Víctor, para solicitar su contribución a este homenaje póstumo a quien fuera un trabajador incansable en el campo de la Alimentación y Nutrición en Centroamérica y a nivel mundial. Le agradeceremos remitir su contribución a la atención del INCAP - Beca "Víctor Valverde Gómez" al INCAP, Apartado Postal 1188, Ciudad de Guatemala, Guatemala. A vuelta de correo le enviaremos el recibo de su contribución.

Atentamente,



Dr. Luis O. Angel
Director

CARACTERIZACION DE LA CALIDAD DE ALGUNAS BOLOGNAS EN MEXICO. III. EVALUACION SENSORIAL CON PANELISTAS NO ENTRENADOS

Mónica Esparza¹, Rebeca Domínguez², Natalia González-Méndez³, Ramón Pacheco⁴ y Enrique Ramos⁵

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

RESUMEN

En un estudio de evaluación de la calidad del producto cárnico de mayor consumo en Sonora, México, se consideró apropiado abordar el aspecto sensorial u organoléptico, pues este factor influye de manera determinante en la aceptación del producto por parte del consumidor. El análisis se efectuó en las bolognas (conocidas regionalmente como bolonias) comerciales de distribución regular, abarcando los parámetros sabor, textura, apariencia y color. Se utilizó una prueba afectiva de aceptación-preferencia con clasificación hedónica, y un diseño experimental de bloques incompletos balanceados. Los datos se analizaron mediante la prueba F para probar la hipótesis de igualdad de tratamientos, la prueba "t" de Student para comparar las medias de las poblaciones, y otra de rango múltiple para obtener el grado de aceptación de las bolonias (con $P < 0.05$) determinándose por frecuencias el orden de preferencia. Los resultados revelaron diferencias de sabor, textura y apariencia, dependiendo éstas principalmente de las características sabor a harina, sabor a sal, chicloso, seco y color uniforme, respectivamente. También se encontraron diferencias de color entre las diversas marcas, aun cuando no así para color general.

Manuscrito modificado recibido: 9-5-88.

- 1 Estudiante de Posgrado en el Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, España.
- 2 Química Bióloga con especialidad en Tecnología de Alimentos.
- 3 Miembro del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.), Apartado Postal 1735, 83000 Hermosillo, Sonora, México. En la actualidad, cursa estudio de posgrado en Université de Clermont-Ferrand II.
- 4 Estudiante de Posgrado, Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.
- 5 Investigador del CICTUS, Universidad de Sonora, México.

INTRODUCCION

Cuando se evalúa la calidad de un alimento, generalmente se toman en consideración una serie de factores que incluyen los aspectos de composición química, microbiológica, nutricional y sensorial. Este último aspecto es también importante, pues los consumidores utilizan primordialmente los sentidos para decidir en cuanto a la aceptación o rechazo de un alimento.

La evaluación sensorial se ha definido como una disciplina científica usada para medir, analizar e interpretar las reacciones percibidas por los sentidos (vista, gusto, olfato, oído y tacto) hacia ciertas características de un alimento o material (1). La compleja sensación que resulta de la interacción de los sentidos se utiliza para medir la calidad de los alimentos en programas de control de calidad y/o en el desarrollo de nuevos productos (2, 3). Esta evaluación se lleva a cabo mediante jueces panelistas que varían en número y grado de entrenamiento, dependiendo del tipo de prueba a efectuar. No obstante, en cualquier caso, como tales personas son utilizadas como instrumento de medición, es necesario controlar rigurosamente todas las condiciones de desarrollo y métodos utilizados en la prueba, con el propósito de disminuir los errores causados por factores psicológicos y fisiológicos (2, 4). Entre las pruebas de evaluación sensorial se tiene a las afectivas, que son usadas para evaluar la preferencia y/o aceptación de un producto por los consumidores.

Así, el presente estudio tuvo como objetivo el determinar las diferencias entre las características organolépticas de las bolonias comerciales y establecer así los grados de aceptación de éstas por parte de los consumidores.

Cabe señalar que este trabajo forma parte de un estudio de las características de calidad de las bolognas en el Estado de Sonora, México. Este producto, según se constató, es el de mayor consumo en dicha región mexicana (5, 6).

MATERIAL Y METODOS

Obtención de las Muestras

Las bolonias comerciales se adquirieron en el mercado local y se prepararon en la forma estipulada por la ASTM (1) y Larmond (7) para este tipo de alimento, y de acuerdo a la prueba sensorial.

Diseño del Experimento

La evaluación sensorial de las bolonias comerciales se llevó a cabo mediante una prueba afectiva de aceptación-preferencia con clasificación hedónica. Esta incluyó los parámetros sabor, textura, apariencia y color, así como un orden de preferencia determinado libremente por el panelista o juez.

Se seleccionó un diseño experimental de bloques incompletos balanceados del tipo de diseño no arreglado, en repeticiones o grupos de repeticiones, según Cochran y Cox (2) de acuerdo al modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + \tau_j + \gamma_k + \epsilon_{ijk}$$

$$\begin{aligned} \text{donde: } i &= 1, \dots, 6 \\ j &= 1, \dots, 10, \\ k &= 3 \end{aligned}$$

La selección de este diseño se hizo de acuerdo a la restricción del número de muestras que puede probar un panelista no entrenado y, además, en base a la ventaja que ofrece al reducir el número necesario de ellos para obtener resultados estadísticamente confiables. El diseño consiste en cinco repeticiones de un grupo de 10 bloques (combinaciones) de los seis tratamientos (bolonias comerciales). Cada bloque estuvo formado por tres tratamientos, de manera que cada uno fue comparado dos veces con los restantes.

Cada bloque fue evaluado por una persona (consumidor) mediante un cuestionario diseñado para el propósito (Anexo 1). Los panelistas eran de ambos sexos, diferentes edades, y no entrenados.

Para la presentación de las muestras, iluminación del área experimental y otras características, se siguieron las recomendaciones de Larmond (7).

El análisis estadístico de los datos se hizo mediante la prueba F para bloques incompletos balanceados, sometiendo a prueba la hipótesis de igualdad de tratamiento en cada una de las características. En el caso de rechazo de la hipótesis nula, se usó la prueba "t" de Student para comparar las medias de dos poblaciones y determinar la influencia de las características particulares sobre las generales. Además, también se aplicó la prueba de rango múltiple de Duncan (4) a los resultados de las características generales, a fin de obtener el grado de aceptación de cada una de las bolonias comerciales. Se determinó mediante el uso de frecuencias, el orden de preferencia de las características de acuerdo a la calificación otorgada, que los panelistas anotaron en el cuestionario.

RESULTADOS Y DISCUSION

Conforme el diseño de experimentos antes indicado, se aplicó a los resultados la prueba F para comprobar la hipótesis de igualdad de tratamientos. Según se observa en las Tablas 1 a 4, en la mayoría de las características analizadas se rechazó dicha hipótesis. Las características elástico, superficie uniforme y café rojizo no fueron estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

Los resultados de la prueba "t" de Student —aplicada en las características que representaron diferencias significativas ($P < 0.05$)— se muestran también en las mismas Tablas 1 a 4. Para tener una mejor apreciación del comportamiento de las características particulares de los parámetros evaluados, se graficó el promedio de las calificaciones otorgadas a cada característica por marca (Promedio = total corregido/número de panelistas, siendo el numerador la suma total de las calificaciones otorgadas y corregidas por el diseño por bloques utilizado).

TABLA 1

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS DE SABOR, PRUEBA F Y PRUEBA "t" DE STUDENT

Característica	F Comp.	"t" _s	Totales corregidos de cada bolonia comercial ^e					
			Chimex	Cortez	Ponderosa	Burr	Rosarito	Alfino
Harina	5.980	8.210	93.98 ^{bcd}	106.14 ^d	85.49 ^{bc}	81.50 ^{ab}	65.77 ^a	98.09 ^{cd}
Sal	7.651	6.475	66.95 ^d	86.32 ^{bc}	103.77 ^a	78.88 ^c	94.31 ^a	81.74 ^{bc}
Grasa	3.608	6.009	65.04 ^c	73.77 ^{bc}	81.87 ^{ab}	82.80 ^{ab}	76.80 ^{abc}	88.28 ^a
Especias y condimentos	4.840	7.673	60.61 ^d	66.32 ^{cd}	89.40 ^a	79.91 ^{bc}	86.63 ^{ab}	86.10 ^{ab}
Sabores extraños	2.282	8.494	52.04 ^{ab}	57.17 ^{abc}	56.89 ^{abc}	66.62 ^{bc}	48.54 ^a	72.72 ^c
Sabor al material de empaquetado	1.007	—	35.43	47.73	36.07	39.15	37.43	46.19
Sabor general	10.514	6.588	66.74 ^{bc}	50.05 ^d	56.90 ^{cd}	71.07 ^b	91.55 ^a	54.65 ^{cd}

e Las letras diferentes dentro del renglón de cada característica son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

TABLA 2

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS DE TEXTURA.
PRUEBA F Y PRUEBA "t" DE STUDENT

Característica	F Comp.	"t _s "	Totales corregidos de cada bolonia comercial ^e					
			Chimex	Cortez	Ponderosa	Burr	Rosarito	Alfino
Duro	0.542	—	52.20	45.42	44.57	49.61	43.70	50.49
Seco	3.791	8.001	73.20 ^c	71.17 ^{ac}	51.07 ^b	52.93 ^b	57.02 ^{ab}	75.58 ^c
Chiclosa	3.016	7.779	50.53 ^{ab}	65.85 ^{bc}	58.17 ^{ab}	55.96 ^{ab}	49.84 ^a	74.62 ^c
Elástico	2.127	—	44.35	67.58	59.53	58.44	59.20	54.89
Textura general	9.264	6.167	71.88 ^{abc}	63.62 ^{bc}	78.94 ^a	74.08 ^{ab}	98.18 ^a	61.27 ^c

e Las letras diferentes dentro del renglón de cada característica son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

TABLA 3

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS DE EVALUACION SENSORIAL DE APARIENCIA.
PRUEBA F Y PRUEBA "t" DE STUDENT

Característica	F Comp.	"t _s "	Totales corregidos de cada bolonia comercial ^e					
			Chimex	Cortez	Ponderosa	Burr	Rosarito	Alfino
Espicias evidentes	3.375	8.081	72.82 ^b	54.40 ^a	50.80 ^a	61.77 ^{ab}	50.10 ^a	73.08 ^b
Superficie uniforme	1.881	—	77.89	85.66	75.11	68.83	86.31	79.18
Substancias extrañas	1.345	—	60.15	57.04	59.53	58.52	56.39	74.35
Color uniforme	3.638	6.652	89.28 ^{bc}	83.06 ^{bc}	92.86 ^{ab}	94.27 ^{ab}	104.00 ^a	78.50 ^c
Colores extraños	3.970	7.273	52.33 ^a	50.21 ^a	51.67 ^a	44.40 ^a	43.54 ^a	71.83 ^b
Apariencia general	3.226	7.106	82.34 ^{ab}	71.69 ^{bc}	81.35 ^{ab}	76.96 ^{ab} _c	89.34 ^a	63.56 ^c

e Las letras diferentes dentro del mismo renglón de cada característica son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

TABLA 4
ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS DE COLOR.
PRUEBA F Y PRUEBA "t" DE STUDENT

Característica	F Comp.	"t _s "	Totales corregidos de cada bolonia comercial ^e					
			Chimex	Cortez	Ponderosa	Burr	Rosarito	Alfino
Anaranjado	3.368	6.965	42.91 ^{ab}	39.45 ^{ab}	32.42 ^b	30.54 ^b	49.45 ^a	53.20 ^a
Rojo	13.242	6.689	32.66 ^{ab}	75.45 ^d	52.51 ^c	42.96 ^b	28.12 ^a	58.27 ^b
Rosa	18.208	7.854	31.24 ^a	89.25 ^c	75.03 ^c	53.03 ^b	35.15 ^a	75.27 ^c
Café rojizo	1.814	—	55.25	47.10	60.89	53.24	57.58	64.83
Café	11.496	7.545	84.01 ^c	33.39 ^b	40.23 ^b	60.58 ^a	56.49 ^a	48.27 ^a
Color general	1.792	7.257	81.13 ^a	71.98 ^{ab}	83.83 ^a	82.19 ^{ab}	85.91 ^a	68.94 ^b

e Las letras diferentes dentro del mismo renglón de cada característica son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

En la Figura 1 referente a "sabor", se observa que la línea correspondiente al "sabor general" sigue un comportamiento inverso al de la característica "sabor a harina". A los fines de relacionar estas dos características, se tomaron primeramente los pares estadísticamente iguales en grasa, sal y especias (prueba "t" de Student, Tabla 1) y se comparó su comportamiento. De esta forma se obtuvieron los pares Rosarito-Ponderosa, Burr-Alfino y Burr-Cortez. Además, se observó que tanto las bolonias Rosarito como Burr tuvieron calificaciones menores en "sabor a harina" y mayores en "sabor general" que sus pares respectivos. Por otro lado, al considerar los pares estadísticamente diferentes en grasa, sal y especias, que fueron Chimex-Ponderosa, Chimex-Burr y Chimex-Alfino, se observó que resultaron ser estadísticamente ($P < 0.05$) iguales en cuanto a "sabor a harina" y en "sabor general". De ello se dedujo que el consumidor relaciona el "sabor general" con el nivel de "sabor de harina", al momento de calificar su aceptación y rechazo, punto importante dentro de una evaluación de calidad organoléptica de este tipo de productos.

De la misma manera se comparó a la bolonia Rosarito con la bolonia Burr, y se encontró que la primera tuvo una calificación promedio mayor en "sabor a sal" y "sabor general". Por el contrario, en el par Burr-Ponderosa, la segunda obtuvo menor calificación en "sabor general", aunque con igual calificación en "sabor a sal" que la bolonia Rosarito. Sin embargo, la calificación correspondiente a "sabor a harina" del último de los pares, fue superior al del primero.

Esto indica que el "sabor a sal" es otra característica que el consumidor considera dentro de la calificación de "sabor general" al igual que "sabor a harina".

No obstante que las características grasa, especias y condimentos también participan en la conformación del "sabor general", no se encontró una marcada influencia sobre la calificación de esta última, como con las señaladas anteriormente.

La Figura 2 muestra el comportamiento de las características del parámetro "textura" para cada una de las bolonias comerciales analizadas. De acuerdo a la prueba "t" de Student (Tabla 2), se encontraron igualdades en las características de "seco", "chicloso" y "textura general" de los pares Rosarito-Ponderosa, Burr-Ponderosa, Alfino-Cortez y Chimex-Cortez. Por otra parte, mediante un análisis de las diferencias en los pares restantes, se observó que tanto la característica "chicloso" como "seco" influyeron inversamente en la calificación de "textura general". Así, la bolonia Alfino acusó valores mayores para "seco" y "chicloso" y menores para "textura general" que la bolonia Alfino. Un comportamiento similar siguieron los pares Alfino-Ponderosa y Alfino-Burr. De estas dos características predomina "chicloso", de acuerdo a la conducta que presentaron los pares Burr-Chimex, Chimex-Ponderosa y Burr-Cortez, los que —a pesar de que fueron diferentes en la característica "seco"— mostraron igualdades en "chicloso" y "textura general". Aunado a esto, Rosarito y Cortez fueron estadísticamente iguales en cuanto a "seco", y diferentes en lo que a "chicloso" y "textura general" ($P < 0.05$) se refiere.

Con respecto al parámetro "apariencia", se encontraron diferencias significativas en "apariencia general" entre las bolonias comerciales (Tabla 3), cuyo comportamiento fue análogo al de "color uniforme", según puede apreciarse en la Figura 3. Aquí se encontró dificultad en la

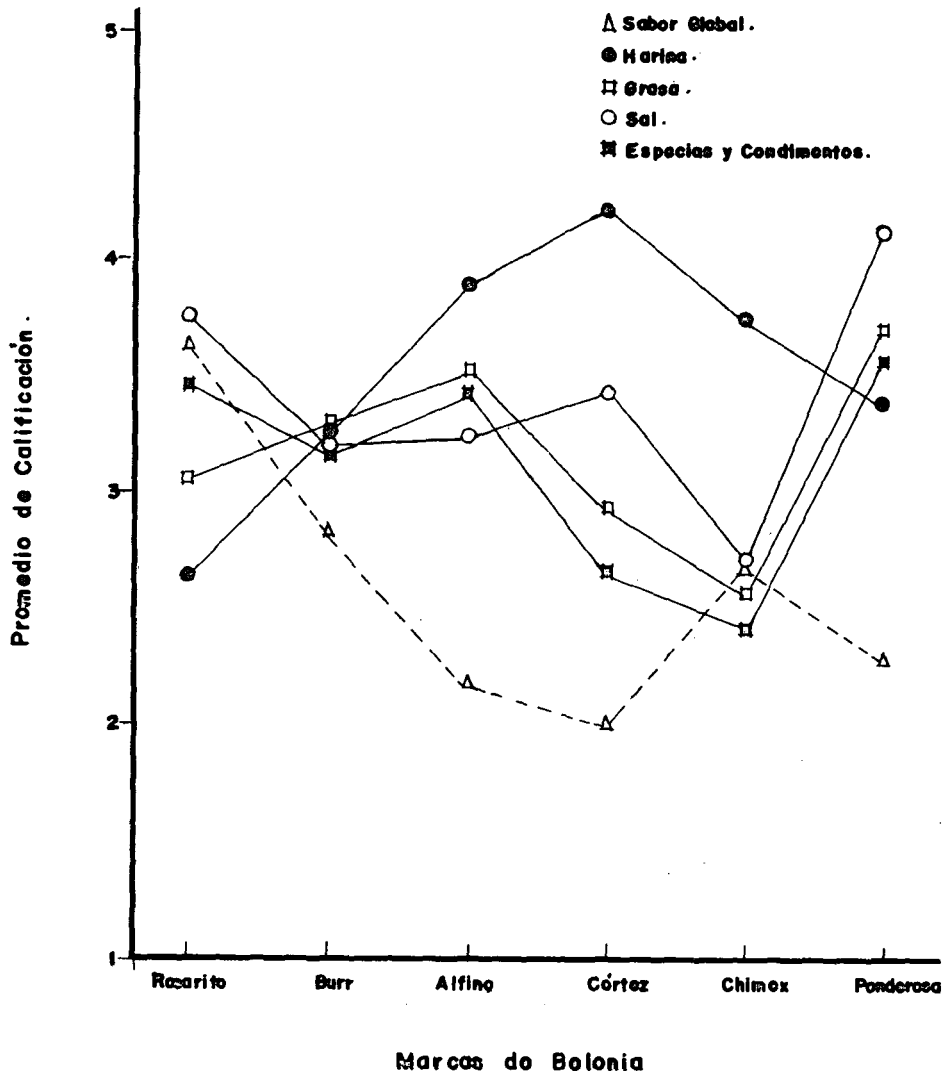


FIGURA 1

Representación gráfica de los resultados dados por los panelistas sobre las características de sabor .

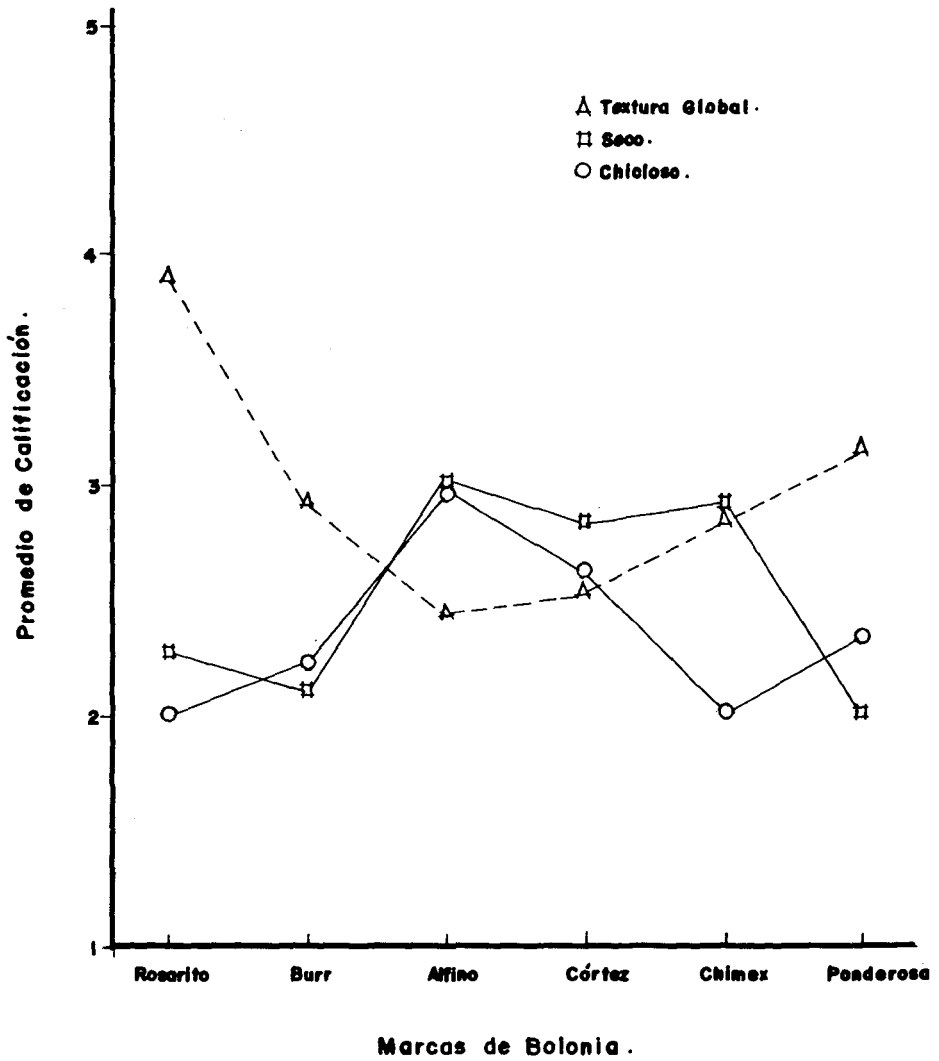


FIGURA 2

Representación gráfica de los resultados dados por los panelistas sobre las características de textura

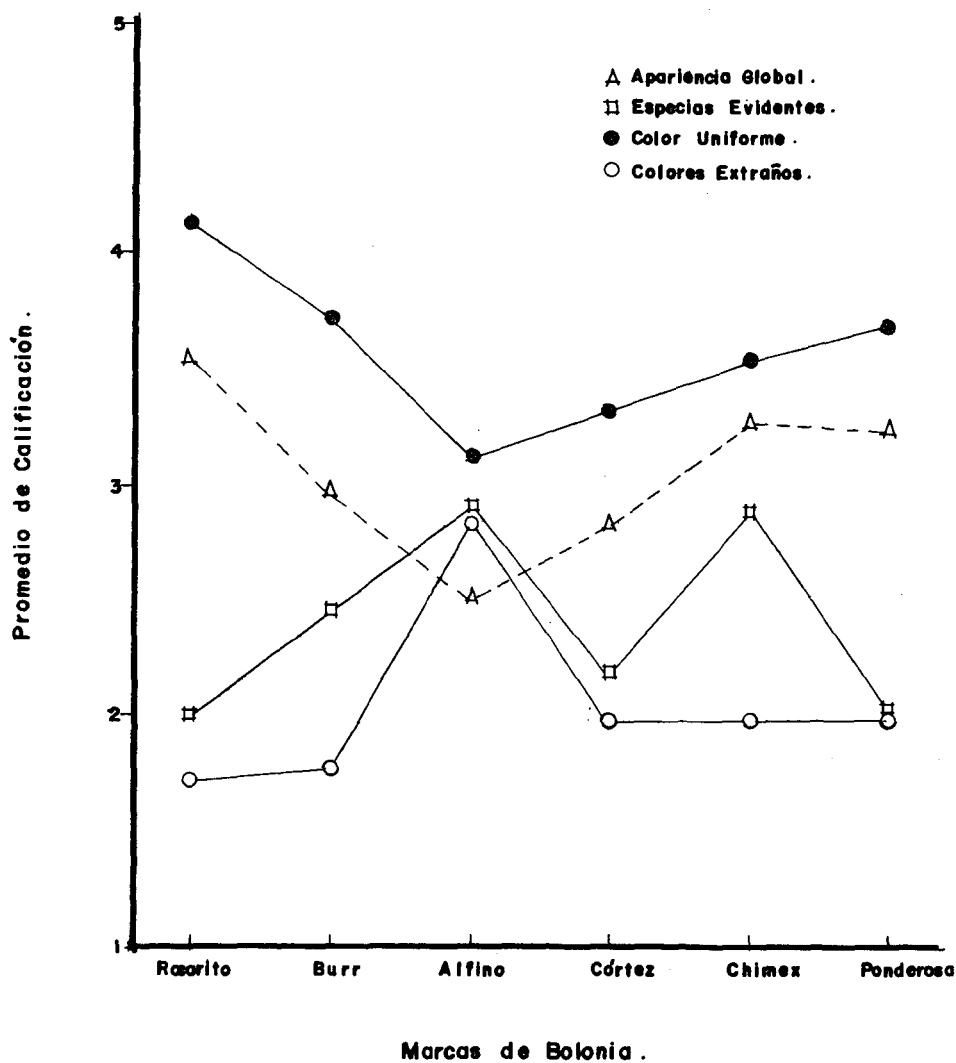


FIGURA 3

Representación gráfica de los resultados dados por los panelistas sobre las características de apariencia

detección de un efecto de las otras características debido al tipo de panelistas utilizado.

En cuanto a los resultados de la evaluación de "color", se observó que no existe una diferencia pronunciada en el "color general" de las bolonias comerciales (Tabla 4). De acuerdo con eso, todas las bolonias fueron iguales entre sí, a excepción de Rosarito y Ponderosa con respecto a la bolonia Alfino. Aun cuando las combinaciones de las calificaciones de cada color evaluado fueron distintas para cada una de las bolonias, como se aprecia en la Figura 4, en general se obtuvo una buena aceptación.

De las respuestas sobre "preferencia" asignadas por cada panelista en el cuestionario, el orden de preferencia se obtuvo mediante frecuencias para las bolonias comerciales estudiadas. Asimismo, con la aplicación de una prueba de rango múltiple (4) en las calificaciones de las características generales, se encontró el grado de aceptación para cada una de las bolonias otorgado por los jueces. Ambos resultados se muestran en la Tabla 5.

Los datos en esta Tabla revelan que el primer lugar en el orden de preferencia fue ocupado por la bolonia Rosarito, al igual que en las características generales. Los últimos lugares correspondieron a las bolonias Cortez y Alfino, respectivamente, las cuales ocuparon lugares similares para cada una de las características generales a excepción de "sabor", donde permutaron. El segundo, tercero y cuarto lugar los ocuparon las bolonias Chimex, Burr y Ponderosa casi indistintamente, puesto que entre sí fueron estadísticamente iguales en textura, apariencia y color, y en lo que a sabor se refiere, sólo fueron diferentes Burr y Ponderosa ($P < 0.05$). Dicho comportamiento fue análogo al que mostraron en el orden de preferencia. De ello se deduce que los consumidores tienen definidos los niveles de aceptación o rechazo del producto estudiado.

CONCLUSIONES

Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$), entre las bolonias comerciales en los parámetros "sabor", "textura", "apariencia" y "color".

Las diferencias en "sabor" se relacionaron principalmente con las características "sabor a harina" y en menor grado con el de "sabor a sal". En este último, se observó que los consumidores toleran niveles más elevados de "sabor a sal", mientras más bajos son los de "sabor a harina".

En lo que concierne a "textura", se tuvo que las características "chicloso" y "seco" mostraron tener un efecto inverso sobre la clasificación de "textura general" de las bolonias.

En "apariencia" se obtuvo un comportamiento similar y directamente relacionado al de "color uniforme". Para las otras características que se involucraron con "apariencia", se hizo difícil detectar sus relaciones debido al tipo de panelistas utilizado en la prueba.

Con respecto a "color", en general se tuvo una buena aceptación del "color general" de cada muestra, aunque se encontraron diferencias entre ellas en relación a la combinación de los colores particulares.

