

ARCHIVOS  
LATINOAMERICANOS  
DE  
**NUTRICION**



CONTINUACION DE  
ARCHIVOS VENEZOLANOS DE NUTRICION



ORGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD  
LATINOAMERICANA DE NUTRICION

# ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA  
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXXIV

MARZO, 1984

No. 1

## CONTENIDO

	Página
EDITORIAL .....	5
ARTICULOS GENERALES	
Mejoramiento genético de las leguminosas de grano de importancia en la dieta latinoamericana, y la soya. — <i>Alfredo Lam-Sánchez</i> .....	12
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION HUMANA	
Niveles de zinc y cobre en lactantes chilenos. — <i>Aldo Rodríguez E., Gonzalo Soto T., Guillermo Venegas V., Adela Castillo D. y Salomé Torres R.</i> .....	25
Calcio-creatinina en orina basal en relación a la ingesta de calcio y al estado nutricional en menores de tres años. — <i>Susana Zeni, María Luz P. M. de Portela, María del Carmen Morasso y María Esther Río</i> .....	35
Efecto de la suplementación de proteína animal y energía en la calidad proteínica de dietas a base de arroz y frijol en hombres adultos. — <i>Emilio Vargas, Ricardo Bressani, Delia A. Navarrete, J. Edgar Braham y Luiz G. Elías</i> .....	46
Body iron reserves of rural and urban Guatemalan women of reproductive age. — <i>Silvia Franzetti, Luis A. Mejía, Fernando E. Viteri and Edmundo Alvarez</i> .....	69
NUTRICION ANIMAL	
Uso de alimentos tratados mediante radiación gamma en la alimentación de la trucha arco iris ( <i>Salmo gairdnerii irideus</i> ). — <i>Jorge Grümberg N. y Osvaldo González C.</i> .....	83
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Obtención de harina y concentrado proteínico de semillas de <i>Melilotus albus</i> . Estudio de la calidad de la proteína. — <i>Sara I. L. de Mucciarelli, Mirta L. de Arellano, Manuela M. de Pedernera, José A. Cid y Carola E. García</i> .....	94
Digestibilidad de la proteína y energía de dietas elaboradas a base de arroz y frijoles en humanos adultos. — <i>Emilio Vargas, Ricardo Bressani, Delia Navarrete, J. Edgar Braham y Luiz G. Elías</i> .....	109
Elaboración, por programación lineal, de nuevos productos a partir de cereales y leguminosas. — <i>Martha N. Ballesteros, Gloria M. Yépez, María I. Grijalva, Enrique Ramos y Mauro E. Valencia</i> .....	130
Evaluación de la calidad proteínica de la harina de carne de tiburón tollo ( <i>Squalus acanthias</i> ). — <i>Armando Lacera Rúa, Ricardo Bressani, Mario Roberto Molina y J. Edgar Braham</i> .....	146
Factibilidad de empleo de diferentes agentes adhesivos para el desarrollo de productos a base de carne deshuesada de pescado. — <i>Oswaldo Quezada L. y Rafael A. Bello</i> .....	169
Relación entre la digestibilidad y el valor proteínico del frijol común ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ). — <i>Ricardo Bressani y Luiz G. Elías</i> .....	189
Inactivación térmica de las enzimas polifenoloxidasas y peroxidadas en acelga ( <i>Beta vulgaris</i> , ciclo). — <i>Raúl L. Garrote, Ricardo A. Bertone, Enrique R. Silva y Oscar A. Sbodio</i> .....	198
GRUPO PERMANENTE DE TRABAJO DE LA SLAN EN PROGRAMAS DE VIGILANCIA ALIMENTARIA-NUTRICIONAL .....	217
NUEVOS LIBROS .....	237
OTRAS PUBLICACIONES .....	241
NOTAS .....	243
CONTENIDO DE LA REVISTA TURRIALBA, Volumen 33, No. 2, 1983 .....	249
INFORMACION PARA LOS AUTORES .....	253

*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*).

El precio de la suscripción es de US\$ 40.00 (4 números), incluyendo gastos de correo.

*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*).

The subscription is US\$ 40.00 per yearly volume (4 issues), including mailing costs.