De la comparación entre el "grado de aceptación" resultante del análisis de las cualidades generales con el "orden de preferencia", se

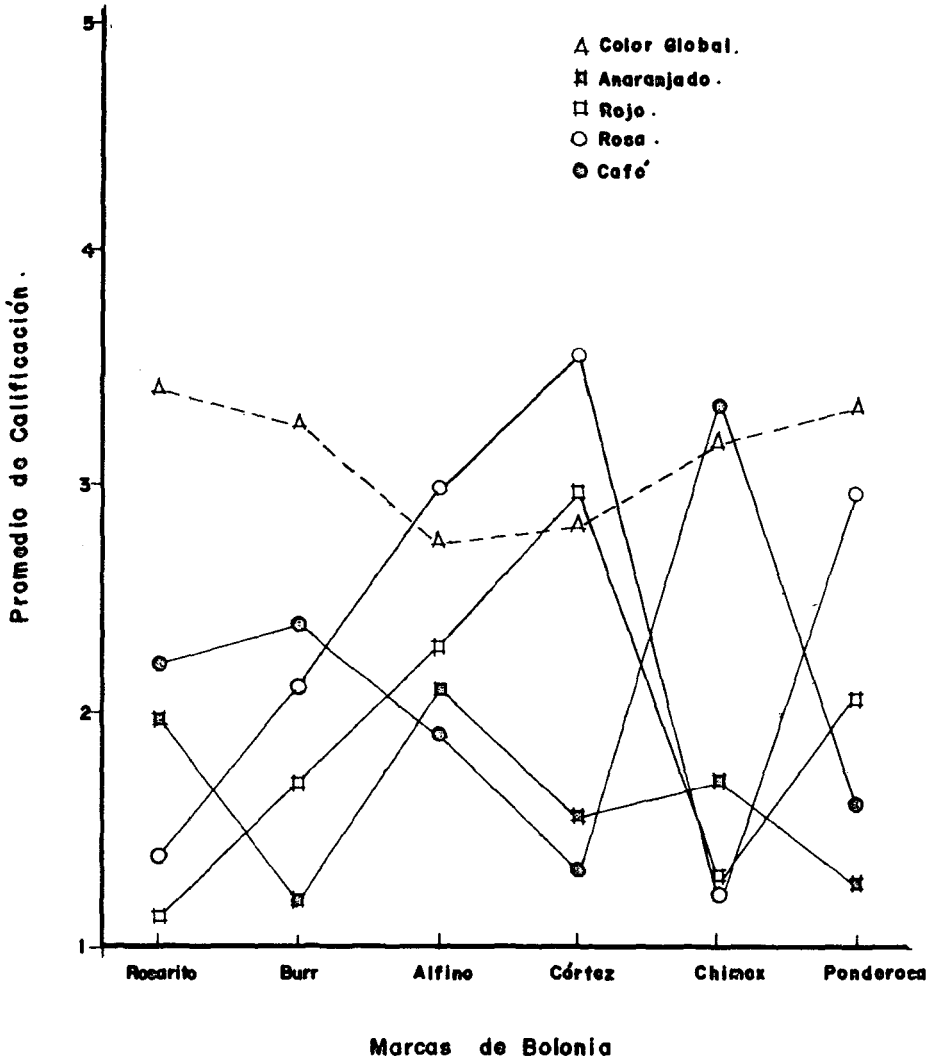


FIGURA 4

Representación gráfica de los resultados dados por los panelistas sobre color

TABLA 5

RESULTADOS DEL ORDEN DE PREFERENCIA Y ANALISIS ESTADISTICO DE LAS CARACTERISTICAS GENERALES

Orden de preferencia ^e	Características generales ^f			
	Sabor	Textura	Apariencia	Color
Rosarito ^a	Rosarito ^a	Rosarito ^a	Rosarito ^a	Rosarito ^a
Chimex ^b	Burr ^b	Ponderosa ^b	Chimex ^{ab}	Ponderosa ^{ab}
Burr ^b	Chimex ^{bc}	Burr ^{bc}	Ponderosa ^{ab}	Burr ^{ab}
Ponderosa ^{bc}	Ponderosa ^{cd}	Chimex ^{bcd}	Burr ^{abc}	Chimex ^{ab}
Cortez ^{cd}	Alfino ^{cd}	Cortez ^{cd}	Cortez ^{bc}	Cortez ^{ab}
Alfino ^{cd}	Cortez ^d	Alfino ^d	Alfino ^c	Alfino ^b

e Asignado voluntariamente por los panelistas en el Cuestionario de Evaluación Sensorial. Las bolonias con diferente letra son diferentes.

f Las bolonias con diferente letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$), prueba de Duncan (1955). (4).

constató que los consumidores tienen bien definidos los niveles de aceptación o rechazo del producto.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se llevó a cabo con el apoyo económico de la Dirección Adjunta de Desarrollo Tecnológico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y de la Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica de la Secretaría de Educación Pública (SEP).

SUMMARY

QUALITY CHARACTERIZATION OF DIFFERENT BRANDS OF BOLOGNA IN MEXICO. III. EVALUATION BY AN UNTRAINED SENSORY PANEL

In a study on the quality evaluation of bologna, the major processed meat product of greater consumption in Sonora, Mexico, the quality of commercial brands, available in local markets, was investigated. As part of it, the sensory or organoleptic aspect of factors influencing the acceptance of bologna by consumers was included.

The factors considered were: flavor, texture, appearance and color. The acceptance-preference of each product was determined using a hedonic scale and a balanced incomplete block design. The results were then statistically analyzed by the F-test for difference among treatments. Student's "t" test for population means, and multiple range for acceptance and frequency of preference.

Findings revealed there were differences in flavor, texture and appearance among the bologna brands. The most relevant factors causing these differences were: saltiness,

fluor flavor, stickiness, dryness, and uniformity of color. Significant differences in the color scores among the different brands were also detected, but this was not the case for overall color.

BIBLIOGRAFIA

1. American Society for Testing and Materials (ATSM). **Manual on Sensory Testing Methods**. Baltimore, MD, American Society for Testing and Materials Co. STP-434, 1980, p. 1-61.
2. Cochran, W. G. & G. M. Cox. **Experimental Designs**. 2nd ed. New York, N. Y., Wiley and Sons, Inc., 1957, p. 82-92, 439-441, 444-446, 452.
3. Costell, E. & L. Durán. El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos. IV. Realización y análisis de datos. **Rev. Agroquím. Tecn. Alim.**, **22**(1): 1, 1982.
4. Duncan, D. B. Multiple range and multiple F test. **Biometrics**, **11**: 1-42, 1955.
5. Domínguez, R., M. Esparza, R. Pacheco & N. González-Méndez. Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. I. Evaluación química y microbiológica. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **38**: 345-356, 1988.
6. Pacheco, R., M. Valencia, M. Esparza, R. Domínguez, N. González-Méndez & E. Ramos. Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. II. Evaluación del valor nutritivo de sus proteínas. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **38**: 251-260, 1988.
7. Larmond, E. **Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Foods**. Research Brach 1637, Canada, Department of Agriculture Publication, 1977, p. 1-57.
8. Prell, A. P. Preparation of reports and manuscripts with included sensory evaluation data. **Food Technol.**, **30**(11): 40, 1976.

ANEXO 1

CUESTIONARIO UTILIZADO EN LA EVALUACION SENSORIAL DEL PRODUCTO BOLOGNA

Instrucciones: Evalúe las muestras de acuerdo a las características de SABOR, TEXTURA, APARIENCIA y COLOR, teniendo en cuenta la escala de clasificación que se encuentra a la izquierda de cada columna de características, y anotando en los espacios en blanco el número que corresponda a su clasificación.

PRIMERA PARTE

<u>Escala</u>	<u>SABOR</u>	<u>Clave</u>
5) Mucho, muy agradable	Sabores al material de empaque	_____
4) Moderado, agradable	Sal	_____
3) Regular, aceptable	Grasa	_____
2) Poco, poco aceptable	Especias y condimentos	_____
1) Nada, desagradable	Sabores extraños	_____
	Sabores al material de empaque	_____
	Sabor global*	_____

<u>Escala</u>	<u>TEXTURA</u>	<u>Clave</u>
5) Muy, muy bueno	Duro	_____
4) Moderado, bueno	Seco	_____
3) Regular, aceptable	Chicloso	_____
2) Poco, poco aceptable	Elástico	_____
1) Nada, desagradable	Textura global*	_____

SEGUNDA PARTE

<u>Escala</u>	<u>APARIENCIA</u>	<u>Clave</u>
5) Bastante, muy bueno	Especias evidentes	_____
4) Moderado, bueno	Superficie uniforme	_____
3) Regular, aceptable	Sustancias extrañas	_____
2) Poco, poco aceptable	Color uniforme	_____
1) Nada, desagradable	Colores extraños	_____
	Apariencia global*	_____

* Utilizar la segunda clasificación propuesta en la escala correspondiente.

<u>Escala</u>	<u>COLOR</u>	<u>Clave</u>
5) Mucho, muy agradable	Anaranjado	_____
4) Moderado, agradable	Rojo	_____
3) Regular, aceptable	Rosa	_____
2) Poco, poco aceptable	Café-rojizo	_____
1) Nada, desagradable	Café	_____
	Color global*	_____

Comentarios (acerca de lo que más le interesó y/o lo que no haya comprendido)

Orden de preferencia (coloque la clave de cada muestra, clasificándola según su gusto)

Primero _____

Segundo _____

Tercero _____

DESARROLLO DE UN PRODUCTO ALIMENTICIO A BASE DE ARROZ, PARA USO INFANTIL

E. Segura V.¹, G. Mahecha L.², B. E. Moreno S.³ y G. S. Rodríguez³

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA),
Universidad Nacional de Colombia
Bogotá, Colombia

RESUMEN

Se desarrolló un producto alimenticio deshidratado para niños a base de arroz, complementado con soya y frutas para mejorar sus características nutricionales y organolépticas.

El proceso consistió en la precocción de los ingredientes y un secado posterior en un deshidratador de tambores. Se obtuvo así un producto final en forma de hojuelas, con un contenido de humedad de 2 a 3^o/o, el cual es de fácil rehidratación cuando se mezcla con un líquido como leche, agua o agua de panela.

El panel de catación no detectó diferencia alguna entre las formulaciones con un contenido de soya de: 10, 15 y 20^o/o, respectivamente.

INTRODUCCION

La desnutrición proteínica debida al déficit de disponibilidad y alto costo de alimentos, es uno de los más serios problemas de malnutrición en familias de bajos recursos con niños, ya que limita su desarrollo intelectual.

Manuscrito modificado recibido: 29-10-87.

- 1 Químico Farmacéutico, M. Sc., Profesor Asociado del Departamento de Farmacia, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), Universidad Nacional de Colombia, Ciudad Universitaria, Bogotá D. E., Colombia.
- 2 Químico, M. Sc. Profesor Titular, Departamento de Química de la citada Universidad.
- 3 Trabajo de grado previo a optar al título de Químico-Farmacéutico. Calificó mejor las formulaciones con tomates de arbol y guayaba. Teniendo en cuenta la evaluación sensorial, el cómputo químico y la composición nutricional, se seleccionó la formulación con el mejor balance nutricional, que correspondió a su contenido de 16^o/o de proteína.

tual (2). Por ese motivo, en muchas partes del mundo se están haciendo intentos para introducir alimentos infantiles de bajo costo y alto contenido en proteínas. El planeamiento de suplementos alimenticios económicos aceptables y nutricionalmente aconsejables para los niños, sólo es posible si el producto y el balance nutricional se adaptan a la cultura nativa (3-5).

Dentro de la fase de nutrición humana, la nutrición de los infantes ha sido intensamente investigada. Como resultado, se dispone de información completa en cuanto a los requerimientos nutricionales de la infancia, y cómo satisfacerlos. No existe un acuerdo general entre los pediatras de exactamente cuando deben adicionarse otros alimentos a la dieta a base de leche. Se sabe, sin embargo, que la adición de cereales, frutas y leguminosas apropiadamente preparadas mejoran la dieta en proteínas, vitaminas y minerales ayudando a la motilidad gastrointestinal (6, 7).

En Colombia existe especial interés por el desarrollo, la promoción y la utilización de mezclas vegetales, para contribuir a la solución del gran problema de la desnutrición. El Instituto Nacional de Nutrición (INN) desarrolló la "Bienestarina", cuya base es la proteína de soya (8, 9).

Las recomendaciones sobre consumo de calorías y nutrientes constituyen una guía de especial importancia, no sólo para la planificación de dietas, sino también para utilizar en la definición de políticas de alimentación y nutrición del país (10).

El objetivo de esta investigación, por lo tanto, fue lograr utilizar y diversificar algunas materias primas de segunda calidad, como el arroz partido y los excedentes de producción de algunas frutas, por ejemplo. En vista de que la calidad proteínica del arroz es baja, éste se enriqueció con harina de soya y frutas, con miras a complementar su valor nutricional y mejorar sus propiedades organolépticas.

MATERIAL Y METODOS

Materiales

Se utilizó harina de arroz trillado, partido, harina de soya comercial cuya composición en base seca es: g/o/o proteína 50, grasa 33, carbohidratos 39, fibra 1.7, cenizas 5 mg/o/o Ca 225, P 668, Fe 8.8, tiamina 0.52, riboflavina 0.54, niacina 1.6, piridoxina 1.2, calorías 335; y las siguientes frutas: guayaba (*Psidium guajaba*), banano (*Musa sapientum*), mango (*Mangifera indica*) y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*).

Métodos

Para el control microbiológico se utilizaron los métodos oficiales de la AOAC (11), y para recuento total, coliformes totales y recuento de termofílicos.

Formulación

Se realizó una serie de ensayos con las materias primas seleccionadas, preparando diferentes mezclas, habiéndose optado por desarrollar tres

formulaciones con cada una de las frutas (Guayaba, G: banano, B; mango, M; y tomate de arbol, T:). En todas ellas se dejó constante 40^o/o de harina de arroz, y se varió el porcentaje de fruta y soya, como sigue:

Formulación 1 = 40^o/o de harina de arroz
 10 10^o/o de harina de soya
 47.5^o/o de puré de fruta (G1, B1, M1 ó T1)

Formulación 2 = 40^o/o de harina de arroz
 15^o/o de harina de soya
 42.5^o/o de puré de fruta (G2, B2, M2 ó T2)

Formulación 3 = 40^o/o de harina de arroz
 20^o/o de harina de soya
 37.5^o/o de puré de fruta (G3, B3, M3 ó T3)

A fin de obtener un producto atractivo y de buena calidad, se hizo necesario agregar lecitina 0.5^o/o y fosfato de calcio 2^o/o, que corresponden al 2.5^o/o restante de la formulación.

Evaluación Organoléptica

Selección de Catadores

El panel de catación estuvo conformado por 10 miembros previamente seleccionados en base a reproducibilidad y sensibilidad. Para la selección se usaron los métodos de pares, dúo, trío, triangular y de sensibilidad.

Se suministraron muestras de fruta con 5 y 5.5^o/o de sacarosa y tres concentraciones, a nivel umbral, de cada uno de los sabores básicos. A éstas se les adicionó (6, 9 y 12 x 10⁻¹o/o), cloruro de sodio (2, 3 y 4 x 10⁻¹o/o), ácido cítrico (1, 2, 3 x 10⁻²o/o) y sulfato de quinina (2, 3 y 4 x 10⁻³o/o). Se escogieron catadores que acusaron 71^o/o de determinaciones correctas, para su consiguiente entrenamiento.

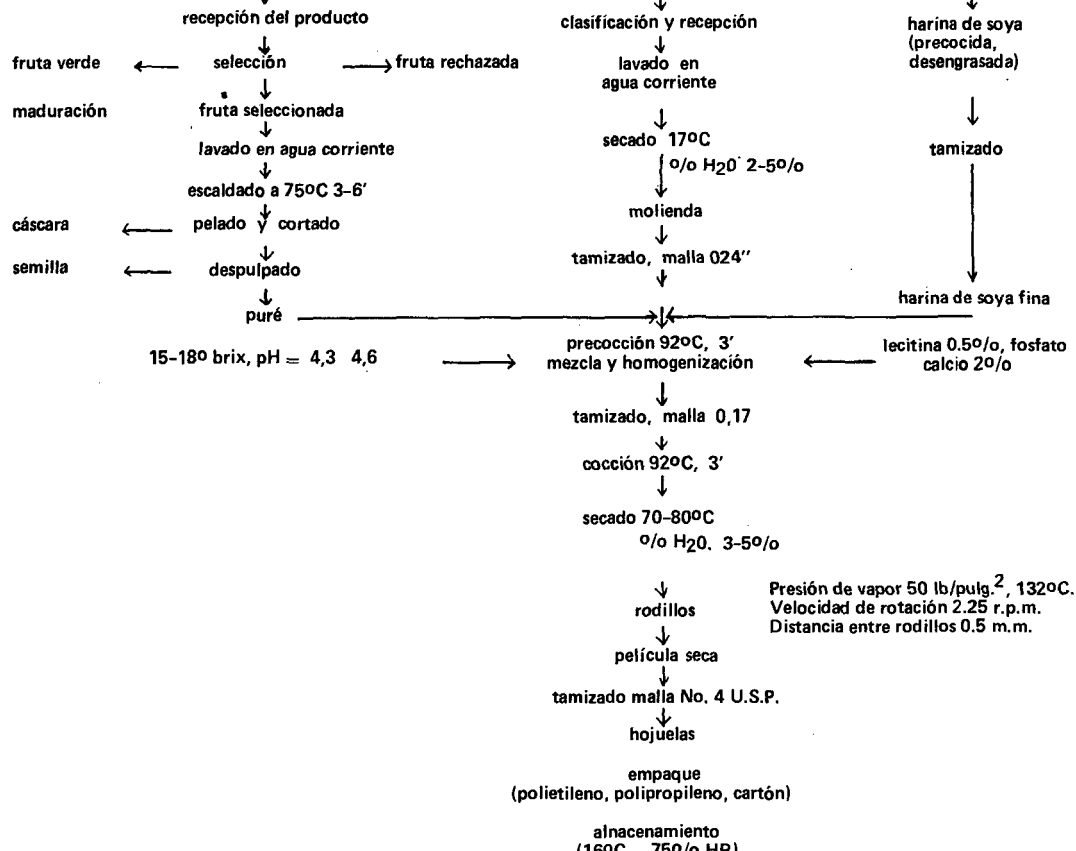
Entrenamiento de los Panelistas

Los catadores se entrenaron presentándoles: a) Los componentes óptimos que constituyen la formulación, y b) los defectos más comunes que pueden presentar los productos similares que se encuentran en el mercado.

a) *Componentes óptimos* — Los panelistas recibieron muestras (25 g) de puré de fruta fresca (guayaba, banano, mango y tomate de arbol), con el fin de que se familiarizaran con sus características (color, aroma, sabor y textura).

Para determinar el umbral (límite inferior de percepción) del sabor a soya, se efectuaron paneles de ordenación con muestras, ordenadas y codificadas al azar, de harina de soya en leche al 10, 15 y 20^o/o p/v, y una papilla de arroz de un producto comercial en leche (20 g/30 ml).

b) *Defectos propiciados* — Se propició la formulación de grumos reduciendo finamente el tamaño de la partícula del alimento infantil, haciendo así que al rehidratarse, se aglomeren.



Los purés de fruta se dejaron expuestos al aire hasta que se produjo el pardeamiento (4 horas a 16°C).

Para dar al producto el sabor grasoso, se adicionó a la formulación del alimento infantil monoestearato de glicérido (10.50/o).

Se forzó la fermentación calentando los purés de frutas a 35°C por 15 minutos, y dejándolos luego a temperatura ambiente (16°C) por el término de 10 horas.

Asimismo, se prepararon purés con frutas en estado verde para propiciar el sabor astringente, y con frutas sobremaduras para ilustrar este defecto.

Método de Evaluación

Se empleó el método de calificación de escala compuesta, con una escala de 20 puntos. A continuación se incluye la hoja de explicación del puntaje.

Los datos externos se rechazaron por límites de confianza, y los resultados fueron analizados por análisis de varianza y el ensayo de rangos múltiples de Duncan.

El puntaje de los factores de calidad de un alimento infantil, fue el siguiente:

1. Ausencia de defectos:

0 – 4.0 El número, tamaño y color de los defectos no deben afectar materialmente la apariencia o la calidad del producto. Puntaje según la clase o intensidad del defecto.

2. Color:

4.0 Uniforme, característico.
0 – 2.0 Muy oscuro, no característico.

3. Consistencia:

4.0 Homogénea, ligeramente fluida.
3.0 Muy clara o muy espesa.
0 – 2.0 Muestra una separación del líquido.

4. Sensación al paladar:

4.0 Suave.
0 – 3.0 Harinoso, pegajoso, grumoso.

5. Sabor:

4.0 Característico, dulce, frutal, harinoso.
2.0 – 3.0 Puede carecer de buen olor o sabor, pero no tiene sabor de frutas sobremaduras, muy dulce, insípido o grasoso.
0 – 1.0 Fermentado, caramelizado.

Puntaje Químico

Los cálculos del cómputo químico, según se ilustra en la Tabla 1, se hicieron en base a los datos de FAO/OMS (12) y al contenido de aminoácidos de las mezclas.

No se calcularon los valores correspondientes a las mezclas de tomate de arbol (T1, T2, T3), por carecer de información sobre su contenido de aminoácidos.

Composición Nutricional

Los cálculos de composición nutricional se realizaron teniendo en cuenta los datos informados en la Tabla de Composición de Alimentos Colombianos (13), expresados en base seca.

RESULTADOS Y DISCUSION

Según los resultados que se dan a conocer en la Tabla 2, el óptimo en cuanto a calidad de proteína se encuentra comprendido entre 10 y 16^o/o, es decir, mezclas que contengan de 10 a 20^o/o de harina de soya, para alimentos que llevan en su composición frutas como guayaba y mango. Para alimentos con banano el óptimo sería 11^o/o de proteína, que corresponde a una mezcla con 10^o/o de harina de soya.

Características Funcionales del Producto Terminado

El producto final en forma de pequeñas hojuelas, con un contenido de humedad de 2 a 3^o/o, presenta una textura crujiente, y retiene el color, sabor y aroma característicos de la fruta. El producto seco es de fácil rehidratación cuando se mezclan 10 gramos de éste con 30 ml de líquido, leche, agua o agua de panela, por ejemplo. Es de apariencia suave y consistencia blanda, y no muestra formación de grumos, por lo que puede ser administrado a los niños de pecho o de corta edad.

Evaluación Organoléptica

El análisis de varianza de los resultados de la evaluación sensorial (método de ordenación) de las formulaciones de frutas con diferentes porcentajes de soya (10, 15 y 20^o/o), no mostró diferencia significativa en la intensidad del sabor a soya. Ello permitió la formulación a base del porcentaje más alto de harina de soya (G3, B3, M3, T3).

El análisis de varianza de los resultados de la evaluación sensorial de las formulaciones G3, B3, M3, T3, dio una diferencia altamente significativa entre ellas. Por este motivo, se efectuó el ensayo de comparaciones múltiples de Duncan, a partir del cual se concluyó que las formulaciones G3 y T3 fueron calificadas significativamente mejor.

Análisis Microbiológico

Los resultados del análisis microbiológico del producto terminado no mostraron evidencia de esporulación o crecimiento de microorganismos.

TABLA 1

RESULTADOS DEL COMPUTO QUIMICO DE LAS FORMULACIONES

Isoleucina	Leucina	Lisina	Total aminoácidos azufrados	Total aminoácidos aromáticos	Treonina	Triptofano	Valina	Histid
65.28	83.00	72.00	57.96	78.49	70.11	79.73	72.45	141.
67.00	84.26	76.10	54.99	79.33	71.19	79.91	72.23	131.
68.15	85.59	78.93	52.90	79.92	71.94	80.04	72.07	124.
52.58	67.82	67.36	43.36	61.30	53.34	76.10	57.02	75.
57.40	73.11	72.38	44.25	66.44	58.59	77.32	60.71	82.
60.00	76.90	69.92	44.84	70.14	62.38	78.00	63.35	87.
61.30	79.06	84.54	47.95	71.45	62.17	86.20	66.47	88.
64.21	81.79	85.31	47.60	74.33	65.55	84.62	67.92	92.
66.18	83.62	85.84	47.37	76.27	67.83	83.50	68.89	95.

COMPOSICION NUTRICIONAL DE LAS FORMULACIONES

Proteína	Grasa	Carbo- hidratos	Fibra	Ceniza	Calcio	Fósforo	Hierro	Tiamina	Ribo- flavina	Niacina	Acido ascórbico	Vita- mina A	Ca
g	g	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	U.I.	
10.82	0.70	81.27	2.21	2.43	37.90	177.70	2.18	0.17	0.08	2.07	18.85	414.68	
13.08	0.85	78.85	2.08	2.50	47.96	205.96	2.52	0.19	0.10	2.02	16.86	371.02	
15.35	0.99	76.44	1.97	2.57	58.03	234.58	2.85	0.21	0.10	1.96	14.88	327.88	
11.61	0.85	72.03	9.81	3.11	84.27	232.36	3.62	0.26	0.13	2.25	678.58	1.357.14	
13.79	0.98	70.59	8.90	3.11	89.45	254.87	3.81	0.27	0.14	2.66	607.14	1.214.28	
15.97	1.11	69.14	7.98	3.11	94.63	277.74	4.00	0.29	0.14	1.98	535.71	1.071.43	
9.86	0.77	82.59	2.13	2.03	52.69	167.12	2.28	0.19	0.21	1.80	208.79	2.870.87	
12.22	0.90	80.04	2.03	2.14	61.20	196.67	2.61	0.21	0.21	1.77	186.79	2.568.67	
14.60	1.05	77.49	1.92	2.25	69.70	226.22	2.94	0.23	0.20	1.74	164.81	2.266.48	
15.02	0.07	72.08	5.40	3.95	54.27	232.03	3.08	0.32	0.17	5.83	115.23	4.611.65	
16.84	1.09	70.64	4.93	3.87	62.61	254.75	3.13	0.32	0.17	5.37	103.15	4.126.21	
18.66	1.20	69.19	4.48	3.77	70.94	277.48	3.58	0.33	0.17	4.92	91.01	3.640.77	

Esto significa que el proceso a que se sometió controla la contaminación del alimento, conservándolo por mayor tiempo y permitiendo su consumo sin riesgo alguno.

Formulación Seleccionada

De acuerdo al contenido nutricional, al puntaje químico y los resultados de la evaluación sensorial, se seleccionó la formulación que contiene 40% de harina de arroz, 20% de harina de soya, 37.5% de puré de fruta, y 2.5% de aditivos.

SUMMARY

DEVELOPMENT ON AN INFANT FOOD PRODUCT BASED ON RICE

An infant dehydrated rice-based food product, complemented with soybean flour, was developed. To improve its nutritional and organoleptic characteristics, fruits were also added.

Ingredients were first precooked and dried in a drum-dryer, obtaining a final product, as flakes, with a 2 to 3% water content. This rehydrates easily with liquids such as milk, water or "panela" (refined and concentrated sugar cane syrup).

The sensory panel did not detect any difference between formulations containing 10, 15 and 20% soybean, respectively.

BIBLIOGRAFIA

1. Moreno, E. & G. Rodríguez. **Desarrollo de un Producto Alimenticio a Base de Arroz para Uso Infantil**. Trabajo de grado, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, 1983.
2. Draz, D. Valor nutricional y uso potencial de las proteínas solubles e insolubles de soya. **Tecnología**, 18: 9, 1976.
3. Díaz, D. Enriquecimiento de cereales con proteínas. **Tecnología**, 13: 30, 1971.
4. Kraissid, T., M. Benjawan, *et al.* Formulation of supplementary infant food, at the home and village level in Thailand. **Food and Nutrition Bulletin**, 3: 37, 1980.
5. Milner, M. **Protein Enriched Cereal Foods for World Needs**. St. Paul, Minnesota, American Association of Cereal Chemists, 1969, p. 38, 49, 74.
6. Matz, S. **The Chemistry and Technology of Cereals, Food and Feed**. Westport, Conn., The Avi Publishing Co., 1976, p. 551, 623.
7. American Public Health Association. **Standard Methods for Examination of Dairy Products**. 12th ed. New York, N. Y., APHA, 1976, p. 53-61, 72-76.
8. Iregul A. & N. Young. El empleo de la tecnología química en la solución del problema de la desnutrición proteica en Colombia. **Tecnología**, 3: 41, 1961.
9. Paez, J. & W. Ruedá. **Situación Actual de las Mezclas Vegetales en Colombia**. Bogotá, Instituto Nacional de Nutrición, 1967.
10. Ministerio de Agricultura, opsa, Sector Agropecuario. Bogotá, 1980.

11. American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food.** New York, N. Y., APHA, 1976, p. 559, 602-604.
12. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Amino Acid Content of Food and Biological Data on Protein.** Rome, Nutrition Division, Food Policy and Food Science Service, 1970.
13. **Tabla de Composición de Alimentos Colombianos.** 4a ed. Bogotá, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, 1978.

UTILIZAÇÃO DO GIRASSOL (*Helianthus annuus*, L.) NA ALIMENTAÇÃO HUMANA. I. OBTENÇÃO DE FARINHA DE GIRASSOL, CONCENTRADO PROTEICO E COMPLEMENTAÇÃO DESSA FARINHA COM AMINOACIDOS LISINA E METIONINA¹

Jocelem Mastrodi Salgado² e Eliza Chieus³

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",
Universidade de São Paulo
Piracicaba, São Paulo, Brasil

RESUMO

Em face a importância da cultura de girassol (*Helianthus annuus*, L.) do ponto de vista industrial bem como científico, para sua ampla utilização na alimentação humana é que nos propomos:

A obtenção de uma farinha comestível da semente de girassol bem como o efeito do tratamento térmico sobre a qualidade nutricional dessa farinha;

Avaliação do valor nutricional dessa farinha com e sem tratamento térmico, e do concentrado proteico da semente de girassol através de análises químicas e biológicas;

A suplementação dessas farinhas com os aminoácidos lisina e metionina.

Da análise dos resultados foram sugeridas as seguintes conclusões:

A farinha de girassol com tratamento térmico tem um valor proteico maior do que a sem tratamento;

A farinha de girassol com tratamento térmico resulta em uma melhor qualidade proteica quando suplementada com 0.340/o do aminoácido lisina;

A farinha de girassol sem tratamento térmico suplementada com diferentes níveis do aminoácido metionina não melhorou a qualidade proteica do produto;

O concentrado proteico da semente de girassol mostra um valor proteico, bem como a taxa de eficiência proteica (PER), relativamente baixo, provavelmente devido a falta do aminoácido lisina.

Manuscrito modificado recebido: 7-9-87.

1 Projeto financiado pela FINEP.

2 Prof. Adjunto na Area do Nutrição Humana e Alimentos, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Caixa Postal 9, 13.400 Piracicaba, São Paulo, Brasil.

3 Acadêmica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Bolsista do CNPq.

INTRODUCAO

O girassol (*Helianthus annuus*, L.) é originário do Continente Americano, tendo sido descrita 50 espécies na América do Sul. A produção comercial do girassol como oleaginosa iniciou no período de 1830 a 1840 na Rússia, sendo hoje cultivado em vários países do mundo (1).

Durante as duas últimas décadas, as sementes oleaginosas tem despertado grande interesse como fonte potencial de proteína para consumo humano, uma vez que, o aumento da população impõe uma demanda crescente de proteínas.

O girassol é a segunda fonte mais importante de óleos vegetais no mundo, representando 15% da produção mundial. O maior produtor é a Rússia, seguindo-se os Estados Unidos, Argentina e Romenia (2). Como resultados de intensivos esforços para o melhoramento das sementes, a Rússia conseguiu elevar o teor de óleo dos cultivares de girassol de 33% para mais de 50%, diminuindo o teor da casca de 40% para 25% (3).

O girassol ganhou mais destaque na agricultura mundial após a II Guerra, devido as suas vantagens e potencialidades econômicas como: capacidade de fornecer altas produções de óleo de excelente qualidade nutricional, apresentando cerca de 87 - 91% de ácidos graxos insaturados e proteínas para o consumo humano, aproveitamento do caule para fabricação de forração acústica ou como combustível, produção de álcool etílico a partir da casca de sementes (82 litros/tonelada da casca).

A cultura do girassol apresenta uma série de vantagens tanto para o agricultor, como para a indústria. No caso do agricultor, pode fornecer uma segunda renda anual, por se tratar de uma cultura resistente às secas e às baixas temperaturas, custo de produção inferior às demais culturas oleaginosas como o amendoim e a soja e o mercado comprador bastante favorável.

Pelo lado industrial apresenta a facilidade de usinagem, alto rendimento, capacidade de utilização do período ocioso da indústria brasileira de óleos comestíveis, sendo que o mesmo equipamento utilizado para moer soja pode ser usado com sementes de girassol.

No Brasil, o girassol destaca-se como uma cultura em fase de implantação, estimando-se que, de 28,000 toneladas em 1970, tenhamos alcançado 133,000 toneladas em 1974. Em 1978, nos Estados de São Paulo e Paraná, foram plantados cerca de 6,000 ha, em 1980, 35,000 ha. A maior parte do território brasileiro é considerado apto para o cultivo dessa oleaginosa. No Estado de São Paulo, apenas a regioão litorânea não seria recomendada devido ao excesso de umidade, de doenças, além de prejudicar a polinização (4).

As análises das propriedades físicas e organolépticas, indicam que os grãos de girassol, descascados, podem ser usados nas formulações alimentares humanas como enriquecimento de pão, massas, biscoitos, na suplementação e na diluição das farinhas de soja infantís, e como extensores de produtos à base de carne moída.

Convencionalmente, o resíduo obtido após a prensagem ou extração de óleo, por solventes orgânicos, tem sido usado para alimentar pássaros e animais, obtendo-se uma ração animal de elevada qualidade proteica contendo em torno de 50% proteína com digestibilidade (90%) de elevado valor biológico (60%) e de baixo custo.

A retirada do óleo da semente descascada produz um resíduo rico em proteína, bastante aceitável por sua incorporação em produtos cujos pH varia de 5 a 7. As pesquisas realizadas por Burns e outros (5) demonstram que a torta obtida sob várias condições de tempo, temperatura e umidade tem excelente estabilidade e exibe uma atraente cor creme e um sabor brando de nozes.

O presente trabalho tem como objetivo:

- Estudar as condições que afetam a extração das proteínas do girassol face a importância do ponto de vista industrial, bem como científico, para sua ampla utilização na alimentação humana.
- Avaliar através de análise química e biológica, o valor nutricional da farinha de girassol.
- Suplementar essa farinha com aminoácidos lisina e metionina.

MATERIAIS E METODOS

Sementes de Girassol

As sementes de girassol da variedade *Anhandy*, utilizadas neste trabalho, foram obtidas junto a seção de oleaginosas do Instituto Agrônomo de Campinas.

1. *Preparo da Farinha de Girassol sem Tratamento*

Em face da importância dos efeitos de temperatura afetarem a farinha de girassol sob ponto de vista nutricional, fez-se uma farinha de girassol sem tratamento. Nestas condições, a literatura diz que o aminoácido limitante é a metionina. Com base nisso suplementou-se a farinha de girassol com diferentes concentrações do aminoácido metionina.

As sementes após serem decorticadas, foram prensadas em prensa hidráulica modelo TE 098, tipo manual, para extrair uma parte do óleo das sementes, obtendo uma "torta prensada". A extração de óleo foi complementada, em aparelho soxhlet, tipo industrial, com N-hexano por 6 horas.

A torta desengordurada foi colocada em estufa a temperatura de 60-65°C, durante 12 horas para evaporação do solvente. Após a evaporação do solvente a torta foi moída em moído de faca obtendo-se a farinha de girassol.

2. *Preparo da Farinha de Girassol com Tratamento*

Para preparo da farinha utilizou-se o método proposto por Amos, Burdick e Seerly (6) com algumas modificações.

As sementes após serem decorticadas, foram colocadas em uma peneira e adaptada a uma panela contendo 12 mm de água, de modo que as sementes não entrassem em contacto direto com água. A água foi preaquecida por 10 minutos e após esse pré-aquecimento, as sementes foram cozidas por vapor d'água por 1 hora a temperatura de 40-50°C por 6 horas, para retirar a umidade. A seguir, as sementes foram prensadas em prensa hidráulica, modelo TE 098, tipo manual, para retirar a maior parte do óleo,

obtendo-se assim uma "torta prensada". A extração do óleo foi complementada em aparelho Soxhlet, tipo industrial, com N-hexano por 6 horas.

A torta desengordurada foi colocada em estufa a temperatura de 60-65°C, durante 12 horas, para evaporação do solvente. Após a evaporação do solvente, a torta foi moída em moíno de faca, obtendo-se a farinha do girassol.

3. *Preparo do Concentrado Proteico*

O concentrado proteico foi obtido segundo Solsusky e Fan (3) colocando-se 100 gramas de farinha das sementes de girassol em Elernmeyer ao qual acrescentou-se 500 ml de etanol a 70%o. O Elernmeyer foi colocado em agitador durante 30 minutos. O pH desse concentrado foi ajustado para 4.7 com HCl a 0.1N. Repetiu-se essa operação mais 3 vezes. O material assim tratado foi transferido para tubos de centrífuga (100 ml) e centrifugado durante 15 minutos a 1,500 rpm. Após a centrifugação o extrato foi decantado e o precipitado foi colocado em estufa a 50°C durante 12 horas para secagem.

Após a secagem, o material foi moído em moíno de faca, acondicionado em sacos plásticos e armazenado sob refrigeração para posterior análise.

4. *Análises Químicas*

As farinhas de girassol sem e com tratamento e a farinha do concentrado proteico foram analisadas quimicamente a fim de se obter os valores para umidade, extrato etéreo, cinzas e fibra bruta, de acordo com os métodos tradicionais descritos em AOAC (1970) (1).

O nitrogênio total foi determinado pelo método Kjeldahl. Para conversão do nitrogênio em proteína utilizou-se o fator 6.25.

5. *Ensaio Biológico*

Preparo das dietas — As dietas experimentais e de controle foram formuladas ao nível de 10%o e constituída de mistura salina 4%o, mistura vitamínica 2.8%o, óleo de milho 5%o e amido de milho para completar 100 gramas (7). Incluiu-se uma dieta aprotéica a fim de corrigir a proteína consumida e eliminada, para fins de cálculos de digestibilidade.

Com as sementes de girassol que não sofreram tratamento térmico durante o processamento foram feitas 4 dietas experimentais suplementadas com 0.17, 0.34 e 0.51%o de DL-metionina de acordo com a literatura que afirma ser esse o aminoácido limitante sob essas condições.

Como o tratamento térmico a que foram submetidas as sementes, durante o processamento para obtenção da farinha desengordurada, resultou-se na perda de aminoácido lisina, foram preparadas também 4 dietas experimentais com farinhas suplementadas com 0.17, 0.34 e 0.51%o do aminoácido L-lisina.

Animais — Para análise biológica foram utilizados ratos albinos com 21-23 dias de idade, machos, da raça Wistar, provenientes do biotério da área de Nutrição Humana, ESALQ/USP.

A experiência teve 28 dias de duração, os ratos foram colocados em gaiolas individuais recebendo água e alimento *ad libitum*. Os animais foram pesados três vezes por semana. As fezes excretadas por animal, foram coletadas, pesadas, moídas, postas para secar em estufa a 65°C, durante 3 dias. As amostras de fezes foram analisadas para verificar o teor de nitrogênio de acordo com o método AOAC (7), a fim de calcular a digestibilidade.

Ao final de 28 dias, após o jejum de 12 horas os animais foram sacrificados por inalação de éter etílico, as cavidades abdominais e torácicas abertas e colocadas na estufa a 105°C durante 72 horas.

As carcaças secas foram moídas em liquidificador tipo industrial, armazenadas em sacos plásticos e mantidas em refrigeração, para determinação da utilização da proteína líquida (NPU).

Para análise biológica foram empregados parâmetros baseados no crescimento dos animais o PER (Protein efficiency ratio) e o CEA (Coeficiente de utilização alimentar), de acordo com AOAC, 1970 (7).

A utilização da proteína líquida, a digestibilidade e o valor biológico foram calculados segundo Bender e Miller (8) usando-se as fórmulas:

$$NPU = \frac{B - (B_k + I_k + I_k)}{I} \times 100$$

sendo: B – Nitrogênio total da carcaça
 B_k – Nitrogênio total da carcaça do grupo apteico
 I – Ingestão total de nitrogênio
 I_k – Ingestão total de nitrogênio do grupo apteico

$$D = \frac{I - (F - F_k)}{I} \times 100$$

sendo: I – Consumo de nitrogênio da dieta teste
 F e F_k – Nitrogênio fecal dos grupos testes a ão apteico

$$VB\% = \frac{NPU}{D} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra a composição centesimal das semente de girassol sem e com tratamento bem como concentrado proteico de girassol.

Na torta de girassol sem tratamento obteve-se um teor proteico de 31.2. Pressupõe-se que esse valor proteico mais baixo em relação à torta submetida a tratamento térmico, seja devido às sementes de girassol, sem tratamento não liberarem facilmente o óleo. Isto, provavelmente, pode-se relacionar com as propriedades das proteínas.

A produção da torta desengordurada obtida a partir das sementes cruas prensadas submetidas a tratamento foi de 61%, com um teor proteico de 52.4%.

Esse rendimento atribuiu-se ao fato de que as sementes oleaginosas “cozidas” liberam óleo mais facilmente do que as sementes “cruas”. A

TABELA 1

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS SEMENTES DE GIRASSOL SEM E COM TRATAMENTO, E DO CONCENTRADO PROTEICO DO GIRASSOL

	Materia seca	Extrato etéreo	Fibra	Cinza	Proteína (N x 6.25)
Girassol sem tratamento	95.6	39.9	6.9	4.1	31.2
Girassol com tratamento	94.7	12.3	5.5	6.0	52.4
Concentrado proteico girassol	93.9	9.8	1.7	5.4	58.0

razão precisa para esse fato são obscuras, porém provavelmente se relacionam com as propriedades das proteínas coexistentes bem como a forma, tamanho, viscosidade das unidades oleosas, microscópicas e submicroscópicas.

Com essa farinha de girassol tratada, foi obtido um isolado proteico do girassol com um teor proteico de 58^oo, mais baixo do que o encontrado na literatura (3), provavelmente devido a diferente tipo de solo de cultivos, variedade e qualidade de semente utilizada.

De acordo com o valor proteico da farinha de girassol sem e com tratamento, e do concentrado proteico, foram elaboradas as dietas ao nível de 10^oo de proteína.

Os resultados das análises biológicas baseadas no crescimento dos animais (PER e CEA), bem como na retenção do nitrogênio (digestibilidade, NPU e valor biológico) estão dispostos na Tabela 2.

Pelos resultados obtidos na Tabela 2, observa-se que com a suplementação da farinha de girassol sem tratamento térmico, com aminoácido metionina, mesmo em diferentes níveis não melhorou a qualidade proteica da torta. Esses dados discordam da literatura, que diz, que na farinha obtida sem tratamento térmico o aminoácido limitante é a metionina (3).

Quando a farinha foi suplementada com nível maior do aminoácido metionina (0.51^oo), a taxa de eficiência proteica (PER), foi ainda mais baixa, provavelmente, devido alguns antagonismos entre aminoácidos. A utilização da proteína líquida (NPU) foi baixa, causando um bloqueio no crescimento dos animais, ou seja, os animais não cresceram durante o experimento, indicando que essa proteína não foi utilizada para crescimento e síntese de novos tecidos.

Pelos dados obtidos observou-se que a farinha de girassol sem tratamento não fornece um produto de alto valor nutritivo. No entanto, as sementes de girassol que receberam tratamento térmico antes do processamento da farinha, forneceu um produto com elevado teor proteico (52^oo) que suplementado com lisina aproximou-se do valor nutricional do padrão da caseína, apresentando excelentes resultados para a digestibilidade, valor biológico e proteína líquida.

Podemos constatar que o tratamento térmico pelo qual passou as sementes para extração do óleo e obtenção da farinha desengordurada,

TABELA 2

GANHO EM PESO, CONSUMO DE RAÇÃO, CONSUMO PROTEICO, PER, CEA, NPU, DIGESTIBILIDADE E VALOR BIOLÓGICO PARA AS DIETAS EXPERIMENTAIS E CONTROLE (CASEÍNA)

Animais	Ganho* em peso g	Consumo* de ração g	Consumo* de proteína g	PER	CEA	NPU	Digestibi- lidade	V.B.
Dietas					o/o	o/o	o/o	o/o
Gir.								
0 Met	18.2	122.2	12.4	1.5	0.14	46.9	73.3	64.0
Gir.								
0.17 Met	25.9	143.7	14.8	1.7	0.18	40.2	79.7	50.4
Gir.								
0.34 Met	26.2	144.8	15.0	1.7	0.18	43.0	80.4	53.4
Gir.								
0.51 Met	12.2	131.8	13.7	0.9	0.09	32.3	82.1	39.4
Gir.								
0 Lis	48.5	272.3	32.4	1.5	0.17	52.8	81.4	64.8
Gir.								
0.17 Lis	73.2	313.8	35.7	2.0	0.23	61.3	78.4	78.2
Gir.								
0.34 Lis	89.0	331.3	38.4	2.3	0.26	75.2	81.5	92.3
Gir.								
0.51 Lis	59.7	271.3	29.0	2.0	0.22	58.6	79.5	73.7
CC girassol	31.2	193.1	19.9	1.5	0.16	42.2	88.6	47.6
Caseína	77.5	293.1	29.6	2.6	0.26	66.4	88.1	75.2

* Média de 6 animais.

PER — Protein efficiency ratio.

CEA — Coeficiente de eficácia alimentar.

NPU — Net protein utilization.

V.B. — Valor biológico.

realmente destrói o aminoácido lisina, resultando em uma taxa de eficiência proteica (PER) baixa 1.5. Esses dados estão de acordo com a literatura consultada (9).

A medida que a farinha foi suplementada com lisina a taxa de eficiência proteica aumentou, sendo a melhor suplementação com 0.34^o/o de

lisina, que deu uma taxa de eficiência proteica (PER) de 2.3 equivalente a caseína.

O resultado da farinha de girassol suplementada com 0.51% de lisina mostrou uma diminuição da taxa de eficiência proteica (2.0), provavelmente devido a um desequilíbrio ou antagonismo entre aminoácidos (9).

A utilização da proteína líquida (NPU) foi melhor para a farinha de girassol suplementada com 0.34% de lisina indicando que 75.2% da proteína do girassol ingerida foi retida e utilizada para síntese, crescimento dos animais.

Os resultados de digestibilidade e valor biológico foram bons para todos os tratamentos, sendo que na farinha de girassol suplementada com 0.34% de lisina, os valores da digestibilidade e valor biológico foram maiores respectivamente 81.50% e 92.36%.

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Claudinin (10) que considera que entre as proteínas de origem vegetal, a da farinha de girassol é a que mais se aproxima da proteína do ovo.

CONCLUSÕES

Do presente trabalho, foram sugeridas as seguintes conclusões:

— A farinha de girassol com tratamento térmico tem valor proteico maior do que a sem tratamento.

— A farinha de girassol com tratamento térmico resulta em uma melhor qualidade proteica quando suplementada com 0.34% do aminoácido lisina.

— A farinha de girassol sem tratamento térmico suplementada com diferentes níveis de aminoácido metionina, não melhorou a qualidade proteica do produto.

— O concentrado proteico da semente de girassol mostra um valor proteico de 58% e a eficiência de taxa proteica (PER) foi relativamente baixa (1.5), provavelmente, devido a deficiência do aminoácido lisina.

SUMMARY

UTILIZATION OF SUNFLOWER (*Helianthus annuus*, L.) IN HUMAN FOODS.

I. OBTENTION OF SUNFLOWER MEAL, PROTEIN CONCENTRATE AND COMPLEMENTATION OF THE MEAL WITH THE AMINO ACIDS LYSINE AND METHIONINE

In view of the importance that cultivation of sunflower (*Helianthus annuus*, L.) has from both the industrial and scientific points of view, to promote its wide utilization in human foods, this study was undertaken for the following purposes.

To obtain an edible sunflower seed meal, as well as to determine the effect thermic treatment exerted on its nutritional qualities.

To evaluate through chemical and biological analyses, the nutritional quality of the flour and of its thermic treatment, as well as of the sunflower seed protein concentrate.

To supplement these flours with the amino acids lysine and methionine.

Analysis of the results suggested the following conclusions:

The sunflower seed obtained by thermic treatment has a higher protein value than when untreated. The flour thus treated is of better protein quality when supplemented with 0.34% lysine.

The sunflower seed not subjected to thermic treatment, and supplemented with different levels of the amino acid methionine, did not improve the protein quality of the product.

The protein concentrate of the sunflower seed shows a protein quality as well as a protein efficiency ratio (PER) relatively low, probably due to the lack of lysine.

BIBLIOGRAFIA

1. Sondheimer, E. Chlorogenic acids and related depsides. *Botanical Rev.*, **30**: 667, 1964.
2. Cobra, D. W. & D. E. Simar. **Sunflower Production and Market**. North Dakota, University of Agriculture and Applied Science. Fargo, ND, 1978, 73 p.
3. Sosulsky, F. W. & T. W. Fan. New techniques for preparation of improved sunflower proteins concentrates. *Cereal Chem.*, **53**(1): 118-125, 1976.
4. Bolson, E. L. Técnicas para a produção de sementes de girassol. Brasília, EMBRAPA S. S. P. B., 1981, 27 p. Circular Técnica.
5. Burns, E. E., L. J. Talley & B. J. Brumenett. Sunflower utilization in human foods. *Cereal Sci. Today*, **17**(9): 287-291, 1972.
6. Amos, H. E., D. Burdick & R. W. Seerley. Effect of processing temperature and L-lysine supplementation on utilization of sunflower meal by the growing rat. *J. Anim. Sci.*, **40**(1): 90-95, 1975.
7. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 10th ed. Washington, D. C., The Association, 1970, 965 p.
8. Bender, A. E. & D. S. Miller. New brief methods of estimating net protein values. *Biochem. J.*, **53**(1): vii, 1953.
9. Alexander, J. C. & D. C. Hill. The effect of heat on the lysine and methionine in sunflower seed oil meal. *J. Nutr.*, **48**: 149, 1952.
10. Claudinin, D.R. Sunflower seed oil meal. In: **Processed Plant Protein Foodstuffs**. A. M. Altschul (Ed.). New York, N. Y., Academic Press, Inc., 1958, p. 564-575.

UTILIZAÇÃO DO GIRASSOL (*Heliantus annuus*, L.) NA ALIMENTAÇÃO HUMANA. II. ENRIQUECIMENTO DO CONCENTRADO PROTEICO DE GIRASSOL COM FARINHA DE PEIXE E DE GERGELIM¹

*Jocelem Mastrodi Salgado*² e *Eliza Chieus*³

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",
Universidade de São Paulo
Piracicaba, São Paulo, Brasil

RESUMO

A farinha de girassol submetida a tratamento térmico resulta em uma melhor qualidade proteica, quando suplementada com o aminoácido lisina, porém, a farinha sem tratamento térmico suplementada com aminoácido metionina não apresenta efeito na melhoria do valor nutricional. Esses dados mostram que o aminoácido limitante, na farinha de girassol, é o aminoácido lisina e não metionina. Com base nisso, para confirmar esses resultados, foram utilizados farinha de peixe (rica no aminoácido lisina) e farinha de gergelim (rica em metionina) para o enriquecimento do padrão de aminoácidos do concentrado proteico do girassol. Foram elaboradas 3 dietas ao nível de 100/o de proteína, contendo:

Concentrado proteico de girassol fornecendo 700/o da proteína mais farinha de gergelim (300/o da proteína).

Concentrado proteico de girassol 700/o da proteína, mais farinha de peixe (300/o da proteína).

Concentrado de girassol 700/o da proteína, mais farinha de gergelim 200/o e farinha de peixe 100/o da proteína.

Da análise dos resultados foram seguidas as seguintes conclusões:

A suplementação do concentrado de girassol com 300/o da farinha de gergelim, não produz um produto de alto valor nutricional, indicando uma vez mais ser o limitante o aminoácido lisina e não metionina.

Manuscrito modificado recebido: 7-9-87.

- 1 Projeto financiado pela CNPq.
- 2 Prof. Adjunto na Área do Nutrição Humana e Alimentos, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Caixa Postal 9, 13.400 Piracicaba, São Paulo.
- 3 Acadêmica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Bolsista do CNPq.

A suplementação do concentrado proteico de girassol com farinha de peixe (rico no aminoácido lisina) mostrou a taxa de eficiência proteica (PER) praticamente igual ao padrão de caseína.

INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus*, L.) é originário do Continente americano, tendo sido descrita 50 espécies na América do Norte e 17 na América do Sul. A produção comercial do girassol como oleaginosa iniciou no período de 1830 a 1840 na Rússia, sendo hoje cultivado em vários países do mundo (1).

O girassol é a segunda fonte mais importante de óleos vegetais no mundo, representando 51% da produção mundial. O maior produtor é a Rússia, seguindo-se os Estados Unidos, Argentina e Romênia (2). Como resultado de intensivos esforços para o melhoramento das sementes, a Rússia conseguiu elevar o teor de óleo dos cultivares do girassol de 33% para mais de 50%, diminuindo o teor da casca de 40% para 25% (3).

As variedades de óleo geralmente apresentam sementes pretas e possuem uma casca fina aderente a parte central. As sementes da variedade de óleo contém 38 a 50% de óleo e cerca de 20% de proteína. As variedades não utilizadas para extração de óleo também são referidas como doce, listradas, de casca relativamente grossas, que permitem um deslocamento mais completo. Além disso, contém menor teor de óleo que as primeiras (2).

No Brasil, o girassol destaca-se como uma cultura em fase de implantação, estimando-se que, de 28.000 toneladas em 1970, tenhamos alcançado 133.000 toneladas em 1974. Em 1978, nos Estados de São Paulo e Paraná, foram plantados cerca de 6.000 ha, em 1980, 35.000 ha. A maior parte do território brasileiro é considerada apta para o cultivo dessa oleaginosa. No Estado de São Paulo, apenas a região litorânea não seria recomendada devido ao excesso de umidade, de doença, além de prejudicar a polinização (4).

Já em 1947, o Departamento de Economia Doméstica da Universidade de Illinois, concluía que a torta era uma fonte rica de proteína altamente digestível e nutritiva, rica em cálcio e vitaminas do complexo B, apropriada para o consumo humano (5).

O principal problema no emprego da sementes integrais como alimento humano, consiste na tendência de ambos grãos crus e tostados, se rancificarem a não ser que sejam mantidas sob armazenamento frio.

O outro problema da torta de girassol nos alimentos humanos é a presença de casca e ácido clorogênico como foi indicado por Pomenta (6). Ambos componentes causam descoloração indesejável da torta sob certas condições. As cascas causaram além disso, excessivo volume de fibras.

As análises físicas e químicas da torta desengordurada do girassol indicam ser a descoloração causada principalmente, pela oxidação do ácido heliantotânico. Mais tarde, Gaiter (1909), Pomenta (6), Burns, Taley e Brummenett (5) descobriram os seguintes compostos fenólicos, nas sementes de girassol: ácidos clorogênicos, cafeico e químico. A oxidação de um ou mais de um desses fenóis, seja pelo oxigênio num pH

alcalino ou enzimaticamente pela polifenol oxidase, produz uma mudança de cor (1, 5).

O isolamento da proteína da torta desengordurada do girassol tem sido pesquisado por numerosos autores: Osborne (8), Smith (9), Solsulsky e Bakal (10) e Ghevasuddin, Carter e Mattil (11), concordam que o isolado tem um alto valor nutricional, porém, verificam que sob extração alcalina convencional ou precipitação do ácido, o isolado possuía uma cor detrimental ao produto. Ghevasuddin, Carter e Mattil (11) usaram um agente redutor, sulfito de sódio, durante a extração alcalina e precipitação do ácido e lavagem alcoólica para obter um isolado proteico branco.

Smith (9) usou sal para extrair a proteína do girassol e obteve um isolado de cor marrom em vez da cor verde escura proveniente da extração alcalina.

Solsulsky e Bakal (10) e Ghevasuddin, Carter e Mattil (11) estão em concordância em relação aos valores encontrados para frações proteicas do girassol.

O presente trabalho tem como objetivo:

— Estudar através de análise bromatológica a farinha e o concentrado proteico da semente de girassol e complementar o padrão de aminoácidos desse concentrado com farinha de peixe e de gergelim.

MATERIAL E METODOS

As sementes de girassol da variedade Anhandy utilizadas neste trabalho foram obtidas junto a seção de oleaginosas do Instituto Agronômico de Campinas. As farinhas de gergelim e a farinha de peixe foram produzidas no laboratório de Nutrição Humana e Alimentos da ESALQ/USP – Piracicaba – SP.

1. *Preparo da Farinha de Girassol com Tratamento Térmico*

Para o preparo da farinha de girassol, utilizou-se o método proposto por Amos, Burdick e Seerley (12), com algumas modificações - Salgado e Chieus (13).

2. *Preparo do Concentrado Proteico*

Preparou-se também o concentrado proteico do girassol (13) e com esse concentrado suplementou-se a farinha de peixe e de gergelim visando melhorar o padrão de aminoácidos da mistura.

3. *Preparo da Farinha de Gergelim (Sesamum indicum, L.)*

As sementes foram colocadas de molho durante 16 horas esfregando uma nas outras para soltar as cascas. Depois disso seguiu-se o método descrito por Salgado e Goncálvez (14, 15).

4. *Preparo da Farinha de Peixe*

Foram utilizados peixes da espécie “cascudo”, proveniente do comércio

local. Os peixes foram descongelados ao ambiente, lavados com água corrente. Foram utilizados somente as partes ventrais dos peixes, sem espinhas, sem nadadeiras e com pele. Posteriormente foram cortados em pedaços de forma cúbica, com aproximadamente 1.5 cm de lado.

Os pedaços foram postos a macerar por duas horas em álcool 97°C. A proporção entre peixe e álcool foi 1:1.5.

Após a maceração foi feito o aquecimento em balão utilizando-se manta. Após atingir a temperatura de 70°C, manteve-se essa temperatura por 30 minutos. Depois deste aquecimento os pedaços de peixe foram retirados do balão, peneirados, prensados, desintegrados e levados para estufa de circulação forçada com temperatura controlada a 60°C por 16 horas.

Após a secagem o material foi moído em moíno de facas e armazenado em sacos plásticos hermeticamente fechados no refrigerador.

5. Análises Químicas

A farinha de girassol, bem como do concentrado, e do concentrado de girassol com farinha de peixe, e de gergelim, foram analisadas quimicamente a fim de se obter valores para umidade, extrato etéreo, cinza e fibra bruta de acordo com os métodos tradicionais descritos em AOAC (16). O nitrogênio total foi determinado pelo método Kjeldahl. Para a conversão do nitrogênio em proteína utilizou-se o fator 6.25.

8. Ensaio Biológico

Preparo das dietas — As dietas experimentais e de controle foram formuladas ao nível de 100/o e constituídas de mistura salina 40/o, mistura vitamínica 20/o, óleo de milho 50/o e amido para completar 100 gramas. Incluiu-se uma dieta apteica a fim de corrigir a proteína consumida e eliminada, para fins de cálculo de digestibilidade.

As farinhas de peixe e de gergelim foram utilizadas para enriquecimento do padrão de aminoácidos do concentrado proteico de girassol (13). Foram preparadas 3 dietas ao nível de 100/o de proteína contendo:

- Concentrado proteico de girassol fornecendo 700/o da proteína mais farinha de gergelim (300/o da proteína).
- Concentrado proteico de girassol 700/o da proteína, mais farinha de peixe (300/o da proteína).
- Concentrado de girassol 700/o da proteína, mais farinha de gergelim 200/o e farinha de peixe 100/o da proteína.

7. Animais

Para a análise biológica foram utilizados ratos albinos com 21-23 dias de idade, machos, da raça Wistar, provenientes do biotério da área de Nutrição Humana e Alimentos, ESALQ/USP.

A experiência teve 28 dias de duração, os ratos foram colocados em gaiolas individuais recebendo água e alimento "ad libitum". Os animais foram pesados três vezes por semana. As fezes excretadas por animal, foram coletadas, pesadas, moídas, postas para secar em estufa a 65°C,

durante 3 dias. As amostras de fezes foram analisadas para verificar o teor de nitrogênio de acordo com o método AOAC (16), a fim de calcular a digestibilidade.

Ao final dos 28 dias, após jejum de 12 horas, os animais foram sacrificados por inalação de éter etílico, as cavidades abdominais e torácicas abertas e colocadas na estufa a 105°C durante 72 horas.

As carcaças secas foram moídas em liquidificador tipo industrial, armazenadas em sacos plásticos e mantidas em refrigeração, para determinação da proteína líquida (NPU).

Para a análise biológica foram empregados parâmetros baseados no crescimento dos animais, o PER (Protein efficiency ratio) e o CEA (Coeficiente de utilização alimentar), de acordo com AOAC (16).

A utilização da proteína líquida, a digestibilidade e o valor biológico forma calculados segundo Bender e Miller (17), usando-se as fórmulas:

$$NPU = \frac{B - (B_k + I_k)}{I} \times 100$$

sendo:

- B – Nitrogênio total da carcaça
- B_k – Nitrogênio total da carcaça do grupo aprotéico
- I – Ingestão total de nitrogênio
- I_k – Ingestão total de nitrogênio do grupo aprotéico

$$D = \frac{I - (F - F_k)}{I} \times 100$$

sendo:

- I – Consumo de nitrogênio da dieta teste
- F e F_k – Nitrogênio fecal dos grupos testes e não aprotéico

$$VB\% = \frac{NPU}{D} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 e 2 mostram a composição centesimal das sementes de girassol com tratamento térmico, concentrado protéico do girassol e do concentrado suplementado com farinha de gergelim e de peixe.

A composição das dietas experimentais ao nível de 100%, referentes ao concentrado de girassol, concentrado enriquecido com gergelim, farinha de peixe, caseína, bem como suas análises químicas, estão dispostos na Tabela 2.

A Tabela 3 indica um resumo da análise biológica baseado no crescimento dos animais (PER e CEA) e na retenção do nitrogênio (digestibilidade, utilização da proteína líquida e valor biológico)

TABELA 1

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS SEMENTES DE GIRASSOL COM
TRATAMENTO TÉRMICO, DO CONCENTRADO PROTEICO DO GIRASSOL
E DE FARINHA DE GERGELIM E DE PEIXE

	Matéria seca	Extrato etéreo	Fibra	Cinza	Proteína N x 6.25
Farinha de girassol com tratamento térmico	94.7	12.3	5.5	6.0	52.4
Concentrado proteico de girassol	93.9	9.8	1.7	5.4	58.0
Farinha de gergelim	92.5	3.0	0.7	9.5	46.3
Farinha de peixe	92.9	2.9	0.4	3.6	76.8

TABELA 2

COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS AO NÍVEL DE 10%
/o

Dietas	Conc. de girassol	Para cada 100 gramas			Caseína	Aproteica
		CC gir. 70% + gergelim 30% /o	CC gir. 70% + peixe 30% /o	CC gir. + gerg. + peixe		
Mistura salina	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Mistura vitamínica	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
Oleo de milho	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Amido	71.6	55.3	63.8	71.2	76.7	88.8
Concent. girassol	17.2	12.0	12.0	12.0	—	—
Gergelim	—	21.5	—	4.3	—	—
Farinha de peixe	—	—	13.0	1.3	—	—
Caseína	—	—	—	—	12.1	—

A partir do princípio que a farinha de girassol com tratamento térmico vem viabilizar o seu uso na alimentação humana, fez-se um concentrado dessa farinha contendo 58% de proteína.

A metodologia usada no preparo do concentrado, foi a de Sosulsky e Fan (3) devido ao seu alto rendimento, melhor cor e sabor.

Para cada 100 gramas de farinha de girassol, obteve-se um rendimento de 75 gramas, de cor bege e sabor aceitável.

No método de Gheyasuddin, Carter e Mattil (11) obteve-se um concentrado de cor acinzentada e de baixo rendimento para 100 gramas de farinha, obteve-se um rendimento de 14 gramas.

TABELA 3

GANHO EM PESO, CONSUMO DE RAÇÃO, PER, CEA, DIGESTIBILIDADE, NPU E VALOR BIOLÓGICO (VB) PARA CADA UMA DAS DIETAS

Dietas	Animais	Ganho* em peso (g)	Consumo* ração ração (g)	Consumo* de proteína (g)	PER	CEA o/o	NPU o/o	Digesti- bilida- de o/o	VB o/o
CC Girassol		31.0	193.2	19.9	1.5	0.16	42.3	88.6	47.6
CC Girassol + Gergelim		25.2	153.5	16.1	1.5	0.16	43.1	85.4	50.5
CC Girassol + Peixe		48.3	211.5	21.6	2.2	0.22	61.4	90.6	67.8
CC Girassol + Gergelim + Peixe		38.0	227.5	24.1	1.5	0.17	46.1	98.1	47.1
Caseína		77.5	293.2	29.6	2.6	0.26	66.4	88.1	75.4

* Média de 6 animais.

PER — Protein efficiency ratio.

CEA — Coeficiente de eficiencia alimentar.

NPU — Net protein utilization.

VB — Valor biológico.

Após a metodologia definida, preparou-se o concentrado e suplementou-se com farinha de gergelim e farinha de peixe.

A farinha de gergelim obtida da torta prensada teve em torno de 46^o/o de proteína. Tem como aminoácido limitante o aminoácido lisina. Experimentos indicam que em muitos casos esse aminoácido é limitante por causa do uso excessivo de elevadas temperaturas durante o processamento da extração do óleo.

Do ponto de vista da qualidade proteica, o gergelim embora deficiente em lisina, é rico em aminoácidos sulfurados. A proteína da semente de gergelim é uma das fontes naturais mais ricas em metionina. Com base nisso é que se suplementou com gergelim a farinha de girassol.

No entanto, a suplementação de farinha de girassol com gergelim não produziu um produto de alto valor nutritivo, a taxa de eficiência proteica (PER) foi de 1.5; a digestibilidade 85.4^o/o, a proteína líquida 43.1^o/o e o valor biológico 50.5^o/o, evidenciando mais uma vez ser o aminoácido limitante no girassol o aminoácido lisina e não metionina.

Em relação a suplementação com farinha de peixe, devido a qualidade nutricional do pescado e alto teor de aminoácidos essenciais, particularmente a lisina mostrou que a taxa de eficiência proteica (12.17) aproxima-se da caseína (2.12) a digestibilidade (90.6^o/o), NPU (61.4^o/o) e o valor biológico (67.8^o/o), evidenciando mais uma vez que a farinha de girassol com tratamento apresenta um alto valor nutricional quando em-

pregado em misturas com produtos ricos em lisina, como no caso da farinha de peixe.

A taxa de eficiência proteica (PER) do concentrado proteico foi baixa (6, 16) devido provavelmente a qualidade do padrão dos aminoácidos da proteína, ou seja, a falta de aminoácidos essenciais.

Quando a farinha de girassol foi suplementada com farinha de peixe e farinha de gergelim a taxa de eficiência proteica (PER) foi baixa (1.5) indicando que a quantidade de aminoácido lisina presente na farinha de peixe não foi suficiente para completar o padrão de aminoácido tanto na farinha de gergelim e de girassol presente na mistura. Provavelmente, se aumentássemos a proporção de farinha de peixe, essa deficiência de aminoácidos poderia ser suprimida.

CONCLUSÃO

- A suplementação do concentrado de girassol 20^o/o com 30^o/o de farinha de gergelim, não produziu um produto de alto valor nutritivo;
- Suplementação do concentrado proteico do girassol, com farinha de peixe (rico no aminoácido lisina), mostrou a taxa de eficiência proteica (PER) 2.2 praticamente igual ao padrão da caseína.

SUMMARY

UTILIZATION OF SUNFLOWER (*Helianthus annus*, L.) IN HUMAN FOODS.

II. ENRICHMENT OF THE SUNFLOWER PROTEIN CONCENTRATE WITH FISH AND SESAME MEALS

The first part of this study revealed that a sunflower meal submitted to thermic treatment resulted in a protein of better quality when supplemented with lysine, while the meal not subjected to thermic treatment, supplemented with methionine, did not increase its nutritional value. These data indicated, therefore, that the limiting amino acid in sunflower meal is lysine, and not methionine. Based on these findings, and in order to confirm previous results, fish flour (high in lysine) and sesame flour (high methione) were used to enrich the amino acid pattern of the sunflower protein concentrate. Three diets were thus prepared at the 10^o/o protein level, containing:

Sunflower protein concentrate which provided 70^o/o protein, plus sesame flour (30^o/o protein).

Sunflower protein concentrate with 70^o/o protein, and fish flour (30^o/o protein).

Sunflower concentrate with 70^o/o protein, sesame flour with 20^o/o, and fish flour with 10^o/o protein.

These following conclusions were derived on the basis of the analysis of these results:

Supplementation of sunflower concentrate with 30^o/o sesame flour does not producer a product of high nutritional value, once again indicating that lysine and not methionine is the limiting amino acid.

Supplementation of the sunflower protein concentrate with fish flour (high in lysine content) presents a protein efficiency ratio (PER), practically equal to that of the casein pattern.

BIBLIOGRAFIA

1. Sondheimer, E. Chlorogenic acids and related depsides. *Botanical Rev.*, **30**: 667, 1964.
2. Cobra, D. W. & D. E. Zimar. **Sunflower Production and Market**. North Dakota University of Agriculture and Applied Science. Fargo, ND, 1978, 73 p.
3. Sosulsky, F. W. & T. Y. Fan. New techniques for preparation of improved sunflower proteins concentrate. *Cereal Chem.*, **53**(11): 118-152, 1976.
4. Bolson, E. L. Técnicas para a produção de sementes de girassol. Brasília, EMBRAPA S.S.P.B., 1987. 27 p. (Circular Técnica).
5. Burns, E. E., L. J. Taley & B. J. Brummenett. Sunflower utilization in human foods. *Cereal Sci. Today*, **17**(9): 287-291, 1972.
6. Pomenta, J. V. Chemical and physical characteristics of selected types of sunflower seeds. M. D. Thesis, Texas, A&M University, 1970.
7. Millic, B., S. Stojanovic, N. Vucurevic & M. Tunac. Chlorogenic and quinic acids in sunflower meal. *J. Sci.*, **19**: 1968.
8. Osborne, T. B. **The Vegetable Protein**. London, Longmans Green & Co., 1924.
9. Smith, J. K. Review of the nutritional value on sunflower meal. *Feedstuffs*, **40**: 20, 1968.
10. Sosulsky, F. W. & A. Bakal. Isolated protein from rapessed flax and sunflower meals. *J. Inst. Technol. Aliment.*, **2**: 28, 1969.
11. Gheyasuddin, S., C. M. Carter & K. F. Mattil. Preparation of colorless sunflower protein isolates. *Food Technol.*, **24**: 242, 1970.
12. Amos, H. E., D. Burdick & R. W. Seerley. Effect of processing temperature and L-lysine supplementation on the utilization of sunflower meal by the growing rat. *J. Anim. Sci.*, (1): 90-95, 1975.
13. Salgado, J. M. & E. Chieus. Utilização do girassol (*Helianthus annus*, L.) na alimentação humana. I. Obtenção de farinha de girassol, concentrado proteico e complementação dessa farinha com aminoácidos lisina e metionina. *Arch. Latinoamer Nutr.*, **38**: 288-296, 1988.
14. Salgado, J. M. & C. M. M. Gonçalves. Estudo da semente de gergelim. I. Métodos para obtenção da farinha branca comestível. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **38**: 333-333, 1988.
15. Salgado, J.M. & C.M.M. Gonçalves. Estudo da semente de gergelim. II. Emprego de farinha de gergelim em misturas proteicas. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **38**: 333-333, 1988.
16. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 10th ed., Washington, D. C., The Association, 1970.
17. Bender, A. E. & D. S. Miller. New brief methods of estimating net protein values. *Biochem. J.*, **53**(I):vii, 1953.

**ESTUDO DA SEMENTE DE GERGELIM (*Sesamum indicum*, L.)
I. METODOS PARA OBTENÇÃO DE FARINHA
BRANCA COMESTÍVEL**

*Jocelem Mastrodi Salgado*¹ e *Claudia M. M. Gonçalves*²

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",
Universidade de São Paulo
Piracicaba, São Paulo, Brasil

RESUMO

Foram testados métodos de processamento para a obtenção de uma farinha de gergelim comestível.

O valor nutricional dessa farinha foi avaliado através de análise química e biológica.

Dos resultados do presente trabalho, foram sugeridas as seguintes conclusões:

O melhor método para obtenção da farinha de gergelim, é submeter a semente ao processo de maceração e ao tratamento com vapor.

A proteína do gergelim é de qualidade razoável, rica em aminoácidos sulfurados e, embora possua baixo teor de lisina pode ser utilizada para complementar o padrão de aminoácidos em outras misturas.

INTRODUÇÃO

O gergelim (*Sesamum indicum*, L. sin. *Sesamum orientale*, L.) é uma semente oleaginosa que provavelmente é proveniente da África e atualmente é cultivada em vários países da Ásia, África, América do Norte, Central e do Sul.

A semente de gergelim é uma das mais antigas cultivadas pelo homem. É uma cultura relativamente nova no Hemisfério Ocidental, tendo sido introduzida durante a década de 1930, na América do Sul, Central e México.

Manuscrito modificado recebido: 18-7-88.

- 1 Professor Adjunto na Área de Nutrição Humana e Alimentos, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). Caixa Postal 9, 13.400 Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- 2 Acadêmica de ESALQ/USP, e Bolsista do CNPq.

No Brasil, calcula-se que o gergelim é plantado numa área não superior a cinco mil hectares, mas no mundo todo existem 6.3 milhões de hectares correspondentes a uma produção anual de dois milhões de toneladas. A oferta de semente de gergelim no Brasil é menor que a demanda o que leva a uma importação do produto; isso aumenta o custo da produção.

O Instituto Agrônômico de Campinas (IAC), desenvolveu em 1983, um novo cultivar de gergelim, IAC-Ouro, que tem como principal característica a uniformidade da maturação, o que viabiliza a mecanização da colheita. A mecanização diminui o custo e a perda. Esse novo cultivar está adaptado as condições do Estado de São Paulo e, possivelmente, Centro Oeste Brasileiro (1).

O IAC vem promovendo o plantio de gergelim através do fornecimento de sementes aos agricultores interessados.

O gergelim, assim como outras sementes oleaginosas, é muito rico em proteína. A semente de gergelim contém uma alta quantidade de aminoácidos sulfurados e triptofano na sua proteína. Por causa disso o gergelim é considerado um bom fornecedor de proteína para a alimentação humana e animal. Seu valor nutricional é prejudicado pela deficiência de lisina.

O presente trabalho teve como objetivo:

— Estudar métodos de obtenção da farinha de gergelim, e estudar o valor nutricional dessa farinha através de métodos químicos y biológicos.

MATERIAIS E METODOS

1. Preparo da Farinha de Gergelim

As sementes de gergelim foram escolhidas e divididas em quatro grupos; para cada grupo foi aplicado um método de processamento diferente para a obtenção da farinha.

Método I — As sementes foram colocadas em uma peneira de malha fina ao qual foi adaptada uma panela contendo 4 cm de água de modo que as sementes não entrassem em contacto direto com a água. A água foi aquecida até atingir 96°C e depois as sementes ficaram durante uma hora e meia recebendo vapor da água. Em seguida a esse período, as sementes foram colocadas na estufa à temperatura de 60°C para retirar a umidade.

Após secas, as sementes foram prensadas em prensa manual hidráulica, modelo TE-098, para retirar a maior parte do óleo, obtendo-se uma “torta prensada”. A extração do óleo foi completada em aparelho Soxhlet, tipo industrial, com N-Hexano por seis horas.

A torta desengordurada foi levada à estufa à 60°C durante 12 horas, para evaporação do solvente (N-hexano). Após a evaporação do solvente, a torta desengordurada foi moída em moinho de facas, obtendo-se assim a farinha de gergelim.

Método II — Nesse método as sementes não foram submetidas à vapor. As sementes foram prensadas em prensa manual hidráulica; a torta prensada foi colocada em Soxhlet (tipo industrial), com N-hexano, por seis horas. Depois de seca, a torta foi moída em moinho de facas, obtendo-se assim a farinha.

Método III — As sementes foram colocadas numa peneira de malha fina a qual foi adaptada a uma panela de pressão com 1.5 cm de água e colocada em estufa a 100°C por duas horas. Após esse período as sementes foram colocadas na estufa a 60°C para a retirada de água. Em seguida foram prensadas, colocadas no Soxhlet com N-Hexano por seis horas e moídas em moíno de facas.

Método IV — As sementes foram colocadas em maceração durante 16 horas, para remoção das cascas. Depois disso, seguiu-se o mesmo método descrito para o lote I.

2. Análises Químicas

As farinhas de gergelim obtidas através das quatro metodologias foram analisadas quimicamente a fim de se obter os valores para a umidade, matéria seca, extrato etéreo, fibra bruta, cinzas de acordo com os métodos tradicionais discutidas em AOAC (1970) (1). O nitrogênio total foi determinado pelo método Kjeldahl. Para conversão do nitrogênio em proteína utilizou-se o fator 6.25.

3. Ensaio Biológicos

Preparo das dietas — Com os resultados obtidos através das análises químicas, selecionamos duas metodologias para a obtenção da farinha de gergelim desengordurada, as quais foram empregadas no ensaio biológico.

As metodologias escolhidas foram a II, ou seja, sementes de gergelim sem submeter-se a tratamento térmico, e a metodologia IV, em que as sementes foram colocadas em maceração, e submetidas a um tratamento à vapor.

As dietas experimentais e de controle foram formuladas ao nível de 100/0 de proteína e constituídas de 40/0 mistura salina, 10/0 de mistura vitamínica (Roche), óleo de milho 80/0 e amido de milho (maizena) para completar 100 gramas (2). Incluiu-se uma dieta aprotéica a fim de corrigir a proteína consumida e eliminada para fins de cálculos de digestibilidade.

4. Animais

Para a análise biológica foram utilizados ratos albinos com 12-23 dias de idade, machos, da raça Wistar, provenientes do Biotério do setor de Nutrição Humana e Alimentos da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra a composição centesimal das sementes de gergelim submetidas aos diferentes métodos de processamento.

Pelos resultados da Tabela 1, observa-se que a farinha de gergelim sem tratamento térmico foi o que apresentou valor proteico mais baixo (34.40/0). Esse valor proteico mais baixo em relação às farinhas de gergelim que receberam o tratamento térmico, pressupôs-se que seja

TABELA 1

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS SEMENTES DE GERGELIM
SUBMETIDAS AOS 4 METODOS DE PROCESSAMENTO

Tratamento	Materia seca	Extrato etéreo	Fibra	Cinzas	Proteína (6.25 x N)
Método I	95.4	3.2	4.0	9.9	38.8
Método II	93.5	22.3	1.3	8.7	34.4
Método III	94.7	4.7	3.5	10.5	39.5
Método IV	91.6	3.5	0.9	11.5	46.5

devido ao fato de as sementes de gergelim sem tratamento liberarem facilmente o óleo, e isso provavelmente podese relacionar com as propriedades das proteínas.

O melhor resultado foi conseguido com a farinha de gergelim obtida através da metodologia IV, ou seja, as sementes deixadas em maceração por 16 horas, e depois submetidas ao tratamento térmico.

A maceração das sementes permitiu a retirada mais fácil da casca, o que contribuiu para a diminuição do teor de fibra da farinha, bem como melhorou a palatibilidade da farinha, através da remoção de sabores e odores desagradáveis (4, 5). A menor porcentagem de fibra diminui os movimentos peristálticos, aumentando assim, a absorção dos nutrientes.

O tratamento térmico feito nas sementes desnaturou a proteína, o que permitiu a retirada fácil do óleo, inativou enzima, reduziu a viscosidade do óleo e ajustou o teor de umidade o que também facilitou a retirada do óleo (6). Assim, o tratamento com vapor aumentou a extração de óleo, aumentando dessa forma o rendimento e o teor proteico da farinha.

Os resultados da análise biológica, baseados no crescimento dos animais (CEA e PER), bem como na retenção do nitrogênio da carcaça, estão dispostos na Tabela 2.

Pelos resultados da Tabela 2, podemos observar que a farinha de gergelim, cuja semente recebeu o tratamento térmico, apresentou uma taxa de eficiência proteica PER (1.45) e uma maior que a farinha de gergelim sem tratamento. No entanto, o valor biológico foi maior para a farinha de gergelim sem tratamento térmico o que, provavelmente, deve ser devido ao fato do tratamento térmico ter destruído ainda mais o aminoácido lisina, do qual a farinha já é deficiente. Os animais, durante o ensaio biológico, em exames histológicos, não apresentaram sinais patológicos, o que permite a utilização de farinhas de gergelim na alimentação. Do presente trabalho, foi sugerida a seguinte conclusão:

— O melhor método para obtenção da farinha de gergelim, é submeter a semente ao processo em maceração e ao tratamento com vapor.

— A proteína de gergelim é de qualidade razoável, rica em aminoácidos sulfurados e embora deficiente no aminoácido lisina, poderá ser aproveitada em misturas proteicas.

TABELA 2

CANHO EM PESO, CONSUMO DE RAÇÃO, CONSUMO PROTEICO, PER, CEA, NPU, DIGESTIBILIDADE E VALOR BIOLÓGICO PARA AS DIETAS EXPERIMENTAIS E CONTROLE (CASEÍNA)

	Ganho* em peso	Consumo* de ração	Consumo* de proteína	PER ¹	CEA ²	NPU ³	Digesti- bilidade	Valor biológico
Farinha de gergelim c/ tratamento	29.6	193.2	20.2	1.45	0.15	30.5	83.8	36.4
Farinha de gergelim s/ tratamento	23.3	171.1	18.4	1.25	0.13	35.7	84.5	42.2
Caseína	83.7	285.8	28.8	2.89	0.29	57.1	91.6	62.3

* Média de 6 animais.

1 Protein efficiency ratio.

2 Coeficiente de eficácia alimentar.

3 Net protein utilization.

SUMMARY

STUDY OF THE SESAME SEED (*Sesamum indicum* L.). I. METHODS FOR OBTAINING AN EDIBLE WHITE MEAL

Methods for processing of the sesame seed were tested in order to obtain an edible meal. The nutritive value of this meal was evaluated by chemical and biological analyses.

According to the results obtained, it was concluded that the best method is to submit the seeds to a maceration process and to a vapor treatment.

The sesame flour protein is of reasonable quality, rich in sulfur amino acids. Although it has a low lysine level, it can be utilized for complementing the amino acid pattern of other mixtures.

BIBLIOGRAFIA

1. Akpapunam, M. A. & P. Markakis. Protein supplementation of cowpeas with sesame and watermelon seeds. *J. Food Sci.*, **46**(3): 960-961, 1976.
2. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970.
3. Bender, A. E. & D. S. Miller, New brief methods of estimating net protein values. *Biochem. J.*, **53**: VIII, 1953.

4. Guerra, M. J., W. G. Jaffé & E. Sangronis. Obtenção de frações protéicas a partir de tortas comerciais de gergelim (*Sesamum indicum*). *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **34**(3): 477-487, 1984.
5. Silva, S. G. & H. Rivero. Productos alimenticios derivados de ajonjolí. *Rev. del Instituto de Investigaciones Tecnológicas*, **21**(120): 34-55, 1979.
6. Guggolz, J. Composition of several types of sunflower seed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**: 689-693, 1968.

ESTUDO DA SEMENTE DE GERGELIM (*Sesamum indicum*, L.)
II. EMPREGO DA FARINHA DE GERGELIM EM
MISTURAS PROTEICAS

*Jocelem Mastrodi Salgado*¹ e *Claudia M. M. Gonçalves*²

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",
Universidade de São Paulo
Piracicaba, São Paulo, Brasil

RESUMO

Os resultados demonstraram que a proteína do gergelim é de qualidade razoável e que pode ser aproveitada, embora possua teor baixo de lisina e rica em aminoácidos sulfurados. A partir dos dados iniciais, suplementou-se a farinha de gergelim com outras farinhas de feijão carioca, feijão guandú e de soja. Foram elaboradas 9 dietas. A melhor combinação foi de 50% da proteína de gergelim com 50% da proteína de feijão guandú, cujo PER foi 2.28. Com esses sistemas foram elaborados pães, com 100% gergelim, 100% de trigo, 50% gergelim + 50% de farinha de trigo, 30% de gergelim + 70% de trigo, 30% de gergelim + 30% de soja + 40% de trigo, os quais foram avaliados através de análise sensorial com atribuição de notas, por dez provadores.

Pudemos constatar que o pão com 30% de farinha de gergelim e 70% de farinha de trigo, obteve um bom resultado. A aparência externa e internamente assim como suas características organolépticas, chegaram bem próximas a do pão com 100% de farinha de trigo controle. A farinha de gergelim, numa proporção mais elevada (50%), obteve um pão de qualidade regular. A mistura proteica de farinha de gergelim e farinha de soja foi bem aceita, alguns provadores observaram ter ela gosto parecido com pão integral.

INTRODUÇÃO

A semente de gergelim, assim como o óleo de gergelim, já é utilizada na alimentação humana. Com a semente de gergelim são feitos doces,

Manuscrito modificado recebido: 18-7-88.

- 1 Professor Adjunto na Área do Nutrição Humana e Alimentos, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Caixa Postal 9, 13. 400 Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- 2 Acadêmica de ESALQ/USP, e Bolsista de CNPq.

como o doce de gergelim, torrões e a semente torrada colocada em chocolates (ex: chocolate natural com gergelim tostado). O gergelim pode ser utilizado em recheios de sanduiches, em saladas e é bem conhecido colocado em cima de pães (1).

Nos últimos anos tem sido feito vários estudos com a sementes de gergelim, a farinha de gergelim e o óleo de gergelim. A torta desengordurada de gergelim obtida após a extração do óleo já foi utilizada para ração animal, mas foi abandonada por causa do seu alto custo. Ultimamente tem sido avaliada a utilização da farinha obtida da moagem da torta na alimentação humana, como fonte de proteína (2).

O óleo de gergelim, também tem sido estudado por ser um óleo com um bom valor nutricional e por fornecer um sabor agradável ao alimento com ele preparado.

A semente de gergelim já foi testada na alimentação humana, aumentando o valor nutricional como o feito com a Dosa, comida típica da Índia, onde o gergelim é incorporado para elevar o nível de aminoácidos sulfurados do alimento (3). Outro experimento interessante é o "Vege Burger" que é produzido pela Realeat Company; o ingrediente em maior quantidade é o gergelim, tem também, aveia, trigo, soja entre outros (4). A manteiga obtida do óleo de gergelim também foi testada no Iraque para aumentar o valor nutricional de alimentos típicos daquele país ("Honey-Tahena" e "Smoked Fish-Tahena") (5).

Na produção da farinha de gergelim é importante que ela seja descascada para diminuição da porcentagem de fibra, sabores e odores desagradáveis (6, 7). Esses vários métodos vem sendo testados ao longo dos anos (7, 8).

A farinha de gergelim, tem sido testada em misturas proteicas onde é normalmente associada a leguminosas que são ricas em lisina que é o aminoácido limitante da farinha de gergelim.

Essas misturas são feitas normalmente numa proporção de 50:50 e quando testadas outras proporções essa sempre obtém melhor resultado (2, 9-11). A farinha de gergelim já foi complementada com feijão preto, corda, soja grão de bico, entre outros, obtendo-se sempre uma elevação do PER (2, 7, 9-14).

Algumas misturas proteicas de gergelim já foram testadas para elevar o valor nutricional de pães e viscoitos. Conforme a porcentagem de mistura proteica adicionada ao pão, vão modificando suas características em relação a do controle (7, 15, 16).

A preocupação em diminuir a porcentagem da utilização da farinha de trigo na manufatura de pães, vem sendo uma meta no Brasil, pois o trigo é um alimento que depende do mercado internacional, pois precisamos importá-lo em grande escala (17).

O presente trabalho teve como objetivo:

- Utilizar a farinha de gergelim em misturas proteicas, avaliando seu valor nutricional através de análise química e biológica.
- Empregar a farinha de gergelim e as misturas proteicas no preparo de pão.

MATERIAIS E METODOS

1. *Matéria Prima*

As sementes de gergelim, bem como a farinha de soja desengordurada foram obtidas no comércio local de Piracicaba, São Paulo.

As sementes de feijão carioca e guandú, foram obtidas junto ao Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP.

2. *Preparo da Farinha de Gergelim*

As sementes foram colocadas de molho durante 16 horas esfregando uma nas outras para soltar a casca. Depois disso, essas sementes foram colocadas em uma peneira de malha fina ao qual foi adaptada a uma panela contendo 4 cm de água, de modo que as sementes não entrassem em contacto direto com a água. A água foi aquecida até atingir 96°C e depois as sementes ficaram durante uma hora e meia recebendo vapor da água. Em seguida a esse período as sementes foram colocadas na estufa à temperatura de 60°C para retirar a umidade.

Após secas, as sementes foram prensadas em prensa manual hidráulica, modelo TE-098, para retirar a maior parte do óleo, obtendo-se uma "torta prensada". A extração do óleo foi completada em aparelho Soxhlet com N-hexano por seis horas.

A torta desengordurada foi levada à estufa à 60°C por 12 horas para evaporação do solvente (N-hexano). Depois da evaporação do solvente, a torta desengordurada foi moída em moínho de faca, obtendo-se assim, a farinha desengordurada.

3. *Preparo da Farinha de Feijão Carioca*

As sementes foram escolhidas, lavadas e cozidas em panela de pressão por uma hora. Após o cozimento, elas foram colocadas em estufa a 60°C para a retirada da água. Quando secas, foram moídas em moínho de faca sem perda.

4. *Preparo da Farinha de Feijão Guandú*

As sementes foram escolhidas, lavadas em água destilada e cozidas em panela de pressão com água destilada por uma hora. Logo após, as sementes colocadas em estufa a 60°C para a retirada da água. Após secas, foram moídas em moínho de faca sem perda.

5. *Misturas Proteicas*

Com os resultados obtidos através das análises químicas das farinhas e com os resultados do primeiro ensaio biológico, foram feitas as misturas proteicas (18).

As misturas proteicas foram feitas com farinha de gergelim desengordurada, completada com farinha de feijão carioca, guandú e soja na proporção de 50:50, sempre mantendo o nível de proteína da dieta em 10%/o.

Todas as dietas experimentais e de controle foram formuladas a nível de 10% de proteína e constituídas de mistura salina 4%, mistura vitamínica 1% (Roche), óleo de milho 8% e amido até completar 100 g (AOAC, 1970). Incluiu-se uma dieta aprotéica a fim de corrigir a proteína consumida e eliminada, para fins de cálculos de digestibilidade.

Amostras dessas dietas foram submetidas a análises químicas.

6. Animais

Para análise biológica foram utilizados 6 ratos (*Rattus norvegicus*) para ca dieta, variedade albinus, da raça Wistar, procedentes do Biotério do setor de Nutrição Humana e Alimentos da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" -ESALQ/USP-, cuja idade variou de 21 a 23 dias e a variação de peso entre os animais, bem como entre o grupo, não excedeu 5 gramas.

A experiência teve 28 dias de duração e os ratos foram colocados em gaiolas individuais, recebendo água e alimentos *ad libitum*.

Para a análise biológica, foram empregados parâmetros baseados no crescimento dos animais, o PER (Protein efficiency ratio) e o CEA (Coeficiente de utilização alimentar) de acordo com AOAC, 1970.

A utilização da proteína líquida, a digestibilidade e o valor biológico foram calculados segundo Bender e Miller (19), usando as seguintes fórmulas:

$$NPU = \frac{B - B_k - I_k}{I} \times 100$$

sendo: B = Nitrogênio total das carcaças
 B_k = Nitrogênio total das carcaças do grupo aprotéico
 I = Ingestão total de nitrogênio
 I_k = Ingestão total de nitrogênio do grupo aprotéico

$$D = \frac{I - (F - F_k)}{I} \times 100$$

sendo: I = Consumo de nitrogênio da dieta teste
 F = Nitrogênio fecal do grupo teste
 F_k = Nitrogênio fecal do grupo aprotéico

$$VB = \frac{NPU}{D} \times 100$$

sendo: VB = Valor Biológico

7. Preparo do Pão

Matéria prima — Aquecemos meia xícara de leite ao escaldamento (92°C) durante 1 minuto. Acrescentamos ao leite meia colher de chá de gordura e açúcar e uma colher de chá de sal. Ativamos um tablete de fermento em duas colheres de chá de água a 40°C, em outro recipiente.

Esfriando o leite a 27°C, acrescentou-se o fermento a temperatura ambiente.

Acrescentou-se a metade da farinha (total é uma xícara e meia) e misturamos bem. Aos poucos acrescentou-se o restante até o ponto de sovar. Deixou-se em repouso 7 minutos. Espalhou-se 1 colher de chá de trigo na superfície e sovou-se a massa durante 12 minutos.

A massa foi colocada para crescer a 27°C em um recipiente tampado até dobrar de volume. Após esse tempo, a massa foi abaixada e colocada numa forma untada com óleo. A forma foi coberta com um pano e deixou-se a massa crescer a 27°C até dobrar de volume novamente. Após isso, o pão foi assado a 204°C durante 30 minutos e depois 117°C durante 20 minutos.

Foram feitos 6 paes: com 100% de farinha de gergelim; com 100% de farinha de trigo; com 50% de farinha de trigo e 50% de farinha de gergelim; com 30% de farinha de trigo e 70% de farinha de gergelim; com 30% de farinha de gergelim, 30% de farinha de soja e 40% de farinha de trigo; e o último com 30% de farinha de gergelim, 30% de farinha de feijão guandú e 40% de farinha de trigo.

8. Análise Sensorial

A análise sensorial foi feita por 10 provadores, cinco homens e cinco mulheres, com idade entre vinte e quarenta anos.

Aos provadores foram dadas amostras de cada pão e pedido que lhe atribuissem valores utilizando uma tabela de escores para características externas, internas e organolépticas do pão, que foi utilizada por Mazzari *et al.* em seu experimento com fubá em pão (17) (Tabela 1).

TABELA 1
ESCORES PARA CARACTERÍSTICAS EXTERNAS, INTERNAS E ORGANOLEPTICAS

<i>Características externas</i>	Valor máximo atribuído
— Volume	10
— Cor da crosta	8
— Simetria ou forma	4
— Uniformidade de assamento	4
— Carácter da crosta	4
<i>Características internas</i>	
— Cor do miolo	10
— Textura do miolo	15
— Granulação do miolo	10
<i>Características organolépticas</i>	
— Sabor	20
— Aroma	15
TOTAL	100

TABELA 2

ESCORES TOTAIS PARA A QUALIDADE DO PÃO

Contagem de pontos	Qualidade do pão
— Menor que 70	Deficiente
— 70 - 80	Regular
— 80 - 90	Bom
— Maior que 90	Muito bom

Para avaliação da qualidade do pão foi utilizada outra tabela (Tabela 2), também utilizada por Mazzari *et al* (17).

RESULTADOS E DISCUSSAO

A farinha de gergelim foi associada à farinha de feijão guandú, feijão carioca e feijão soja que são leguminosas ricas em lisina e deficientes em aminoácidos sulfurados, no qual o gergelim é rico (2, 9-11, 13).

As misturas proteicas foram feitas numa proporção 50:50 porque segundo experimentos feitos com a mistura de gergelim com leguminosas, essa proporção foi a que forneceu um PER mais próximo ao padrado (9, 10).

Na análise química das farinhas observamos ser a farinha desengordurada de gergelim a que obteve maior porcentagem de proteína (7, 20) depois vem a farinha de soja com 42.60/o e a farinha de feijão carioca e guandú com 27.40/o e 230/o respectivamente.

Após o ensaio biológico e com os dados por ele fornecido pudemos calcular o PER e o CEA das dietas experimentais e de controle. Esses resultados encontram-se dispostos na Tabela 3. Nessa Tabela, pudemos observar que a dieta que forneceu menor eficiência proteica e alimentar, em comparação ao padrão, foi a dieta com farinha de soja (PER 1.68 e CEA 0.17) e a de farinha de gergelim, por serem limitantes, respectivamente, nos aminoácidos sulfurados, e lisina.

As dietas preparadas com as misturas proteicas obtiveram resultados bem próximos ao padrão. A mistura proteica que teve uma eficiência proteica e alimentar mais próxima ao padrão foi a de farinha de gergelim e farinha de feijão guandú (50:50), o PER foi de 2.28 e o CEA 0.23. As misturas de farinha de gergelim com guandú e farinha de gergelim com soja, também elevou o valor biológico, PER e o CEA em relação à farinha de gergelim, indicando que houve complementação no padrão de aminoácidos.

Os animais não apresentaram sinais patológicos o que permite a utilização dessas farinhas e dessas misturas proteicas na alimentação humana.

A partir desse resultado podemos concluir que a deficiência proteica do gergelim pode ser suplementada com a farinha de feijão guandú, e que as farinhas de feijão de soja e carioca suplementam parte da deficiência proteica da farinha de gergelim.

TABELA 3

BANHO EM PESO, CONSUMO DE RAÇÃO, CONSUMO PROTEICO, PER, CEA, NPU, DIGESTIBILIDADE E VALOR BIOLÓGICO PARA AS DIETAS EXPERIMENTAIS E DE CONTROLE (CASEÍNA)

	Ganho em peso	Consumo de ração	Consumo de proteína	PER	CEA	NPU	Digestibilidade	Valor biológico
Farinha de gergelim com tratamento	29.3	225.3	22.5	1.30	0.13	27.1	86.3	31.4
Farinha de feijão carioca	11.5	149.7	15.6	0.74	0.08	26.4	69.3	38.0
Farinha de feijão guandú	15.2	168.8	16.8	0.90	0.09	41.9	73.8	56.0
Farinha de feijão soja	47.0	268.0	27.9	1.68	0.17	34.2	87.8	38.9
50 ^o /o Far. de gergelim								
50 ^o /o Far. de guandú	63.3	272.8	27.8	2.28	0.23	47.2	79.9	59.1
50 ^o /o Far. de gergelim								
50 ^o /o de F. carioca	55.2	276.0	29.2	1.90	0.20	31.2	79.2	39.4
50 ^o /o Far. de gergelim								
50 ^o /o Far. de soja	31.4	203.6	20.4	1.54	0.15	40.0	79.0	50.7
Caseína	80.5	306.2	30.9	2.60	0.23	56.7	93.9	60.7

A semente de gergelim já é bastante usada na alimentação humana por todo o mundo, há países que a utilizam mais e outros menos, sendo essa variação causada principalmente por costumes alimentares e a aceitabilidade do produto em cada país. No Brasil, a utilização da semente de gergelim não é muito difundida, principalmente por causa de seu elevado custo. No Brasil, a oferta de semente de gergelim é menor que a demanda, o que torna necessária a importação de mesma, resultando assim, num elevado custo do produto.

Através de outros trabalhos, vem se tentando divulgar o produto e estimular os agricultores ao plantio do mesmo, tentando assim, obter um produto mais acessível á população e mais conhecido.

A introdução dos costumes alimentares novos numa população é um processo lento e difícil, sendo assim, é necessário obter uma ligação entre um novo produto alimentar e os costumes alimentares já existentes, como o feito por Greeta Chopra *et al.* a Dosa (3).

Sabemos ser o pão um alimento importante na dieta das famílias brasileiras; sabemos também, não ser o trigo um alimento completo em proteína. O trigo é o único alimento que é importado em grande escala pelo Brasil. Concluimos então, que o pão seria um bom alimento para tentarmos a aplicação da farinha de gergelim e as misturas proteicas testadas nos ensaios biológicos.

O pão foi feito com uma mistura básica comum (1). Sabemos que para que o pão cresça é necessário glúten o qual existe na farinha de trigo. Nas farinhas e misturas testadas não tem glúten; logo, é necessário que se coloque uma porcentagem elevada de trigo no pão para que ele cresça e fique com uma textura boa e uma aparência agradável. Os paes foram provados por dez provadores que atribuíram valores segundo a Tabela 1. A média desses valores é apresentada na Tabela 4. Os pães foram ainda qualificados segundo a Tabela 2.

Pudemos constatar que, o pão com 30^o/o de farinha de gergelim obteve um bom resultado. A aparência do pão externa e internamente assim como suas características organolépticas chegaram bem próximas a do pão com 100^o/o de farinha de trigo (controle).

A mistura proteica de farinha de gergelim e farinha de soja também foi bem aceita; alguns provadores observaram ter ele um gosto parecido como o do pão integral. E importante observar que os provadores avaliaram os paes individualmente, para evitar influência.

A farinha de gergelim, numa proporção mais elevada (50^o/o) obteve um pão de qualidade regular.

CONCLUSÃO

Do presente trabalho, foram sugeridas as seguintes conclusões:

— A melhor mistura proteica foi de 50^o/o proteína de gergelim com 50^o/o proteína de feijão guandú, cuja taxa de eficiência proteica (PER) foi 2,28.

— O pão que mais se aproximou do controle pela análise sensorial foi o elaborado com 30^o/o de farinha de gergelim e 70^o/o de farinha de trigo.

TABELA 4

MEDIA DOS VALORES ATRIBUIDOS PARA AS CARACTERÍSTICAS EXTERNAS, INTERNAS
E ORGANOLÉPTICAS

	100 ^o /o gergelim	100 ^o /o trigo	50 ^o /o gerg. 50 ^o /o trigo	30 ^o /o gerg. 70 ^o /o trigo	30 ^o /o gerg. 30 ^o /o soja 40 ^o /o trigo	30 ^o /o gerg. 30 ^o /o guandú 40 ^o /o trigo
<i>Características externas:</i>						
Volume	2	10	6	8	7	2
Cor da crosta	2	8	5	6	6	1
Simetria ou forma	1	4	3	3	3	1
Uniformidade de assamento	3	4	4	4	4	3
Caráter da crosta	0	4	3	3	3	3
<i>Características internas:</i>						
Cor do miolo	6	10	8	9	9	0
Textura do miolo	4	15	13	14	13	3
Granulação do miolo	2	10	9	9	9	2
<i>Características organolépticas:</i>						
Sabor	4	20	9	14	10	6
Aroma	4	15	10	12	9	3
TOTAL	28	100	70	82	73	21

SUMMARY

STUDY OF THE SESAME SEED (*Sesamum indicum*, L.). II. USE OF THE MEAL IN PROTEIN MIXTURES

The results obtained in the first part of this study demonstrated that the sesame flour protein is of reasonable quality and can be utilized, although it has a low lysine content and is rich in sulfur amino acids. Based on the initial data, the sesame flour was supplemented with other meals: "carioca" beans, pigeon pea, and soybean. Nine diets were prepared and the best combination was that of 50% sesame flour protein and 50% pigeon pea, the PER of which was 2.28. Breads were made with these systems, as follows: 100% sesame flour, 100% wheat flour, 50% sesame flour + 50% wheat flour; 30% sesame flour + 70% wheat flour; 30% sesame flour + 30% soybean flour + 40% wheat flour. These were evaluated through sensory analysis by a grading system.

Good acceptance was obtained with the bread prepared with 30% sesame flour + 70% wheat flour. Its external and internal appearance, as well as its organoleptic characteristics were close to the bread, with 100% wheat flour. Sesame flour at the 50% proportion gave a bread of medium quality. The protein mixtures of sesame flour and soybean flour were well accepted. Some of the panel members reported that it had a taste somewhat like integral bread.

BIBLIOGRAFIA

1. Jornal de Cozinha — *Revista Claudia*, Ano XXIV, No. 282, Março, 1985.
2. Brito, O.J. & N. Nunez. Evaluation of sesame flour as a complementary protein source for combinations with soy and corn flours. *J. Food Sci.*, **47**(2): 457-460, 1982.
3. Greeta Chopra *et al.* Effects of supplementation of sesame seeds on the protein quality of Dosa. *J. Research of the Punjab Agricultural University*, **19**(3): 256-261, 1982.
4. Anonymous. The non-meat burger. *Food, Flavours, Ingredients, Packaging and Processing*: **5**(7): 33, 1983.
5. El-Shahaly, A.A. *et al.* Microbiological studies from salty and sweet pasty food concentrates. *Veterinary Arch.*, **35**(4): 189-195, 1983.
6. Guerra, Marisa J., W.G. Jaffé & E. Sangronis. Obtenção de frações protéicas a partir de tortas comerciais de gergelim (*Sesamum indicum*). *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **34**(3): 477-487, 1984.
7. Ternovskii, I. G. *et al.* Methods of separating sesame seed from their coat. URSS. Patent SV 935 123, 1982.
8. Mohanam, Y.G., A. M. Moustafá & H.O.A. Osman. — Studies on wet dehulling of Egyptian sesame seeds by lye solutions. *Leben mittel Wissenschaft und Technol.*, **14**(3): 137-140, 1981.
9. Akpapunam, M.A. Cowpea flour: Preparation and some physicochemical and nutritional properties. *Dissertation Abstracts Int'l.*, **B. 41**(9): 3373-3374, 1981. (Order No. 8106465, 102 p.).
10. Akpapunam, M.A. & P. Markakis. Protein supplementation of cowpeas with sesame watermelon seeds. *J. Food Sci.*, **46**(3): 960-961, 1981.
11. Brito, O.J. Usage of sesame as a source of proteins for human consumption. *Dissertation Abstracts Int'l.*, **B. 41** (10): 3726, 1985. (Order No. 8102, p. 105-188).

12. Campoy, M. P., J. W. Stull & R. R. Taylor. Nutritional characteristics of foods prepared from legume (sesame seed meal blends). **Nutr. Repts. Internat.**, **29**(3): 611-619, 1984.
13. Nielsen, B., P. Hevia & O. Brito. Study on the complementation of two proteins of low quality black bean (*Phaseolus vulgaris*) and sesame (*Sesamum indicum*, L.). **J. Food Sci.**, **48**(6): 1804-1806, 1983.
14. Silva, S. G. & H. River. Productos alimenticios derivados de ajonjolí. **Rev. del Inst. de Investig. Tecnol.**, **21**(120): 34-35, 1979.
15. Hoojjat, P. Protein quality and functionality of navy bean and sesame flour in baked products. **Dissertation Abstracts Int'l**, **B. 43**(5): 1418, 1982. (Order DA 822440, 187 p.
16. Hoojjat, P. & M. E. Zabik. Sugar-snap cookies prepared with wheat-navy bean - sesame seed flour blends. **Cereal Chem.**, **61**(1): 41-44, 1984.
17. Mazzari, M. R. *et al.* Fubá de milho branco cru e pré-gelatinizado por extrusão em mistura com farinha de trigo para a produção de pães. II. Qualidade e avaliação tecnológica dos pães obtidos. **Boletim de Pesquisa do Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar**, Rio Janciro (6), 1983.
18. Salgado, J. M. & C. M. M. Gonçalves. Estudo da semente de gergelim. I. Métodos para obtenção da farinha branca comestível. **Arch. Latinoamer-Nutr.**, **38**(2): 306-311, 1988.
19. Bender, A. E. & D. S. Miller. New brief methods of estimating net protein values. **Biochem. J.**, **53**(1): vii, 1953.
20. Guggols, J. Composition of several types of sunflower seeds. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **54**: 689-693, 1968.

INFLUENCIA DE AFLATOXINA B₁ SOBRE O CRESCIMENTO DE RATOS SUBMETIDOS A DIFERENTES CONDIÇÕES NUTRICIONAIS

*María Auxiliadora Gonçalves Lapa¹, Sérgio Miguel Zucas²,
Francisca Martins Bion¹, Sylvia Ramos de Albuquerque Barros³,
Eunice Salzano Lago¹ e Ramanita Mayer Varela¹*

Universidade Federal de Pernambuco
Recife, Pernambuco, Brasil

RESUMO

O efeito da adição da aflatoxina B₁ foi estudado em 48 ratos *Sprague Dawley* machos, desmamados aos 21 dias de idade. Os animais constantes do grupo experimental receberam dietas: aptotéica, Básica Regional do Nordeste Brasileiro (DBR, com 9.07% de proteínas) e à base de caseína comercial a 10 e 20%, acrescidas de 5 mg da aflatoxina B₁/kg de ração. Os animais do grupo controle receberam dietas idênticas às do grupo experimental, todavia, sem adição da referida toxina. O peso corporal, a ingestão alimentar, protéica e da AFB₁ foram registradas visando detectar possíveis alterações orgânicas.

As alterações observadas, segundo o teor protéico e a qualidade das dietas utilizadas, foram agravadas pela ingestão da aflatoxina B₁, evidenciando-se alterações significativas nos parâmetros estudados, sobretudo nos animais submetidos à depleção protéica e naqueles alimentados com dieta DBR e caseína comercial a 10%, em relação aos respectivos controles.

Os grupos experimentais apresentaram alterações significativas nos parâmetros estudados, sobretudo os animais submetidos à depleção protéica, e os mantidos com a dieta DBR e 10% de caseína comercial, em relação aos respectivos controles.

Manuscrito modificado recebido: 14-6-88.

- 1 Prof. Adjunto do Depto. de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, Recife - CEP. 50. 000, Pernambuco, Brasil.
- 2 Prof. Titular do Depto de Educação Física da Universidade do São Paulo, Brasil.
- 3 Prof. Adjunto do Depto. de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco.

INTRODUÇÃO

Estudos realizados por diversos pesquisadores indicam que as aflatoxinas, sobretudo a B₁, produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus* vêm sendo detectadas em uma grande variedade de alimentos consumidos pelo homem, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (1-15), em decorrência das condições climáticas favoráveis a proliferação do referido fungo, bem como do armazenamento e manuseio técnico inadequados.

Por outro lado, as alterações metabólicas produzidas pela ingestão de alimentos contaminados pela aflatoxina B₁, vêm sendo constatadas em diversas regiões em via de desenvolvimento.

O presente trabalho serviu como ponto de partida para tentar-se definir, em ratos, as interrelações: teor protéico da dieta, ingestão de uma dose sub-letal da aflatoxina B₁ e possíveis repercussões sobre o organismo.

Para viabilizar esta proposição foram utilizadas dietas aprotéica, à base de caseína e a dieta básica do Nordeste brasileiro, considerado uma das áreas problemáticas mundiais, inclusive do ponto de vista nutricional, situação esta agravada pelo clima quente e úmido, favorável à proliferação desta micotoxina.

MATERIAL E METODOS

Foram utilizados 48 ratos machos *Sprague Dawley*, pesando de 42 a 50 g, procedentes do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

Tanto os animais do grupo controle, quanto os do grupo experimental foram desmamados aos 21 dias de idade e distribuídos em 8 grupos de 6 animais, a fim de serem observados durante o período de 21 dias de experimento.

Os animais do grupo controle passaram a receber as seguintes dietas: aprotéica, dieta básica regional (DBR - 9.07% de proteína), à base de 10 e 20% de caseína comercial (Tabela 1). Os grupos experimentais receberam dietas idênticas às do grupo controle, porém acrescidas de 5 mg da aflatoxina B₁/kg da ração.

A dieta básica regional (DBR) foi preparada segundo Coutinho (2), a partir de inquéritos alimentares realizados nas áreas Norte e Sul da Zona da Mata do Estado de Pernambuco, sendo constituída de uma associação alimentar à base de feijão mulatinho, farinha de mandioca, charque e milho (fubá), numa tentativa de reproduzir, experimentalmente, condições alimentares da população dessa Região.

As rações foram balanceadas com sais minerais e vitaminas hidro e lipossolúveis segundo Tagle e Donoso (16), enquanto a teor de fibra correspondem às recomendações do National Research Council.

Ao término do período experimental foi tomado o peso corporal dos animais e feito o registro da ingestão alimentar, protéica e da aflatoxina B₁.

A diferença dos valores encontrados foi determinada pelo teste "t" de Student, considerando-se como limite mínimo uma probabilidade inferior a 5%.

TABELA 1

INGREDIENTES UTILIZADOS NAS DIETAS EXPERIMENTAIS

Constituintes	Dieta aprotéica	Básica regional	Caseína (10 ^o /o)	Caseína (20 ^o /o)
Caseína	—	—	13.00	24.50
Feijão mulatinho	—	18.69	—	—
Farinha de mandioca	—	53.54	—	—
Charque	—	8.08	—	—
Milho (fubá)	—	11.11	—	—
Oleo de soja	8.00	6.56	9.00	9.00
Fibra	2.00	—	2.00	2.00
Vitaminas hidrossolúveis	1.00	—	1.00	1.00
Vitaminas lipossolúveis	1.00	—	1.00	1.00
Sais minerais	4.00	2.02	4.00	4.00
Glicose	14.00	—	—	—
Amido de milho	69.00	—	70.00	58.50
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando a importância do estado nutricional sobre a resposta às substâncias tóxicas ingeridas, procurou-se averiguar a repercussão de uma dose sub-letal da AFB₁, em ratos submetidos a diferentes condições nutricionais.

Analisando os resultados da Tabela 2, constata-se que a referida toxina afetou significativamente o ganho em peso corporal, a ingestão alimentar e consequentemente, a ingestão protéica dos grupos experimentais.

E interessante o confronto entre a ingestão da AFB₁ e a ração consumida. O grupo submetido à depleção protéica, embora ingerisse menor quantidade da AFB₁ foi o mais atingido em todos os parâmetros estudados. Quanto aos animais mantidos com as dietas DBR e caseína a 10^o/o, ingeriram praticamente o mesmo teor de aflatoxina B₁, apresentando uma redução no consumo alimentar de 34^o/o e uma redução protéica em torno de 30 e 37^o/o respectivamente, em relação aos respectivos grupos controles. O grupo mantido com 20^o/o de caseína, embora tivesse ingerido maior teor da AFB₁ apresentou menor redução do consumo alimentar e protéico, 15 e 12^o/o respectivamente (Tabela 2).

Quanto ao peso corporal observa-se que os grupos experimentais sofreram reduções significativas, em relação aos respectivos controles e, mais uma vez, os animais mantidos com as dietas DBR e caseína a 10^o/o, apresentaram reduções aproximadas, 43 e 47^o/o respectivamente, sendo o menos atingido o grupo mantido com 20^o/o de caseína, cuja redução foi de 20^o/o (Tabela 2).

TABELA 2

TEOR DE AFLATOXINA B₁ INGERIDA E SEU EFEITO SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR, PROTEICO E GANHO DE PESO EM ANIMAIS SUBMETIDOS A DIFERENTES CONDIÇÕES NUTRICIONAIS

Ingestão	Consumo			Ganho em peso (g)
	Alimentar (g)	Protéico (g)	AFB ₁ (mg)	
Período experimental				
Grupos	21 d	21 d	21 d	21 d
Aprotéica	93.02 ±5.49	— —	— —	-15.15 ±1.63
Aprotéica + AFB ₁	50.66* ±5.36	— —	0.26 ± 0.03	-14.08 ±2.76
DBR	173.64 ±5.20	15.87 ± 0.46	— —	46.53 ±3.34
DBR + AFB ₁	115.37* ±5.18	10.99* ± 0.89	0.58 ± 0.02	26.62* ±3.67
Caseína 100/o	178.65 ±6.16	17.87 ± 0.63	— ± —	50.92 ±3.03
Caseína 100/o + AFB ₁	111.88* ±8.94	11.21* ± 0.85	0.56 ± 0.06	27.05* ±0.92
Caseína 200/o	190.96 ±7.06	38.19 ± 1.41	— —	124.92 ±6.80
Caseína 200/o + AFB ₁	161.98* ±19.80	32.68* ± 3.61	0.79 ± 0.09	97.80* ±12.70

* $p < 0.05$ diferença significativa em relação ao grupo sem aflatoxina B₁.

De um modo geral, é conhecida a influência do equilíbrio da ração sobre o efeito das substâncias tóxicas e as aflatoxinas não fogem a esta regra. Este fato tem sido constatado em vários animais (17-23).

Alguns autores evidenciaram em animais recebendo, por via oral, diferentes teores de AFB₁, anorexia, alteração do balanço nitrogenado, do coeficiente respiratório e do consumo do alimento, bem como perda considerável do peso corporal e lesões hepáticas características da aflatoxicose (23-28), coincidindo estas informações com os achados do presente trabalho.

Estes efeitos não foram atribuídos, por Fehr, Delage e Richir (26) ao sabor ocasionado pela toxina, porquanto no início do experimento a

quantidade da ração ingerida foi satisfatória. Estas observações estão em discordância com o presente trabalho, no qual se constatou em relação aos grupos controles, diminuição significativa na ingestão alimentar nos grupos experimentais, já no início do experimento, sendo, entretanto, menos afetados os animais mantidos com 20^o/o de caseína. Estas evidências estão coerentes com as observações de Ferrando e Henry (29) quando afirmam que teores mais elevados de proteína na dieta constituem um dos fatores que protegem o animal da aflatoxicose, supondo-se assim a instalação deste quadro.

Os resultados sugerem que, independente da adição da AFB₁ às dietas, o teor de 20^o/o de caseína proporcionou resultados superiores aos obtidos com as dietas DBR e à base de caseína a 10^o/o. As alterações observadas, segundo o teor protéico e a qualidade das dietas utilizadas, foram agravadas pela ingestão da AFB₁, a qual ocasionou redução do consumo alimentar e, conseqüentemente, do teor protéico, bem como do peso corporal, sobretudo nos grupos que receberam as dietas aprotéica, DBR e com caseína a 10^o/o.

Os achados deste e de inúmeros outros trabalhos experimentais, especialmente os estudos sob o enfoque epidemiológico, alertando para os problemas decorrentes do crescente aumento do consumo de alimentos contaminados pela AFB₁ e similares, impoem a necessidade óbvia de outras abordagens sobre o tema, como contribuição a um maior conhecimento o enriquecimento da literatura. Esta necessidade torna-se ainda mais compreensível se considerarmos as implicações decorrentes de outros fatores, sobretudo nas regiões de características semelhantes ao Nordeste brasileiro, tais como:

- Vastos contingentes populacionais acometidos de desnutrição protéico-calórica;
- Técnicas de armazenamento e manuseio de alimentos incipientes, semi-artesanais;
- Clima quente e úmido favorável à proliferação das micotoxinas.

SUMMARY

INFLUENCE OF AFLATOXIN B₁ ON GROWTH OF RATS SUBJECTED TO DIFFERENT NUTRITIONAL CONDITIONS

The effect of the addition of aflatoxin B₁ was studied in 48 male, Sprague-Dawley rats weaned at 21 days of age. The animals of the experimental group received one of the following diets to which aflatoxin B₁ was added (5 mg/kg ration), a protein-free diet, the regional basic diet of Northeast Brazil (RBD) containing 9.07^o/o protein, and commercial casein diets (at 10 and 20^o/o). The control groups were fed the same diets without aflatoxin B₁. To detect possible body alterations, the body weight and food intake, as well as protein and aflatoxin B₁ intakes were recorded. Significant alterations were detected in the experimental groups, especially in the protein-depleted animals, and in those fed the RBD and 10^o/o commercial casein diets, when compared to their controls.

BIBLIOGRAFIA

1. Bosenberg, H. Zür bedeutungder aflatoxine. *Naturwissenschaften*, **56**(7): 350-352, 1969.
2. Coutinho, E. de M. **Relações Hospedeiro-Parasito na Esquistossomose Mansonica, em Função da Dieta Básica Regional (Estudo Epidemiológico e Anátomo-Patológico)**. Tese de Livre-Docencia. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição. Recife, 1976, 109 p.
3. Davidson, C. S. Nutrition, geography, and liver diseases. *Am. J. Clin. Nutr.*, **23**(4): 427-436, 1970.
4. Davidson, C. S. Intracellular aflatoxin B₁-Binding proteins in the rat liver. *Biochem. Internat.*, **14**(2): 297-302, 1987.
5. Edds, G. T. Acute aflatoxicosis: A Review. *J. Amer. Veter. Med. Assn.*, **162**(4): 304-309, 1973.
6. Emani, A., M. Suzangar & R. C. Barnett. La contamination des graines du cotonnier et des tourteaux de ces grains par l'aflatoxine. *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation*, **31**: 531-537, 1977.
7. Lafont, P. Mycotoxines et alimentation. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, **5**(2): 67-69, 1970.
8. Lafont, P. & J. Lafont. Contamination de produits céréallers et d'aliments du bétail par l'aflatoxine. *Food Cosmet. Toxicol.*, **8**: 403-408, 1970.
9. Madhavan, T. V. & C. Gopalan. The effect of dietary protein on carcinogenesis of aflatoxin. *Arch. Pathol.*, **85**(2): 133-137, 1968.
10. Moulé, Y. Mécanisme d'action des mycotoxines. *Ann. Nutr. et Alimentation*, **31**: 803-810, 1977.
11. Sabino, M. Variações de níveis de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **40**(2): 153-158, 1980.
12. Sabino, M., E. I. Inomata & L. C. A. Lamardo. Variações dos níveis de aflatoxina B₁ em pasta de amendoim e paçoca consumidas no Estado de São Paulo. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **42**(1-2): 39-44, 1982.
13. Sandoval, T.A.H., A.L.J. Carrer, A.J. Floreschapa & P.E. Jardel. Aislamiento de cepas de *Aspergillus sp.* productoras de aflatoxinas en alimentos de consumo humano en México. *Rev. Investig. Salud Publ.*, **36**: 161-166, 1976.
14. Schlatter, CH. Zur karzinogenitaet der aflatoxine. En: **Gesundheitsgefahrdung Durch Aflatoxine**. Zurich, 1978. Universitat Zurich, Institut fur Toxikologie der ETH, 1979. p. 51-64.
15. Sgarbieri, V. C. Aflatoxinas: Importancia em tecnologia de alimentos e em nutrição. *Bol. do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnol. de Alim.*, **18**: 24-82, 1969.
16. Tagle, M. A. & G. Donoso. Net protein utilization determinated in short and long-term experiments with rats. *J. Nutr.*, **82**(2): 173-178, 1965.
17. Albert, M. E. & C. S. Davidson. Mycotoxins: A possible cause of primary carcinoma of the liver. *Am. J. Clin. Nutr.*, **46**(3): 325-329, 1969.
18. Butler, W. H. Acute toxicity of aflatoxin B₁ in rats. *Brit. J. Cancer*, **18**(4): 756-762, 1964.
19. Butler, W. H. & J. M. Barnes. Carcinogenic action of groundnut meal containing aflatoxin in rats. *Food Cosmet. Toxicol.*, **6**: 135-141, 1968.
20. Clifford, J. I. & K. R. Rees. The action of aflatoxin B₁ on the rat liver. *Biochem. J.*, **102**(1): 65-75, 1965.
21. Hill, Charles H. Effects of aflatoxin in the liver. *Nutr. Revs.*, **27**(4): 121-123, 1969.

22. Madhavan, T. V. & C. Gopalan. Effect of dietary protein on aflatoxin liver injury in weanling rats. **Arch. Pathol.**, **80**: 123-126, 1965.
23. Rogers, A.E. & P.M. Newberne. Aflatoxin B₁ carcinogenesis in lipoprotein deficient rats. **Cancer Research**, **29**(11): 1965-1972, 1969.
24. DeLuca, H. F. Diet and aflatoxin toxicity. **Nutr. Revs.**, **29**(8): 181-182, 1971.
25. Dirr, H. W. & J. C. Schabort. Aflatoxin B₁ transport in rat blood plasma. Binding to albumin *in vivo* and *in vitro* and spectrofluorimetric studies into the nature of the interaction. **Biochem. Biophys Acta**, **881**: 383-390, 1986.
26. Fehr, P. M., J. Delage & C. Richir. Répercussions de l'ingestion d'aflatoxine sur le lapin en croissance. **Cahiers de Nutrition et de Diététique**, **5**(2): 62-64, 1970.
27. Frape, D. L. The effect of dietary fibre sources on aflatoxicosis in the weanling male rat. **Brit. J. Nutr.**, **46**(2): 315-326, 1981.
28. Frayssinet, C. & C. Lafarge. Action de l'aflatoxine sur la cellule hépatique du rat. **Cahiers de Nutrition et de Diététique**, **5**(2): 67-69, 1970.
29. Ferrando, R. & N. Henry. Déséquilibre de la ration et aflatoxicose. **Annales de la Nutrition et de l'Alimentation**, **31**: 701-710, 1977.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA COMPOSICION QUIMICA, CONTENIDO AMINOACIDICO Y VALOR NUTRITIVO DE LA MERLUZA FRESCA, Y CONGELADA, Y SALADA, SECADA Y REHIDRATADA

*Ruth M. González Badano*¹

Instituto Nacional de Pesca (INAPE)
Montevideo, Uruguay

RESUMEN

El propósito principal de este trabajo fue el de estudiar la influencia de los procesos de congelado rápido, por un lado, y salado y secado por el otro, sobre el valor nutritivo de la merluza.

Se exponen datos de composición química de filetes de merluza fresca, de filetes de merluza de congelación rápida, y de filetes de merluza salados, secados y rehidratados. Asimismo, también se dan a conocer datos de la determinación de distintos minerales, de la identificación de los distintos ácidos grasos en el extracto lipídico, y de la composición aminoacídica de las proteínas. Se hallaron los índices EUD (Enzymatic Ultrafiltrate Digest) en los tres tipos de muestras, determinando así el valor nutritivo de cada una de ellas.

INTRODUCCION

La merluza (*Merluccius spp*) se consume en distintos países tanto como producto fresco como producto congelado rápido, o bien como merluza salada, secada y rehidratada. El trabajo que nos ocupa tuvo como cometido hacer un estudio comparativo de diferentes variables en muestras de merluza de los tres tipos mencionados.

Las muestras de merluza fresca fueron obtenidas en el mercado de la ciudad de Perugia, Italia, bajo forma de filetes sin piel. En cuanto al producto congelado, también filetes sin piel sometidos a congelación rápida o congelación profunda, básicamente el proceso consiste en someter la materia prima de calidad óptima a un proceso de congelamiento efectuado

Manuscrito modificado recibido: 2-6-88.

1 Miembro del Instituto Nacional de Pesca (INAPE), Constituyentes 1497, Casilla de Correo 1612, Montevideo, Uruguay.

de forma que el ámbito de temperatura de cristalización máxima sea sobrepasado rápidamente. Con un proceso de congelado rápido la temperatura del producto debe ser de -18°C en el centro termal (para especies magras). Las muestras de este producto que se utilizaron para su análisis fueron adquiridas en un comercio local, y provenían de una de las grandes industrias pesqueras italianas. Se presentan envasadas en cajas de cartón, al igual que las muestras de merluza salada, secada y rehidratada. Estas últimas se venden con el nombre de "Baccala ammollato" en Italia (bacalao humedecido) y su proceso consiste en uno de los métodos más antiguos de conservación de alimentos: el salado, y luego secado. Se ofrecen al mercado ya rehidratados (1-3).

MATERIAL Y METODOS

Preparación de la Muestra

Se analizaron simultáneamente muestras de merluza fresca, congelada rápida y merluza salada, secada y rehidratada. En cada caso se hizo una muestra media que fue homogeneizada. En el caso del producto congelado, se tomó la precaución de homogeneizar antes de la descongelación, evitando así pérdidas por esta causa. Sobre el homogeneizado se hizo la determinación de humedad. Las muestras homogeneizadas fueron liofilizadas, y sobre el liofilizado de cada una de las tres muestras se realizaron los siguientes análisis: cenizas totales, determinación de minerales (magnesio, calcio, fósforo, hierro, zinc, cobre, sodio y potasio), lípidos, identificación de ácidos grasos, proteínas, contenido aminoacídico y determinación de la calidad nutritiva de la proteína.

Análisis Químicos

Composición química — Determinación de humedad, cenizas, proteínas y lípidos (4, 5).

La determinación de humedad se realizó sobre las muestras homogeneizadas. Para determinar el contenido de cenizas, proteínas y lípidos, se utilizaron las muestras homogeneizadas y liofilizadas, usando la técnica de Kjeldahl para la determinación de proteínas. En la determinación de lípidos totales se aplicó el método descrito por F. Fidanza y A. Fidanza (6), usando como solvente extractor la mezcla etanol-éter etílico-éter de petróleo.

En cuanto a la determinación de nitrógeno no proteínico, se utilizó el método de Montanini, Imbimbo y D'Aversa (7), estableciendo el contenido de nitrógeno por el método de Kjeldahl en el filtrado de la muestra tratada con una solución de ácido tricloroacético.

Determinación de minerales — El contenido en calcio, magnesio, zinc, cobre, hierro, sodio y potasio, fue determinado por espectrofotometría de absorción atómica (8, 9) utilizando como instrumento un Perkin-Elmer 303 (determinación a la llama).

El fósforo fue determinado colorimétricamente con el procedimiento

del molibdato de amonio (10). El instrumento utilizado en este caso fue un espectrofotómetro Carlo-Erba, Optica - CF4.

Dichas determinaciones se llevaron a cabo en el residuo obtenido en la determinación de cenizas, recogiénolo con ácido clorhídrico concentrado y llevándolo a volumen con agua destilada. Se hicieron distintas diluciones según la muestra y el metal a determinar, para obtener una lectura adecuada en el instrumento.

En la determinación de calcio y magnesio, las soluciones fueron tratadas con una solución de lantano para evitar la interferencia entre sí.

En cada caso se hizo una curva de calibración con el metal estándar correspondiente.

Identificación de ácidos grasos (11-13) – Para la identificación de ácidos grasos, se partió del extracto obtenido en la determinación de lípidos (mantenidos en atmósfera de nitrógeno).

Los ácidos grasos fueron metilados con reactivo metanol-acido clorhídrico y mantenidos en atmósfera de nitrógeno hasta el momento del análisis.

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron identificados por cromatografía gaseosa. La instrumentación utilizada y las condiciones en que se realizaron los cromatogramas fueron las siguientes:

- Gas cromatógrafo: Varian – Modelo 3700
- Detector: Detector de Ionización de Llama (FID)
- Temperatura: Temperatura programada $T_i = 150^{\circ}\text{C}$
 $T_f = 250^{\circ}\text{C}$.
Aumentando $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y luego manteniendo la temperatura a 250°C hasta finalizar el cromatograma
- Integrador: Varian CDS II
- Columna: Columna de acero inoxidable
Largo = 2 m
Diámetro = 2 mm
Relleno: GP 150/o OV 275, 100-120 Chrom. P.AW-DMCS (Supelco Inc.)
- Gas de transporte: N_2
Flujo $\text{N}_2 = 25 \text{ ml}/\text{min}$
Flujo $\text{H}_2 = 25 \text{ ml}/\text{min}$
Flujo aire = $300 \text{ ml}/\text{min}$

Análisis de Aminoácidos

La composición aminoacídica total fue determinada por cromatografía líquida (14) en un analizador de aminoácidos-Locarte, London.

En la determinación de ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, valina, isoleucina, tirosina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina, se usó hidrólisis ácida ($\text{HCl } 6N$, 120°C , 24 hr). En cambio para la determinación del triptofano, el hidrolizado se hizo en medio alcalino ($\text{Ba } (\text{OH})_2 6N$, 120°C , 20 hr).

En el caso de los aminoácidos sulfurados, cistina y metionina, las muestras fueron oxidadas con ácido perbórmico y luego se hizo hidrólisis

ácida, determinándolos como ácidos cisteico y metioninsulfónico, respectivamente.

Determinación del Valor Nutritivo de la Proteína (EUD)

Para evaluar la calidad proteínica existen métodos químicos, biológicos y enzimáticos. Los métodos enzimáticos estudian la biodisponibilidad de los aminoácidos utilizando un sistema de digestión enzimática, y difieren entre sí principalmente por el tipo y cantidad de enzimas usadas, y por el tiempo y condiciones de la digestión.

El valor nutritivo de la proteína se determinó según el método multi-enzimático *in vitro*, estableciendo el índice aminoacídico del digerido enzimático ultrafiltrado (Índice EUD "Enzymatic Ultrafiltrate Digest") (15).

Luego, las muestras liofilizadas fueron sometidas a digestión enzimática en condiciones fisiológicas, tratándolas primeramente con pepsina (pH = 1.8, temp. = 37°C, durante 6 hr). Luego de ajustar el pH a 7.8, se transfirió una alícuota a una celda Amicon UM-12, con membrana UM-2 y se trató con una solución de tripsina, pancreatina y erepsina, manteniendo una ultrafiltración continua durante otras 6 hr a 37°C (vel. = 7 ml/hr; P = 60-90 psig).

La composición aminoacídica de dicho digerido fue determinada por la técnica cromatográfica, igual que como se procedió para determinar el contenido de aminoácidos totales. En la determinación de la composición en aminoácidos sometidos a digestión enzimática (a diferencia de la determinación aminoacídica total), se hizo un único tratamiento para todos los aminoácidos, incluido el triptofano.

Para el cálculo del Índice EUD se siguió el procedimiento propuesto por Sheffner. Este consiste en calcular el porcentaje digerido de cada aminoácido a partir de los datos de composición aminoacídica total y digerida. Como proteína de referencia se utilizó la proteína total del huevo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en la determinación de humedad, cenizas, proteínas y lípidos figuran en la Tabla 1, expresadas en porcentaje en base húmeda y base seca. Los valores de nitrógeno total y nitrógeno no proteínico se presentan expresados en gN/100 g de muestra húmeda.

En las muestras de merluza fresca y merluza congelada se obtuvieron resultados concordantes con los vistos en las referencias bibliográficas (2, 16, 17). La relación potasio/sodio es de 2.2 para la merluza fresca.

Se observa un aumento en la concentración de sodio en la muestra de merluza salada, secada y rehidratada, el que se debe al proceso que sufrió. Es posible que el contenido de cobre, superior en la muestra de merluza salada, secada y rehidratada, se haya debido a su presencia como impureza en la sal utilizada para el proceso (1, 2).

Los lípidos se encuentran presentes en cantidades muy variables no sólo de especie a especie sino de seres también dentro de la misma especie,

dependiendo de la estación del año, sexo, edad y período fisiológico del animal.

La fracción lipídica de los peces se halla compuesta principalmente por triglicéridos, predominando los ácidos grasos de 16, 18, 20 y 22

TABLA 1

HUMEDAD, CENIZAS, PROTEINAS Y LIPIDOS EXPRESADOS EN %; N-TOTAL Y N-NO PROTEINICO, EXPRESADOS EN g N %

	Merluza fresca Base		Merluza congelada Base		Bacalao humedecido Base	
	Húmeda	Seca	Húmeda	Seca	Húmeda	Seca
Humedad	80.74	—	81.67	—	78.08	—
Cenizas	1.23	6.79	0.96	5.24	1.80	8.01
Lípidos	1.08	5.96	0.79	4.32	0.54	2.40
N-Total	2.87	15.84	2.91	15.89	3.30	14.67
N-no proteínico	0.34	1.88	0.26	1.42	0.08	0.36
Proteína	15.81	87.25	16.56	90.34	20.13	89.59
TOTAL	98.86		99.98		100.55	

En la Tabla 2 se exponen los resultados obtenidos en la determinación de magnesio, calcio, fósforo, hierro, zinc, cobre, sodio y potasio expresados en ppm referidos a la muestra, tanto en base seca como en base húmeda.

TABLA 2

CONTENIDO EN MAGNESIO, CALCIO, FOSFORO, HIERRO, ZINC, COBRE, SODIO Y POTASIO EXPRESADOS EN ppm

	Merluza fresca Base		Merluza congelada Base		Bacalao humedecido Base	
	Húmeda	Seca	Húmeda	Seca	Húmeda	Seca
Magnesio	298.81	1649.06	233.23	1273.78	218.21	971.12
Calcio	117.07	646.08	129.00	704.53	—	—
Fósforo	4139.08	22848.60	3396.61	18550.57	—	—
Hierro	4.33	23.87	3.44	18.78	4.07	18.14
Zinc	4.91	27.10	5.72	31.24	9.29	41.34
Cobre	0.82	4.52	0.56	3.06	1.35	6.03
Sodio	1496.35	8258.00	1468.27	8018.95	5942.11	26444.64
Potasio	3232.30	17838.30	2416.10	13195.52	2079.32	9253.77

átomos de carbono que contienen aproximadamente 35% de ácidos grasos con una longitud de cadena mayor de 18 átomos de carbono a diferencia de las grasas de animales terrestres y las de origen vegetal. Tienen también un elevado contenido de ácidos grasos insaturados siendo ésta otra diferencia importante con las grasas de origen vegetal y animal (terrestres) (1, 2).

En la Tabla 3 figuran los tiempos de retención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos que se presentan en mayor proporción, así como las áreas de dichos picos (expresadas en porcentaje sobre el área total del cromatograma). Los cromatogramas propiamente dichos, se exponen en las Figuras 1-4.

TABLA 3

TIEMPOS DE RETENCION (t_r) Y AREAS DE LOS CROMATOGRAMAS DE LOS ESTERES METILICOS DE LAS MUESTRAS DE MERLUZA FRESCA, MERLUZA CONGELADA, Y MERLUZA SALADA, SECADA Y REHIDRATADA

No. pico	A.G.	Merluza fresca (Figura 1)		Merluza congelada (Figura 2)		Merluza salada, secada y rehidratada (Figura 3)	
		t_r	Area	t_r	Area	t_r	Area
1	C14	10.99	2.09	11.08	0.80	11.16	0.99
2	C14:1	12.76	0.76	12.87	0.26	12.96	0.18
3	C16	14.24	22.48	14.28	22.25	14.40	20.14
4	C16:1	15.94	3.04	16.01	1.82	16.12	2.41
5	No ident.	16.44	2.13	16.51	0.93	16.65	0.47
6	C18	17.96	8.05	18.03	5.77	18.14	6.45
7	C18:1	19.23	14.27	19.30	12.74	19.90	13.12
8	C18:2	21.34	1.32	21.43	1.89	21.53	0.99
9	C20	21.90	0.40	23.11	0.68	—	—
10	C18:3	22.97	1.81	23.67	0.77	23.05	4.10
11	C22	25.23	0.76	25.32	0.42	—	—
12	C24	29.69	5.38	29.72	11.50	29.80	10.65
13	No ident.	33.82	28.88	33.91	32.30	33.96	31.06

La naturaleza lipídica varía principalmente con la dieta de los peces, la temperatura y salinidad del *habitat* (presentan mayor proporción de ácidos grasos de 16 y 18 átomos de carbono los peces de agua dulce que los de agua de mar), y con la especie, ya que los factores genéticos causan profundas diferencias en los tipos de grasas. Por otro lado, los lípidos de pescado presentan numerosas características comunes. Dentro de los ácidos grasos saturados prevalece el ácido palmítico (C16:0), presente en cantidades del 12-20% en peces de agua de mar (2, 18), mientras que los ácidos mirístico (C14:0) y esteárico (C18:0) se encuentran en cantidades apreciablemente menores. En el caso de las distintas muestras de

**CROMATOGRAMA EXPLICATIVO DE LOS ESTERES METILICOS
DE LOS ACIDOS GRASOS***

No. Pico	Ac. Graso	Nombre
1	C6	Ac. hexanoico (caprónico)
2	C8	Ac. octanoico (caprílico)
3	C10	Ac. decanoico (caproico)
4	C12	Ac. dodecanoico (láurico)
5	C14	Ac. tetradecanoico (mirístico)
6	C14:1	Ac. tetradecenoico (miristoleico)
7	C16	Ac. hexadecanoico (palmítico)
8	C16:1	Ac. hexadecenoico (palmitoleico)
9	C18	Ac. octadecanoico (esteárico)
10	C18:1	Ac. octadecenoico (oleico)
11	C18:2	Ac. octadecadienoico (linoleico)
12	C20	Ac. eicosanoico (araquídico)
13	C18:3	Ac. octadecatrienoico (linolénico)
14	C22	Ac. docosanoico (behénico)
15	C24	Ac. tetracosanoico (lignocérico)

* Véase Figuras 1 a 4.

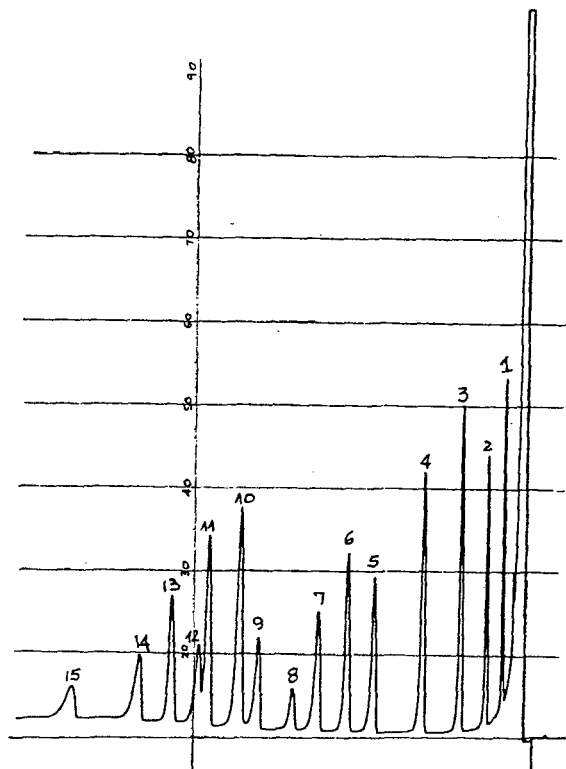


FIGURA 1

Esteres metílicos de los ácidos grasos estándar
(Para la identificación de los picos, véase Tabla 3)

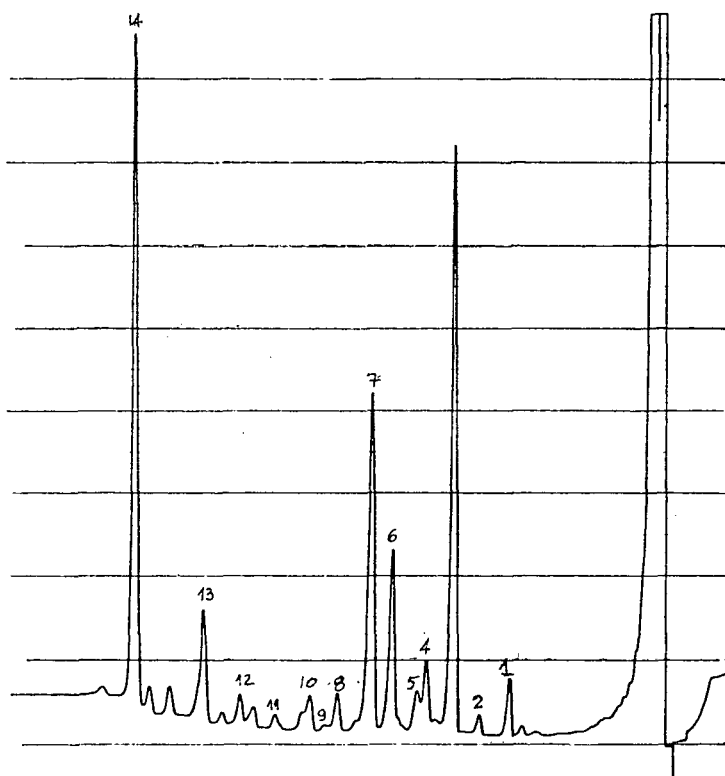


FIGURA 2

Esteres metílicos de los ácidos grasos de la merluza fresca
(Para la identificación de los picos, véase Tabla 3)

merluza analizadas, se obtuvieron concentraciones aproximadas al 23% para el C16:0, una concentración mucho menor del C18:0, y una pequeña concentración del C14:0. El contenido de ácidos grasos saturados observado es de algo más de 40% de los ácidos grasos totales.

En cuanto a los ácidos grasos insaturados dentro de los monoenoicos, los ácidos decenoico (C10:1), dodecenoico (C12:1) y eicosenoico (C20:1) se han encontrado en aceites de ballena, y en el caso del C20:1, también en aceites de hígado de diferentes elasmobranquios, pero no han sido detectados en otros aceites de pescado. Los ácidos miristoleico (C14:1) y palmitoleico (C16:1) generalmente se encuentran presentes en pequeñas cantidades, siendo el oleico (C18:1) el que encontramos en mayor cantidad, coincidiendo con los datos observados en la Tabla 3 (18).

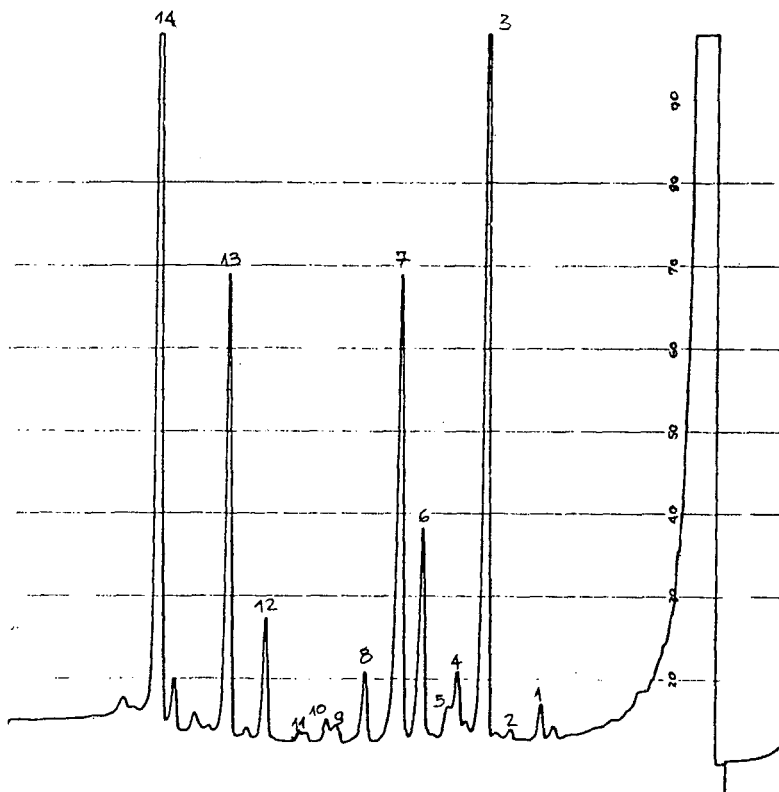


FIGURA 3

Esteres metílicos de los ácidos grasos de la merluza congelada
(Para la identificación de los picos, véase Tabla 3)

Con respecto a los ácidos grasos poliénoicos, los ácidos docosapentaenoico (C22:5) y docosahexaenoico (C22:6), se encuentran presentes como componentes principales en la mayoría de los aceites marinos (con un 83% de hexaenoico y 90% de pentaenoico en el aceite de arenque) (18). En el estudio aquí descrito, no se logró separar e identificar el ácido docosapentaenoico.

En general, los aceites de pescado contienen cantidades relativamente bajas de los ácidos grasos esenciales clásicos —linoleico (C18:2), linolénico (C18:3) y araquidónico (C20:4) (1, 18). En las muestras analizadas se detectaron pequeñas cantidades de los dos primeros, no pudiendo detectarse la presencia del ácido araquidónico.

Confrontando los datos de la Tabla 3 obtenidos en los tres tipos de

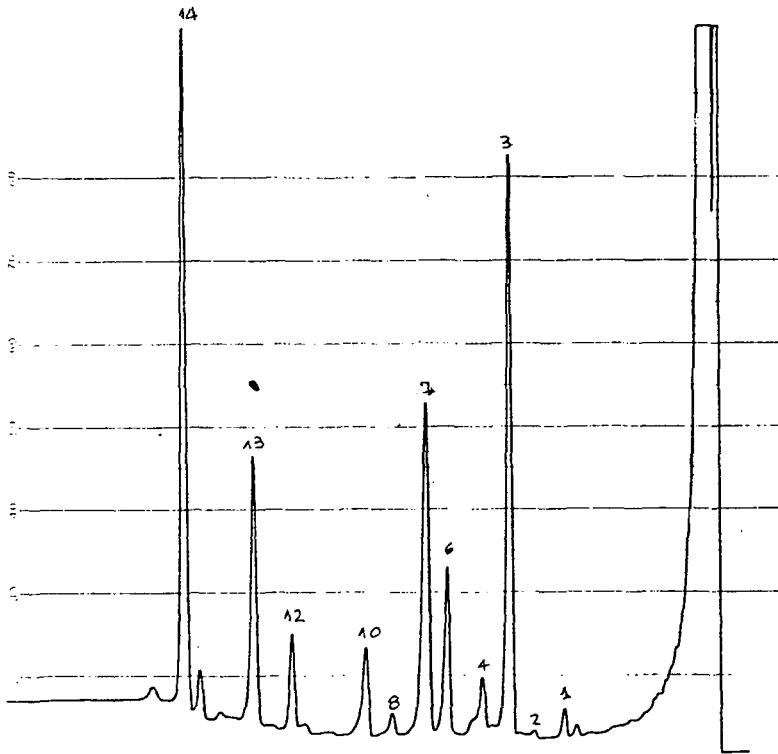


FIGURA 4

Esteres metílicos de los ácidos grasos de la merluza salada, secada y rehidratada
 (Para la identificación de los picos, véase Tabla 3)

muestras sometidas a estudio, se aprecia que las fracciones lipídicas —tanto de la merluza fresca como del congelado, y de la merluza salada, secada y rehidratada— contienen prácticamente los mismos ácidos grasos. Si bien dicho análisis se realizó en forma cualitativa, con los datos obtenidos se puede ver que en los tres casos el pico que presenta mayor área es el pico No. 13. Se realizó un cromatograma del éster metílico del ácido graso C22:6, y se encontró que su tiempo de retención coincidía con el tiempo de retención del pico No. 13. No se descarta la posibilidad que en dicho pico estén incluidos otros metilatos de ácidos grasos que —en las mismas condiciones en que fueron realizados los cromatogramas— presenten el mismo tipo de retención. La relación que existe entre los ácidos grasos C22:6 (pico No. 13), C16:0, C18:1 y C18:0, que son los

que presentan mayor área en ese orden, es similar en cada una de las tres muestras analizadas. En cambio, el ácido graso C_{24:0} acusa una cantidad notoriamente menor en la merluza fresca en contraste con la congelada y la salada, secada y rehidratada.

Desde el punto de vista de alimento humano, el componente más importante de la carne de pescado, es la proteína de alto valor biológico. El contenido de proteína en la carne de pescado oscila usualmente entre valores de 18^o/o y 20^o/o, correspondiendo a un contenido de nitrógeno de 2.8^o/o a 3.2^o/o. El músculo de pescado tiene en general menor contenido de tejido conectivo y, por lo tanto, menor contenido de albúmina que el músculo de los animales terrestres. Las albúminas constituyen el 10-20^o/o de las proteínas del músculo de pescado, mientras que el 70-90^o/o son globulinas. Ajeno a las proteínas, el músculo de pescado contiene otros compuestos nitrogenados no proteínicos que inciden en el sabor, y su presencia y concentración dan idea del grado de descomposición de los productos.

La mayoría de los estudios coinciden en que la composición aminoacídica de las proteínas de pescado es bastante uniforme y muy semejante a la de la carne de mamíferos. El contenido en aminoácidos esenciales es importante en el pescado, y dentro de éstos, la lisina se encuentra en cantidades particularmente elevadas. El aminoácido limitante es la cistina, generalmente en especies marinas.

El contenido aminoacídico total y digerido de las tres muestras analizadas se observa en la Tabla 4, al igual que el contenido en aminoácidos esenciales total y digerido en la proteína de huevo, usada como referencia.

El examen de los datos de la Tabla 4, revela que la composición aminoacídica de la merluza congelada no muestra grandes diferencias con respecto a la merluza fresca, mientras que en el caso de la merluza salada, secada y rehidratada, se observa una disminución apreciable en el contenido de ácido glutámico, leucina, fenilalanina y lisina.

Los aminoácidos liberados en mayor proporción, luego de la digestión enzimática, son la lisina, fenilalanina, tirosina, leucina e histidina. La digestibilidad de la lisina es de 52.2^o/o para la merluza fresca, 43.3^o/o para la congelada, y de 42.2^o/o para la merluza salada, secada y rehidratada. Los liberados en menor proporción fueron cistina y prolina. La cistina mostró una digestibilidad de 6.3^o/o para la merluza fresca, 8.1^o/o para la congelada, y 4.3^o/o para la salada, secada y rehidratada.

Para determinar el valor nutritivo de la proteína se debe considerar no sólo su composición en aminoácidos esenciales, sino también su biodisponibilidad. En el presente trabajo se seleccionó un método enzimático que determina el índice aminoacídico del digerido enzimático ultrafiltrado (EUD).

Los valores de los índices aminoacídicos EUD obtenidos fueron los siguientes:

Muestra	EUD
Merluza fresca	76
Merluza congelada	77
Merluza salada, secada y rehidratada	64

TABLA 4

CONTENIDO EN AMINOACIDOS TOTALES Y DIGERIDOS EN LA MERLUZA FRESCA, CONGELADA Y SALADA, SECADA Y REHIDRATADA, Y EN LA PROTEINA TOTAL DEL HUEVO USADO COMO REFERENCIA

	Merluza fresca		Merluza congelada		Merluza salada, sec. y rehidr.		Huevo	
	Tot.	Dig.	Tot.	Dig.	Tot.	Dig.	Tot.	Dig.
Acido aspártico	8.90	1.70	10.33	2.29	9.03	1.60		
Treonina*	4.50	0.72	4.08	0.62	3.33	0.63		
Serina	4.25	0.60	4.52	0.86	3.07	0.45		
Acido glutámico	16.03	2.34	15.27	3.22	13.33	2.37		
Prolina	3.58	0.27	3.73	0.19	2.37	0.16		
Glicina	5.45	0.91	5.57	0.86	5.21	0.70		
Alanina	6.25	1.22	6.42	1.45	5.60	1.11		
Valina*	6.18	1.11	5.24	1.27	4.38	0.65	6.60	0.83
Cistina	0.80	0.05	0.74	0.06	0.94	0.04	2.85	0.07
Metionina*	1.77	0.60	2.32	0.73	3.02	0.78	3.50	1.54
Isoleucina*	3.20	0.45	3.77	0.78	2.82	0.45	5.43	0.86
Leucina*	8.31	2.82	9.32	3.40	6.13	1.88	8.75	4.26
Fenilalanina*	5.71	3.15	4.76	2.52	3.88	1.87	5.92	3.14
Lisina*	19.25	10.04	17.54	7.59	13.83	5.84	7.46	2.92
Arginina	11.64	2.48	10.87	4.39	9.07	5.02		
Triptofano*	1.16	0.18	1.24	0.31	1.07	0.23	1.48	0.56

* Aminoácidos esenciales.

En cuanto a los valores de los índices EUD, se puede concluir que sometiendo filetes de merluza a un proceso de congelado rápido, la calidad nutritiva de su proteína no se ve alterada. Esta apreciación estaría en concordancia con lo informado por Pujol y Varela (19), que no detectan cambios significativos en los valores de utilización de la proteína para la merluza cuando se congela. En el caso de la merluza salada, secada y rehidratada, la situación es diferente ya que el valor del índice EUD obtenido es significativamente menor. El proceso, en este caso, puede disminuir la disponibilidad fisiológica de los aminoácidos de la proteína de pescado, debido a la formación de enlaces por acción enzimática resultantes de reacciones entre grupos amino y otros grupos activos de la proteína (16) y no por la destrucción de aminoácidos.

CONCLUSION

En lo que a la composición química se refiere, los datos observados para las muestras analizadas de merluza fresca, congelada, y salada, secada y rehidratada, no merecen observaciones particulares en cuanto a composición química. Sólo cabría mencionar que el porcentaje de

proteína en el salado, secado es un tanto mayor, pero con un porcentaje menor de humedad debido probablemente a que la rehidratación no es completa.

En lo referente a la composición de minerales la muestra salada y secada —debido al proceso al que se somete— presenta una mayor concentración de sodio. Se observa, asimismo, un mayor contenido de cobre, presente probablemente como impureza de la sal utilizada para el salado.

Con respecto a la fracción lipídica, los tres tipos de muestras analizadas presentan una composición similar en ácidos grasos, y, dentro de los saturados, el ácido palmítico es el que se encuentra en mayor proporción. Dentro de los insaturados predominan los ácidos grasos de mayor grado de insaturación (docosahexanoico).

Observando los datos contenidos en la composición en aminoácidos de las proteínas, no se encuentran cambios significativos entre las muestras de merluza fresca y congelada. En cambio, sí se aprecia una disminución más notoria en el contenido de algunos aminoácidos (ácido glutámico y lisina, principalmente) en las muestras de merluza salada, secada y rehidratada.

Del estudio comparativo entre muestras de merluza fresca, congelada y salada, y secada y rehidratada, se observa que el proceso de congelación no afecta la calidad de la proteína de pescado, mientras que el proceso de salado y secado favorecería la formación de enlaces resistentes entre grupos activos de las proteínas, disminuyendo su biodisponibilidad y, por lo tanto, su valor nutritivo.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a los integrantes del Laboratorio de Ciencia de la Alimentación, María Grazia Parretta, Rina Rossi, Mario Buono, Paolo Parreta. Así también, al Director del Instituto de Química Bromatológica, Dr. Pietro Damiani, y a los integrantes del Laboratorio de Química Bromatológica, Giancarlo Corrado y Enzo Gubbiotti, su valiosa colaboración en la realización de los análisis; y al Dr. Roberto Colli por su constante apoyo moral. En especial agradece al Dr. Flaminio Fidanza, Director del Instituto di Scienza dell' Alimentazione de la Universidad de Perugia, Italia, el haber permitido y apoyado con vivo interés, la realización de este trabajo.

SUMMARY

COMPARATIVE STUDY ON THE CHEMICAL COMPOSITION, AMINO ACID CONTENT AND NUTRITIVE VALUE OF FRESH AND FROZEN, AND SALTED, DRIED AND REHYDRATED HAKE

The main purpose of this study was to evaluate the influence of the freezing, on the one hand, and salting/drying processes on the other, on the nutritional value of the hake.

Data on the chemical composition of fresh, quick-freezing, and salted/dried/rehydrated hake filets is given, as well as data on the mineral composition, identification of fatty acids in the lipidic extract, and amino acid composition of their proteins.

The EUD values (enzymatic ultrafiltrate digest) in all three types of samples were then calculated, thereby determining the nutritional value of the hake after each process.

BIBLIOGRAFIA

1. Stransby, M. E. **Tecnología de la Industria Pesquera**. Zaragoza, España, Editorial Acribia, 1968, p. 379, 384, 391-402.
2. Ludorff, W. & V. Meyer. **El Pescado y los Productos de la Pesca**. 2a ed. Zaragoza España, Editorial Acribia, 1978, p. 74-100, 143, 154.
3. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. **Informe de Pesca No. 203**. Suplemento 1 al Informe de la Consulta Técnica sobre la Industria de la Merluza en América Latina. Montevideo, 24-28 de octubre de 1977.
4. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. **A Collection of Analytical Methods and Testing Procedures for the Assessment of Fish and Shellfish Quality**. CIDA/FAO/CECAF Training Programme. TF-INT 180 (Can) 11/77.
5. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 13th ed. Washington, D. C., The Association, 1980.
6. Fidanza, F. & A. Fidanza Alberti. Valore calorico e composizione in principi nutritivi di alcuni alimenti italiani. **Quaderni della Nutrizione**, 23(3): 117-126, 1963.
7. Montanini, I.M., B. Imbimbo & D. D'Aversa. Sulla determinazione delle proteine nei prodotti della pesca. **Rivista Idrobiologica**, 5: 139, 1966.
8. **Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry**. Perkin-Elmer. Norwalk, Connecticut, 1968.
9. Slavin, W. **Spettroscopia di Assorbimento Atomico**. Etas Kompas, Milano, 1a ed., 1967.
10. Amandola, G. & V. Terreni. **Analisi Chimica Strumentale e Tecnica**. Tamburini, Milano, 1967.
11. Hayashi, K. & M. Yamada. The fatty acid composition of the neutral lipids in six species of gadiformes. **Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries**, 41: 11, 1975.
12. Koning, A. J. Phospholipids of marine origin - The hake. **J. Sci. Food Agric.**, 17, 1966.
13. Ramachandran, K. G. & K. Gopakumar. Fatty acid composition of marine fish body fat. **J. Food Sci. Technol.**, 14: 268-270, 1977.
14. Spackman, D. H., W. H. Stein & S. Moore. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Anal. Chem.**, 30, 1958.
15. Floridi, A. & F. Fidanza. Sulla qualita delle proteine alimentari. Nota III. Indice aminoacidico sul digerito enzimatico ultrafiltrato (EUD). **Riv. Sci. Tecn. Alim. Nutr. Umbria, Anno V, n. 1**: 13-18, 1975.
16. Borgstrom, G. **Fish as Food**. Vol. II, **Nutrition, Sanitation and Utilization**. New York, London, Academic Press, 1962, p. 205.
17. Ciusa, W. & M. Giaccio. Il contenuto in rame, zinco, mercurio e piombo di alcune speci ittiche dell'Adriatico. **Quaderni di Merceologia, Vol. 10, Fasc. II, p. 1-19**, 1971.

18. Borgstrom, G. **Fish as Food**. Vol. I, **Production, Biochemistry and Microbiology**. New York, London, Academic Press, 1961, p. 164-171, 211-234, 259-274.
19. Pujol, A. & G. Varela. Valor biológico de algunos pescados de consumo en España. **Anales Bromatol.**, **10**: 437-478, 1958.

CARACTERIZACION DE LA CALIDAD DE ALGUNAS BOLOGNAS EN MEXICO. I. EVALUACION QUIMICA Y MICROBIOLOGICA

Rebeca Domínguez,¹ Mónica Esparza,² Ramón Pacheco³ y
Natalia González-Méndez⁴

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

RESUMEN

El Estado de Sonora es uno de los principales productores de carne porcina y bovina en México, lo que proporciona grandes perspectivas de industrialización de tales materias primas. En el trabajo objeto del presente artículo, se determinó un consumo total de productos cárnicos (jamones, salchichas, bolognas, tocino, chorizo y otros) en Sonora, de 403.69 ton/mes. De ese total, el producto cárnico de mayor consumo estatal resultó ser la bologna (conocida regionalmente como bolonia), convirtiéndose así en el tema de estudio. Se realizaron evaluaciones químicas y microbiológicas a las marcas comerciales de bolonia de mayor distribución. Esas evaluaciones incluyeron determinaciones de humedad, proteína, cenizas, nitritos, fosfatos, ácido benzoico, recuento mesofílico en placa, número más probable de coliformes, *Staphylococcus aureus* —coagulasa positiva— y *Salmonella sp.* Los resultados de los análisis químicos revelaron que ninguna de las marcas cumple con las normas establecidas, principalmente en lo referente a niveles de proteína, carbohidratos, fosfatos y ácido benzoico. Con respecto a los que excedían las normas, las determinaciones de recuento mesofílico aeróbico en placa y número más probable de coliformes, se obtuvieron grandes variaciones, aún dentro de una misma marca. Sólo una de ellas acusó *Staphylococcus aureus*, y en ninguna se encontró la presencia de *Salmonella sp.*

Manuscrito modificado recibido: 10-5-88.

- 1 Química Bióloga con especialidad en Tecnología de Alimentos.
- 2 Estudiante de Posgrado en el Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, España.
- 3 Estudiante de Posgrado, Oregon State University. Corvallis, Oregon, USA.
- 4 M. en C. del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.), Apartado Postal 1735, 83000 Hermosillo, Sonora, México. En la actualidad, cursa estudios de posgrado en Université de Clermont-Ferrand II.

INTRODUCCION

Actualmente en México, al igual que en otros países, existe un creciente interés en cuanto a la estandarización y normalización de la calidad de los alimentos procesados. En Sonora, la producción de carne porcina y bovina alcanza niveles importantes dentro del abasto nacional, por lo que se han incrementado las posibilidades de una mayor industrialización de tales materias primas. Los productos de esta industrialización y de la establecida al presente, requieren de control de calidad a fin de conservar su competitividad en el mercado.

Para llevar a cabo un control de calidad de los productos cárnicos, es indispensable conocer sus principales características, y tener la capacidad para elegir las o producirlas. Para este control, la evaluación de calidad de un producto normalmente necesita del conocimiento de la aceptabilidad por parte del público, de la conservabilidad o estabilidad y de la uniformidad de composición (1-3). Además de lo señalado, se debe considerar un valor "óptimo" del producto cárnico al asignar los grados de importancia a cada una de las características. Puesto que dicho producto se encuentra dentro de un contexto realista, hay que considerar, asimismo, la rentabilidad de un mercado competitivo.

En base a lo expuesto, se inició un estudio de la calidad de los productos cárnicos presentes en el mercado sonorenses, con miras a obtener información confiable acerca de las características de dichos productos comerciales. El presente trabajo se realizó dentro de dicho estudio, con el objetivo específico de evaluar los aspectos químicos y microbiológicos del producto cárnico de mayor consumo en el Estado de Sonora.

MATERIAL Y METODOS

Detección del Producto Embutido de Mayor Consumo en el Estado de Sonora

Se hizo una inspección en el comercio de las principales ciudades de Sonora (Hermosillo, Cd. Obregón, Navojoa, San Luis Río Colorado y Nogales), para determinados productos, con las marcas respectivas, que constituyen la oferta. Con esta relación, se procedió a recopilar información sobre la venta (oferta de producto) de todos los productos cárnicos (jamones, salchichas, bologna, etc.) directamente de los distribuidores y/o fabricantes y en base a ella se agruparon los datos por producto para detectar el de mayor consumo.

Obtención de las Muestras

Se eligió la ciudad de Hermosillo como representativa del Estado, por contar con distribución de todas las marcas del producto seleccionado en forma regular. Ya que el estudio está dirigido hacia el consumidor, las muestras se compraron directamente al comercio, a intervalos regulares y procurando que correspondieran a lotes diferentes.

Evaluación Química

Todos los análisis químicos se realizaron en seis muestras de cada marca del producto seleccionado.

Análisis Proximal

Se utilizaron muestras de 10 gramos, por duplicado, para analizar el contenido de humedad, grasa, proteína, cenizas y carbohidratos en forma consecutiva.

Humedad — Se utilizó el método descrito por Kramlich (4).

Grasa. — La determinación de grasa o extracto soluble en éter, se hizo sobre muestra seca en el determinador Goldfish, según el método de la AOAC (5), con las modificaciones recomendadas por Kramlich (4).

Proteína — Se determinó nitrógeno total en una muestra seca desgrasada por el método estandar Kjeldahl, AOAC (5), calculándose la proteína como $N \times 6.25$.

Cenizas — Las cenizas se determinaron por medio de una mufla tipo F-1700, siguiendo el método descrito por Kramlich (4).

Carbohidratos — El porcentaje de carbohidratos se estableció por diferencia del análisis proximal.

Nitritos

Se utilizó el método colorimétrico descrito por la AOAC (6).

Fosfatos

Se determinó fósforo según el procedimiento colorimétrico 6.062 de la AOAC (7), y se multiplicó por el factor 3.066 para convertir a fosfatos.

Acido Benzoico

En este caso, se utilizó el método 20.019 de la AOAC (5), para su determinación.

Evaluación Microbiológica

Las técnicas usadas para determinar la calidad microbiológica del producto seleccionado, fueron tomadas del Manual Bacteriológico de la Administración de Alimentos y Drogas de los EUA (8). Tales técnicas comprenden:

Recuento mesofílico aeróbico en placa — Se llevó a cabo según la técnica descrita en el capítulo IV del Manual FDA 1978, con la modificación de 1980 (8).

Determinación de número más probable de coliformes — Para esta determinación se aplicó la técnica descrita en el capítulo V del Manual FDA (8).

Determinación de Staphylococcus aureus coagulasa (+) — Se realizó por el método de cuenta directa de placa, según la técnica descrita en el Cap. XI del Manual FDA 1978, con la modificación de 1980 (8).

Determinación de Salmonella sp. — Por último, se hizo este análisis, valiéndose de la técnica descrita en el Cap. VI del Manual de la FDA 1978, con la modificación de 1980 (8).

RESULTADOS Y DISCUSION

De la inspección en las principales ciudades del Estado, se encontró que existen en el mercado 19 productos cárnicos diferentes, distribuidos por 12 empresas. Los productos elaborados por el mayor número de empresas son el jamón ahumado, las salchichas, el tocino ahumado y la bolonia.

Directamente de los distribuidores y/o fabricantes se obtuvo un consumo total de productos cárnicos (jamones, salchichas, bolognas, chorizos y otros) de 403.69 ton/mes aproximadamente, de las cuales el 61.85^o/o proviene de empresas de otros Estados de la República (promedio para el año 1982). El diagrama de barras de la Figura 1 indica el consumo total de cada tipo de producto cárnico, observándose que la bologna ocupa el primer lugar con 179.92 toneladas/mes, es decir el 42.8^o/o del consumo total. Se convirtió así en el material de estudio.

En relación a los resultados del análisis químico, en la Tabla 1 se aprecia que ninguna de las marcas cumplió totalmente los estándares establecidos. Así, con respecto a humedad, la bolonia Burr estuvo fuera del límite máximo establecido por la Dirección General de Normas (9). En lo referente a grasa, ninguna de las bolonias sobrepasó el límite permitido. No obstante, el porcentaje característico para este tipo de productos fue superior al 20^o/o (10, 11), cifra que quedó muy por encima de los valores obtenidos, a excepción del que acusó la bolonia Rosarito, que fue de 17.13^o/o. En cuanto a proteína, ninguna se acercó al límite mínimo. En cambio, casi todas sobrepasaron los porcentajes máximos de cenizas y carbohidratos, alcanzando en este último valores tan elevados como 27.41^o/o, 25.83^o/o, 25.10^o/o y 23.43^o/o, que corresponden a las bolonias Chimex, Cortez, Ponderosa y Alfino, respectivamente.

En lo concerniente a aditivos, se encontró que si bien ninguna de las marcas sobrepasó el nivel permitido de nitritos, algunas de las cuantificaciones resultaron muy bajas, y con desviaciones estándares elevadas. En fosfatos, la mayoría de las marcas presentaron valores por encima del límite establecido a 0.5^o/o (USDA) para su adición. Si se considera que se tiene un aporte promedio de 0.150^o/o en los fosfatos totales provenientes de la carne (12), entonces a los fosfatos totales informados en la Tabla 1 se les resta dicho porcentaje. Se estableció así que sólo dos de las bolonias (Chimex y Ponderosa) tenían más del 0.5^o/o adicionado y el resto se encontraba en el límite. También se puede hacer la observación que las bolonias que contienen altos porcentajes de carbohidratos (por diferencia) son las que presentan contenidos porcentuales de fosfatos arriba del permitido. Esto último se puede relacionar con la capacidad de retención de agua y estabilización de la emulsión proporcionada por fosfatos (13). Para terminar, cabe señalar que el nivel máximo señalado de 0.1^o/o en ácido benzoico, se refiere en realidad a la cantidad total de conservadores permitidos, encontrándose valores superiores en Cortez y Ponderosa.

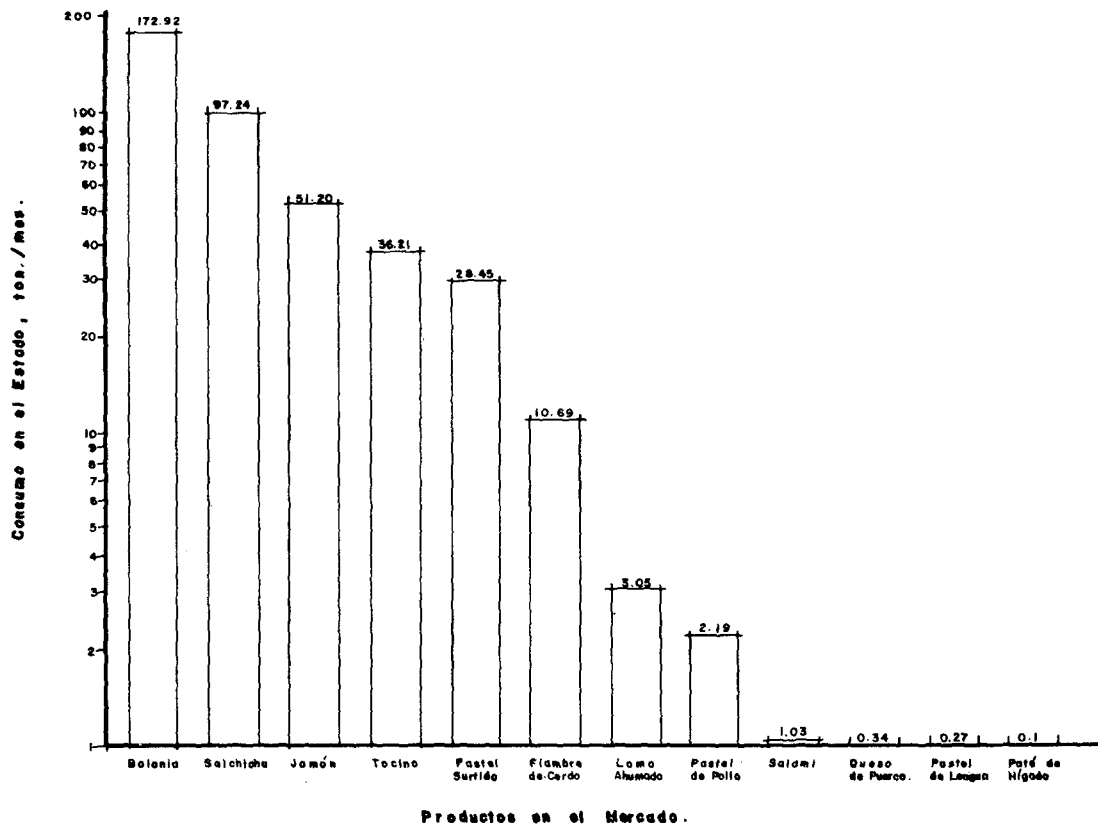


FIGURA 1
Consumo de productos cárnicos en el Estado de Sonora

TABLA 1

RESULTADOS DEL ANALISIS QUIMICO REALIZADO A LAS
DIFERENTES BOLONIAS COMERCIALES^a

Determinación	Chimex	Cortez	Ponderosa	Burr	Rosarito	Alfino	Estándares
Humedad (%)	53.07 ±2.69	51.38 ±2.27	53.62 ±1.63	68.28 ±0.89	55.69 ±1.73	55.92 ±1.04	60 máximo ^b
Grasa (%)	8.91 ±1.22	7.85 ±0.69	9.57 ±1.10	7.00 ±1.50	17.13 ±1.53	6.63 ±0.50	25 máximo ^b
Proteína (%)	9.39 ±0.48	8.64 ±0.53	8.94 ±0.75	9.55 ±1.14	10.70 ±0.81	8.43 ±0.76	14 mínimo ^b
Cenizas (%)	2.79 ±0.85	4.72 ±0.52	4.43 ±0.35	3.35 ±0.64	3.72 ±0.19	3.92 ±0.49	3 máximo ^c
Carbohidratos (%)	25.83 ±2.00	27.41 ±2.02	23.43 ±1.82	11.81 ±2.58	12.76 ±1.74	25.10 ±1.55	10 máximo ^d
Nitritos (ppm)	23.16 ±10.14	101.16 ±53.71	81.83 ±69.93	33.83 ±11.95	21.16 ±14.06	54.83 ±35.32	200 máximo ^d
Fosfatos (%)	0.74 ±0.03	0.66 ±0.05	0.80 ±0.06	0.68 ±0.13	0.55 ±0.06	0.55 ±0.15	0.5 máximo ^c
Ac. Benzoico (%)	0.08 ±0.005	0.15 ±0.02	0.11 ±0.04	0.05 ±0.009	0.05 ±0.012	0.08 ±0.06	0.1 máximo ^c

a Los datos tabulados representan la media ± la desviación estándar de seis muestras analizadas.

b Criterios utilizados por la Dirección General de Normas de México.

c Criterios utilizados por la USDA en los EUA.

d Criterios utilizados por la SSA en México.

El análisis estadístico de los resultados del análisis proximal, se expone en la Tabla 2, en la que se observan las igualdades y diferencias entre las bolonias en cada determinación. Las diferencias más pronunciadas fueron las de Burr, en humedad, y las de Rosarito, en grasa y proteína. Lo correcto, sin embargo, sería que no hubiesen diferencias significativas ($P < .05$), ya que todos se rigen por una misma norma de calidad (9).

La Tabla 3 constituye un resumen de las medidas de las determinaciones microbiológicas realizadas. Como los datos lo revelan, el producto Burr mostró los recuentos más altos, rebasando los límites permitidos por SSA (14), tanto en bacterias mesofílicas aeróbicas como en coliformes. Además, fue la única bolonia en la que se detectó la presencia de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+), aun cuando los niveles encontrados están por debajo de los criterios de la SSA. No obstante, es importante recordar que en condiciones propicias, este microorganismo podría proliferar y ser fuente de intoxicaciones alimentarias, dadas las características selectivas que presenta este producto para dicho microorganismo (15). Ajeno a ello, según los datos, la bolonia marca Burr fue la que tuvo el mayor contenido de humedad y el menor de ácido benzoico, lo que

TABLA 2

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS PROXIMAL,
COMPARACIONES MÚLTIPLES POR EL MÉTODO DE DUNCAN^a

Bolonias	Análisis proximal (°/o)				
	Humedad	Grasa	Proteína	Carbohidratos	Cenizas
Chimex	53.07 ^a	8.91 ^{ab}	9.39 ^{ab}	25.85 ^{ab}	2.79 ^a
Cortez	51.38 ^a	7.85 ^{ac}	8.64 ^{ab}	27.41 ^a	4.72 ^b
Ponderosa	53.63 ^{ab}	9.58 ^a	8.95 ^b	23.43 ^b	4.43 ^{bc}
Burr	68.28 ^c	7.00 ^c	9.56 ^a	11.81 ^c	3.35 ^{ad}
Rosarito	55.69 ^b	17.13 ^b	10.70 ^c	12.76 ^c	3.72 ^d
Alfino	55.92 ^b	6.63 ^c	8.43 ^b	25.10 ^{ab}	3.92 ^{cd}

a Los valores tabulados representan el promedio de seis observaciones. Los promedios con diferente letra dentro de cada columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$) (20).

podría explicar en parte este comportamiento (11, 16). Las bolonias Chimex y Rosarito acusaron también recuentos microbianos altos (Tabla 3) y, al igual que la de marca Burr, en la primera podría deberse al bajo contenido de ácido benzoico y, en ambas, a los bajos niveles de nitritos. El comportamiento microbiológico de las bolonias Cortez, Ponderosa y Alfino fue contrario, ya que registraron los recuentos más bajos en las dos determinaciones mencionadas, debido probablemente a sus altos niveles de conservadores.

Es importante mencionar que en nuestro país no existen estándares para la determinación de coliformes, quizás por la suposición de que el tratamiento térmico que recibe el producto elimina estos microorganismos. No se tiene en cuenta, sin embargo, el riesgo de posibles recontaminaciones posteriores a dicho tratamiento (17).

Con referencia a *Salmonella sp.*, todos los análisis efectuados en las distintas muestras evidenciaron la ausencia de esta enterobacteria patógena en 25 g de muestra analizada. Ello coincide con los informes de baja incidencia en este tipo de productos cárnicos (18).

En las Tablas 4 y 5 se muestra una comparación, en términos porcentuales, de los valores obtenidos en las determinaciones del recuento mesofílico aeróbico en placa, y del número más probable de coliformes con respecto a los diferentes estándares establecidos para este producto. Así, podemos observar que la colonia Burr obtuvo el menor porcentaje (17°/o) en cuenta mesofílica aeróbica en placa, en contraste con la Ponderosa, que cumplió con el 100°/o en cinco de los estándares citados. Además, las bolonias Chimex, Cortez y Alfino se comportaron en forma similar, excepto para el estándar de México, donde la primera acusó un porcentaje menor. La colonia Rosarito alcanzó un porcentaje de cumplimiento de 83°/o para la mayoría de los estándares. En la comparación de determinación del NMP de coliformes (Tablas 5), las bolonias Ponderosa

TABLA 3

VALORES OBTENIDOS EN LAS DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS
DE LAS DIFERENTES BOLONIAS COMERCIALES (Col/g)^a

Determinaciones	Chimex	Cortez	Ponderosa	Burr	Rosarito	Alfino	Estándar ^b
Recuento mesofílico aeróbico en placa	9.7×10^5 $\pm 1.5 \times 10^5$	1.1×10^5 $\pm 1.6 \times 10^5$	5.6×10^4 $\pm 8.2 \times 10^4$	7.0×10^6 $\pm 5.5 \times 10^6$	1.2×10^6 $\pm 2.9 \times 10^6$	2.8×10^6 $\pm 3.8 \times 10^6$	5×10^4
Número más probable de coliformes	406 ± 976	26 ± 56	6 ± 9	416 ± 597	270 ± 651	3 ± 2	—
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa (+)	0 —	0 —	0 —	+ 23 + 48	0 —	0 —	5×10^3
<i>Salmonella sp.</i>	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0/15 g

a Los valores tabulados corresponden a la media \pm la desviación estándar de seis muestras.

b Criterios utilizados por la SSA en México.

TABLA 4

COMPARACION DE LOS VALORES OBTENIDOS EN EL RECUESTO MESOFILICO AEROBICO EN PLACA, DE LAS BOLONIAS COMERCIALES CON RESPECTO A DIFERENTES ESTANDARES (O/o de veces que cumpli3 con los mismos)

Est3ndares (Col/g)	Bolonias					
	Chimex	Cortez	Ponderosa	Burr	Rosarito	Alfino
USDA-Ohio 1.0x10 ⁶	100	100	100	17	83	100
USDA-Tennessee 1.0x10 ⁶	100	100	100	17	83	100
USDA-Nebraska 1.0x10 ⁶	100	100	100	17	83	100
Francia 3.0x10 ⁵	83	83	100	17	83	83
USDA-W.V. ^a 1.0x10 ⁴	33	33	17	17	17	33
SSA-M3xico 5x10 ⁵	100	100	100	17	83	83

a Las iniciales corresponden al estado de Virginia del Oeste en Estados Unidos de Am3rica.

y Alfino cumplieron con todos los est3ndares y, una vez m3s, la de marca Burr obtuvo los menores porcentajes en la mayor3a de ellos.

CONCLUSIONES

El consumo total de productos c3rnicos en el Estado de Sonora, M3xico, fue de 403.69 ton/mes, total del que cerca del 60% proviene de otros Estados de la Rep3blica.

El producto de mayor consumo fue la bolonia representada con un 42.83% del total, por lo que, seg3n se expuso, se convirti3 en el objeto de estudio. En la evaluaci3n qu3mica se observ3 que ninguna de las marcas comerciales cumpli3 con las normas oficiales (DGN y SSA) (9, 14). En particular, ello ocurri3 en las determinaciones de prote3nas, carbohidratos, fosfatos y 3cido benzoico, con una mayor variaci3n en las dos primeras. Esto adquiere importancia en t3rminos de los problemas econ3micos por los que atraviesa nuestro pa3s, pues con ello, el consumidor no adquiere la cantidad de prote3na que es de esperar.

TABLA 5

COMPARACION DE LOS VALORES OBTENIDOS EN LA DETERMINACION DE NUMERO MAS PROBABLE DE COLIFORMES (NMP) DE LAS BOLONIAS COMERCIALES CON RESPECTO A DIFERENTES ESTANDARES (O/o de veces que cumplió con los mismos)

Estándares (Col/g)	Bolonias					
	Chimex	Cortez	Ponderosa	Burr	Rosarito	Alfino
USDA-Ohio 5×10^3	100	100	100	100	100	100
USDA-Tennessee 1×10^2	66	83	100	33	66	100
USDA-Nebraska ≤ 50	66	83	100	33	66	100
Francia 1×10^3	83	100	100	83	66	100
USDA-W.V. 1×10^2	66	83	100	33	66	100
SSA-México (No existe)	—	—	—	—	—	—

De acuerdo a las variaciones que se presentaron, en las determinaciones de recuento mesofílico aeróbico en placa y número más probable de coliformes, se deduce que no existe control ni uniformidad en las condiciones sanitarias de producción, manejo y/o distribución del producto. Esto último, además de repercutir en una disminución de la vida de anaquel de los productos, aumenta los riesgos para la salud de los consumidores.

Los resultados de esta evaluación proporcionan una descripción global de las condiciones y características de la bolonia y de la industria que la elabora. A partir de los mismos, se deduce que el control de calidad es mínimo y en algunos casos nulo, por lo que se estima necesario darle la debida importancia, tanto en el sector productivo como por parte de las autoridades del ramo.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó con el apoyo económico de la Dirección Adjunta de Desarrollo Tecnológico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Proyecto IVT/QU/NAL/83/2032, y de la Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica de la Secretaría de Educación Pública (SEP) de México.

SUMMARY

QUALITY CHARACTERIZATION OF DIFFERENT BRANDS OF BOLOGNA
IN MEXICO. I. CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION

The State of Sonora, is one of the main producers of beer, cattle and pork in México. In the work herein reported, it was determined that the total processed meat consumption in Sonora was 403.69 ton/month. The main product was bologna which for this reason, was the basis of our study. Chemical and microbiological evaluations of the commercial brands of bologna, purchased in local markets, were performed, including analysis for determinations of protein, ash, nitrites, phosphates and benzoic acid content. Total mesophyllic counts, and most probable number of coliforms, *Staphylococcus aureus* (positive coagulase) and *Salmonella sp.* were also determined. The results of the chemical analysis revealed that none of the brands complied with established norms, particularly in regard to protein, carbohydrates, phosphates and benzoic acid levels which exceeded the norms. Aerobic mesophyllic counts, and most probable number of coliforms, had wide variations even within the same brand. Only one sample contained *Staphylococcus aureus*, and all samples were negative for *Salmonella sp.*

BIBLIOGRAFIA

1. Flores, J. Parámetros de calidad utilizados para la normalización o tipificación de los productos cárnicos. *Rev. Agroquím. Tecn. Alim.*, 17(4): 444, 1977.
2. Flores, J. Control de calidad de los productos cárnicos. *Rev. Agroquím. Tecn. Alim.*, 20(2): 180, 1980.
3. Price, J.F. Control de calidad y sanidad. En: **Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos**. J.F. Price, y B.S. Schweigert (Eds.). España, Editorial Acribia, 1976, p. 624-627.
4. Kramlich, W.E. Embutidos. En: **Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos**. J.F. Price y B.S. Schweigert (Eds.). España, Editorial Acribia, 1976, p. 258-265.
5. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 13th ed. Washington, D.C., The Association, 1980, Sec. 20.019, p. 325.
6. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 12th ed. Washington, D.C., The Association, 1975.
7. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 9th ed. Washington, D.C., The Association, 1960, Sec. 6.062.
8. Food and Drug Administration (FDA). **Bacteriological Analytical Manual**. Published and distributed by AOAC, 1980, p. IV 1-9; V 1-6; VI 1-6, 10, 15, 20, 29; XI 1-7.
9. Dirección General de Normas Mexicanas (DGN). Norma oficial de calidad para mortadela. Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial. **Diario Oficial de la Federación, 18 de agosto de 1971**.
10. Rice, E.E. Contenido en nutrientes y valor nutritivo de la carne y productos cárnicos. En: **Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos**. J.F. Price y B.S. Schweigert (Eds.). España, Editorial Acribia, 1976, p. 306-307.

11. Forrest, J.C., E.A. Aberle, H.B. Hedrick, M.D. Judge & R.A. Merkel. **Fundamentos de Ciencia de la Carne.** España, Editorial Acribia, 1979, p. 163-196.
12. Niinivaara, F.A. & P. Antila. **El Valor Nutritivo de la Carne.** España, Editorial Acribia, 1973, p. 158-159.
13. Rust, R.E. **Sausages and Processed Meats.** American Meat Institute, 1977, p. 47, 13-15, 21-26.
14. Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA). **Normas Microbiológicas y Químicas para el Control Sanitario del Agua, Bebidas y Alimentos; Criterios Microbiológicos.** México, D.F. Depto. Gral. de Invest. en Salud Pública de la Dir. Gral. de Control de Alim., Beb y Med., 1974.
15. Lechowich, R.V. Microbiología de la carne. En: **Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos.** J.F. Price y B.S. Schweigert (Eds.). España, Editorial Acribia, 1976, p. 258-265.
16. Genigeorgis, C.A. Factors affecting the probability of growth of pathogenic microorganisms in foods. **J. Amer. Veter. Med. Assoc.**, 149: 1410, 1951.
17. Speck, L.M. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** USA American Public Health Association Inc., 1976, p. 106-111, 115, 118, 152, 277-287, 301-307, 321, 374-384.
18. Tompkin, R.B. Indicator organism in meat and poultry products. **Food Technol.**, 37(6): 107, 1983.
19. Duncan, D.B. Multiple range and multiple F test. **Biometrics**, 11(1): 42, 1955.

NUEVOS LIBROS

Linear Growth Retardation in Less Developed Countries. — John C. Waterlow (Ed.). Inglés. New York, N.Y., Raven Press, Ltd., 1988, 295 p. ISBN 0-88167-378-1 (pasta dura). (Order Code 1844). Nestlé Nutrition Workshop Series, Vol. 14.

En muchos países en vías de desarrollo, los niños menores de cinco años pueden ser diagnosticados como malnutridos sólo en base a su baja estatura o largo corporal para su edad, por comparación con los estándares internacionales. Pero, los investigadores se preguntan cada vez más si el retardo lineal de crecimiento —a menudo referido como detención del crecimiento (“stunting”)— es realmente un índice confiable de malnutrición, puesto que ese rezago en crecimiento bien puede ser el resultado de factores genéticos y de influencias ambientales ajenas a las deficiencias nutricionales. Más aún, las implicaciones y consecuencias de esa detención del crecimiento están hoy día en debate. Algunos investigadores enfatizan los impedimentos asociados con el retardo de crecimiento, mientras que otros ven esa falta de crecimiento como una adaptación útil que intensifica la probabilidad de sobrevivencia.

Este volumen presenta un análisis científico objetivo de la relación entre la malnutrición y la detención del crecimiento, así como de sus consecuencias físicas y psicológicas. Nutricionistas, pediatras, epidemiólogos, auxanólogos (“auxologists”) y endocrinólogos de renombre, examinan la epidemiología e historia natural de la detención de crecimiento, los mecanismos biológicos que determinan esa falla, y el papel que la proteína, el zinc y otras deficiencias de nutrientes considerados individualmente, juegan en ese rezago. Un capítulo importante considera las infecciones y los factores ambientales como posibles determinantes de la detención del crecimiento.

Los contribuyentes también evalúan los riesgos de mortalidad y morbilidad a que están sujetos los niños que no crecen bien, y el impacto que esa detención del crecimiento ejerce en el desarrollo mental, la capacidad de trabajo físico y la productividad. En el capítulo final se discuten las implicaciones que los datos científicos relacionados con la detención del crecimiento tienen para las políticas de salud pública.

Se estima que los hallazgos que se presentan en este libro son de vital significado para todos los nutricionistas y pediatras que se interesan por los niños desnutridos, así como para aquéllos que planifican políticas de salud pública en los países en desarrollo.

Los interesados en adquirir el volumen pueden dirigirse a Dr. Pierre R. Guesry, M.D., Vice President, Nestec Ltd., Avenue Nestlé, 1800 Vevey, Switzerland, o si lo prefieren, a Raven Press Ltd., 1185 Avenue of the Americas, New York, N.Y. 10036.

Ricardo Bressani
Editor Genral

Health Promotion and Disease Prevention in the Elderly (Aging. Vol. 35).
— Ronni Chernoff and David A. Lipschitz (Eds.). Inglés. New York,
N.Y., Raven Press Ltd., 1988, 224 p. Precio: US\$36.50. ISBN
0-88167-390-0. (Order Code 1869).

Se examinan los hechos, modas pasajeras y prejuicios alimentarios de teorías actuales que están siendo propugnadas en pro del mejoramiento de la salud y prevención de enfermedades en personas de avanzada edad. Los autores contribuyentes al volumen hacen una revisión actual de los conocimientos, y describen la forma en que factores tales como el ejercicio, la nutrición, el uso sin riesgos de medicamentos, así como los cambios en el estilo de vida, pueden ayudar a personas mayores a mantenerse saludables y reducir el riesgo de enfermedades incapacitantes.

Entre los capítulos más importantes cabe señalar los que abordan la nutrición, examinando los requerimientos de nutrientes de los ancianos. Se discuten los mitos y riesgos de megadosis de vitaminas, al igual que las terapias nutricionales que fomentan charlatanes, y se hace una revisión de las afirmaciones versus los hechos, en temas controversiales tales como el programa de la dieta Pritikin; la suplementación con calcio, y la extensión de vida, el anti-envejecimiento, y las panaceas de rejuvenecimiento sexual.

El papel que el ejercicio desempeña en la prevención de involución senil ósea; la eficacia del tratamiento de la osteoporosis con vitamina D; el control de la presión sanguínea alta; el tamizaje o screening de cáncer, y la seguridad y el control de accidentes, son otros de los tópicos enfocados.

El volumen tienen particular interés para geriatras, nutricionistas, médicos internistas, médicos de familia, y otros profesionales en la atención de la salud, interesados en fomentar esta última y prevenir la enfermedad en los ancianos.

Las personas que deseen obtener el libro pueden solicitarlo de Raven Press Ltd. (Medical and Scientific Publishers) en la dirección que se anota al inicio de esta Sección, en la ciudad de New York, USA, adjuntando su cheque por la suma de US\$36.00.

NOTAS

**II CURSO INTERNACIONAL SOBRE APLICACION DE LA
COMPUTACION A LA EVALUACION DE DIETAS EN LA
VIGILANCIA ALIMENTARIA Y NUTRICIONAL**
Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos
Ciudad de La Habana, Cuba
6 a 11 de febrero de 1989

Con el interés de transmitir la experiencia cubana en la utilización de los medios de computación en las tareas de evaluación de dietas, se conformó el presente Curso que toma como base el sistema UAUD (Vigilancia Automatizada de Dietas) desarrollado por el Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos de Cuba.

En este evento tomarán parte médicos especialistas en nutrición, nutricionistas y dietistas y especialistas afines. Habrá actividades de gran importancia, entre las que destaca una Conferencia sobre el Sistema de Vigilancia Alimentaria y Nutricional en Cuba. Asimismo, los participantes tendrán la oportunidad de escuchar conferencias sobre características del UAUD, y sus aplicaciones. Se examinará la relación de encuestas dietéticas en centros de alimentación social, y el procesamiento de la información en el sistema UAUD. Además, también tendrán la posibilidad de solicitar la adaptación del sistema en cuestión a su medio específico.

De conformidad con el plazo de admisión, las solicitudes de inscripción para el Curso se recibirán hasta 30 días antes del inicio del mismo. El derecho de matrícula tiene un valor de US\$100.00 o su equivalente en moneda libremente convertible, pago que se realiza en la sede, al inicio del Curso.

En cuanto a los aspectos sociales, los participantes podrán optar por diferentes ofertas turísticas que brinda CUTANUR.

Podrán obtener mayores detalles respecto a este Curso, dirigiéndose a la Directora del Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA), Dra. Milsa Cobas Selva: Infanta No. 1158, La Habana 3, Cuba.

VACCINES
For Sexually Transmitted Diseases
Sponsored by the journal *Vaccine*
(Co-sponsored by the World Health Organization)
5-7 April, 1989
Oxford University, Oxford, UK

Esta importante conferencia internacional es la primera que patrocina la revista

Vaccine, y constituirá un forum para el intercambio de ideas e información para todos aquellos interesados en avances científicos y técnicos recientes en la investigación de vacunas en contra de las enfermedades transmitidas sexualmente. El programa científico comprenderá conferencias magistrales que dictarán invitados especiales; además, habrá presentación de trabajos y de posters sobre todos los aspectos relacionados con el diseño, producción y uso de vacunas para enfermedades de índole sexual. Los trabajos deben relacionarse con los tópicos siguientes:

Síndrome de inmuno deficiencia adquirida (SIDA)

Infecciones (chlamydial)

Gonorrea

Estreptococos Grupo B

Hepatitis B

Herpes simplex

Papilomas por infecciones a virus

Sífilis

En suma, el propósito del evento es destacar y discutir las áreas clave que al presente determinan la disponibilidad de vacunas que pueden usarse para proteger a la gente en contra de las enfermedades transmitidas sexualmente. Comprenderá el enfoque no sólo de los aspectos técnicos de elaboración de materiales, productores de inmunidad en contra de patógenos transmitidos sexualmente, sino también sobre la decisión de políticas que determinan el financiamiento requerido para investigaciones sobre la producción de vacunas, riesgos y contingencias que puedan inducir "abreacciones".

La esfera de acción es amplia, y el evento ha sido diseñado a modo de proporcionar oportunidad para ofrecer las lecciones aprendidas de investigaciones en áreas exitosas, para su aplicación a aquéllas que aún no han logrado los adelantos necesarios.

A los lectores a quienes este campo de acción pueda interesarles, se les sugiere obtener los detalles del caso dirigiéndose a: D.E. Cogan, Vaccines for Sexually Transmitted Diseases, Butterworth Scientific Ltd., P O Box 63, Westbury House, Bury Street, Guildford, Surrey GU 2 5 BH, UK.

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

ENTIDADES PATROCINANTES

Asociación Americana de Soya (México D. F., México)

Asociación Americana de Soya (Oficina para América del Sur Caracas, Venezuela)

Compañía Distribuidora Guatemalteca Shell (Guatemala, Guatemala)

Fundación CAVENDES (Caracas, Venezuela)

Fundación Polar (Caracas, Venezuela)

Gerber Products Company (GERBER) (Freemont, Michigan, USA)

F. Hoffman — La Roche & Co. (PRODUCTOS ROCHE) (Basilea, Suiza)

Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA) (Tres Ríos, Costa Rica)

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

Instituto Nacional de Nutrición (INN) (Caracas, Venezuela)

Wyeth International Limited (Philadelphia, Pa., EUA)

Monsanto Guatemala, Inc. (Guatemala, Guatemala)

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 o/o 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 gráficas.

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 Chemist. *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 citas 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. Abreviaturas 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 50 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 \$10.00 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).

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. Sergio Valiente – Presidente
Dr. Jaime Ariza – Vicepresidente
Srta. Betty Avila – Secretaria
Dr. Eduardo Atalah – Tesorero
Dr. Alfredo Lam-Sánchez – Presidente saliente – Vocal
Dr. Cecilio Morón – Vocal
Dr. Héctor Bourges – Vocal
Dr. Luis Fajardo – Vocal
Dr. José Dutra de Oliveira – Vocal
Dra. Wilma Freire – Vocal
Dr. Sunney D. Alexis – Vocal
Dr. Jean-Pierre Habicht – Vocal
(Consejo Directivo 1986-1988)

Dirección actual hasta el 31 de diciembre de 1988

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

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: Sra. María Eugenia de Martínez

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL – PERIODO 1986-1988

Dr. Héctor Araya	Lic. Luis García
Dra. Julia Araya	Lic. Carolina de Godínez
Dr. Antonio Bacigalupo	Dr. Werner G. Jaffé
Lic. Adriana Blanco	Dr. Franco M. Lajolo
Dr. José Belizán	Dr. Alfredo Lam-Sánchez
Lic. Concha M. de Bosque	Dr. Reynaldo Martorell
Dr. Héctor Bourges	Dr. Leonardo Mata
Dr. Ricardo Bressani	Dr. Luis A. Mejía
Dr. Adolfo Chávez	Dra. Josefina Morales
Dr. José Félix Chávez	Dra. Nelly Pak
Dra. Rebeca Carlota De Angelis	Dra. Martha Pabón de Rozo
Dr. Hernán Delgado	Dr. Nelson de Souza
Dr. J. E. Dutra de Oliveira	Dr. Sergio Valiente
Dr. Luiz G. Elías	Dr. Emilio Vargas
Ing. Arnoldo García	Dr. Enrique Yáñez

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

CONTENIDO

	Página
EDITORIAL	205
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION HUMANA	
Estado nutricional con respecto al calcio en la Argentina. — <i>Susana N. Zeni y María L. de Portela</i>	209
BIOQUIMICA NUTRICIONAL	
Influencia del nivel proteínico dietario sobre el patrón electroforético y los niveles de Ig G e Ig M plasmáticos en ratas gestantes y sus neonatos. — <i>Pilar Varela, Emilia Muñoz-Martínez, Ascensión Marcos y Ma. Teresa Unzaga</i>	219
Cholesterolemic effects of the lysine/arginine ratio in rabbits after initial early growth. — <i>Albert Sánchez, Donna A. Rubano, Gerald W. Shavlik, Richard W. Hubbard and Merritt C. Horning</i>	229
Separate effects of dietary protein and fat on serum cholesterol levels: Another view of amino acid content of proteins. — <i>Albert Sánchez, Donna A. Rubano, Gerald W. Shavlik, Patrick Fagenstrom U. D. Register and Richard W. Hubbard</i>	239
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. II. Evaluación del valor nutritivo de sus proteínas. — <i>Ramón Pacheco, Mauro Valencia, Mónica Esparza, Rebeca Domínguez, Natalia González-Méndez y Enrique Ramos</i>	251
Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. III. Evaluación sensorial con panelistas no entrenados. — <i>Monica Esparza, Rebeca Domínguez, Natalia González-Méndez, Ramón Pacheco y Enrique Ramos</i>	261
Desarrollo de un producto alimenticio a base de arroz para uso infantil. — <i>E. Segura V., G. Mahecha L., B. E. Moreno S y G. S. Rodríguez</i>	278
Utilização do girassol (<i>Helianthus annus</i> , L.) na alimentação humana. I. Obtenção de farinha de girassol, concentrado proteico e complementação dessa farinha com aminoácidos lisina e metionina. — <i>Joclem Mastrodi Salgado e Eliza Chieus</i>	288
Utilização do girassol (<i>Helianthus annus</i> , L.) na alimentação humana. II. Enriquecimento do concentrado proteico de girassol com farinha de peixe e de gergelim. — <i>Joclem Mastrodi Salgado e Eliza Chieus</i>	297
Estudo da semente de gergelim (<i>Sesamum indicum</i> L.). I. Métodos para obtenção de farinha branca comestível. — <i>Joclem Mastrodi Salgado e Claudia M. M. Gonçalves</i>	306
Estudo da semente de gergelim (<i>Sesamum indicum</i> , L.). II. Emprego da farinha de gergelim em misturas proteicas. — <i>Joclem Mastrodi Salgado e Claudia M. M. Gonçalves</i>	312
TOXICOLOGIA DE ALIMENTOS	
Influencia de aflatoxina B ₁ sobre o crescimento de ratos submetidos a diferentes condições nutricionais. — <i>Maria Auxiliadora Gonçalves Lapa, Sergio Miguel Zucas, Francisca Martins Bion, Sylvia Ramos de Albuquerque Barros, Eunice Salzano Lago e Ramanita Mayer Varela</i>	323
LATINFOODS — COMPOSICION DE ALIMENTOS	
Estudio comparativo de la composición química, contenido, aminoacídico y valor nutritivo de la merluza fresca y congelada, y salada, secada y rehidratada. — <i>Ruth M. González Badano</i>	330
Caracterización de la calidad de algunas bolognas en México. I. Evaluación química y microbiológica. — <i>Rebeca Domínguez, Mónica Esparza, Ramón Pacheco y Natalia González-Méndez</i>	345
NUEVOS LIBROS.	357
NOTAS.	359
INFORMACION PARA LOS AUTORES.	363