**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.

### **CORRIGENDUM**

Lamentamos el hecho de que por un involuntario error, el artículo titulado "Niveles de zinc y cobre en lactantes chilenos" (ALAN, Vol. 34, No. 1, 1984) correspondiente al mes de marzo del año en curso, se publicó citando el nombre de pila de uno de los autores equivocadamente (página 25).

Los autores del trabajo son: Aldo Rodríguez E., Gonzalo Soto T., Guillermo Venegas V., Carlos Castillo D. (y no Adela, como ahora lee), y Salomé Torres R.

De antemano se agradece a los lectores corregir el nombre del autor, Dr. Castillo, en la forma indicada, en la citada página.



# ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA  
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

---

---

VOL. XXXIV

JUNIO 1984

No. 2

---

---

## CONTENIDO

	Página
EDITORIAL . . . . .	265
ARTICULOS GENERALES	
Comportamento das polifenoloxidasas em alimentos. — <i>Maria Antonia Martins Galeazzi</i> . . . . .	269
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION HUMANA	
Zinco sérico em crianças brasileiras de famílias de baixa renda. — <i>Carmen Marino Donangelo e Carlos Eduardo Azevedo</i> . . . . .	290
Influencia de la nutrición en el desarrollo óseo del niño. — <i>María Luisa Alcázar, Jorge Alvear y Santiago Muzzo</i> . . . . .	298
Longitudinal study on head circumference of Pakistani infants in different socioeconomic groups. — <i>Saeed A. Nagra and Abrar H. Gilani</i> . . . . .	308
NUTRICION EXPERIMENTAL	
Valor nutritivo de dietas elaboradas a base de tubérculos y leguminosas consumidas en tres proporciones diferentes. — <i>Walter da S. Jorge João, Luiz G. Elías y Ricardo Bressani</i> . . . . .	315
Efectos del déficit de yodo durante la vida intrauterina y postnatal precoz en la síntesis de ADN en hígado, y encéfalo de ratas. — <i>Isabel Fábrega, María Mánquez, Laura Leiva, Abraham Zvaighaft y Santiago Muzzo</i> . . . . .	321
Evaluación biológica, en ratas y en humanos, de un producto lácteo sin lactosa, y de una fórmula proteínica de soya para uso en la desnutrición proteínico-energética. — <i>Angela Sotelo, Miguel Hernández y Silvestre Frenk</i> . . . . .	334

**BIOQUIMICA NUTRICIONAL**

- Padronização da técnica de radioimunoensaio com duplo anticorpo para determinação de hormônio de crescimento em plasma e hipófise de rato.** — *Pedro Achilles, Antonio Carlos de Carvalho Carneiro, Celso Guimarães Júnior, e Roberto Carlos Burini* . . . . . 343

**CIENCIAS DE ALIMENTOS**

- Calidad proteínica de productos comerciales de proteína texturizada de soya y de mezclas con carne.** — *Luiz G. Elías, J. Edgar Braham, Delia A. Navarrete y Ricardo Bressani* . . . . . 355
- The complementation effects on dietary protein of ungerminated and germinated mung bean (*Phaseolus aureus*) with rice.** — *Mohd Ismail Noor, Roberto Gómez Brenes, Ricardo Bressani and Luiz G. Elías* . . . . 366
- Ensayo acelerado de almacenamiento para el estudio de la pérdida de valor nutritivo de las proteínas de harina de porotos (*Phaseolus vulgaris*).** — *M. P. Buera, A. M. R. Pilosof y G. B. Bartholomai* . . . . . 376
- Flora bacteriana del paté de hígado en tres etapas de su elaboración.** — *Erika Gesche y Tamara Ordóñez* . . . . . 384

**ESTUDIOS DIETETICOS**

- Relación entre ingreso familiar, gasto y consumo de alimentos en zonas urbanas marginadas de Sonora, México.** — *Pablo Wong, Inocencio Higuera y Mauro E. Valencia* . . . . . 391

**NUEVOS LIBROS.** . . . . . 405

**NOTAS.** . . . . . 409

**CONTENIDO DE LA REVISTA TURRIALBA, Volumen 34, No. 3, 1983.** . . . . 413

**INFORMACION PARA LOS AUTORES.** . . . . . 417

# ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA  
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

---

---

VOL. XXXIV

JUNE 1984

No. 2

---

---

## CONTENTS

	Page
EDITORIAL . . . . .	265
GENERAL ARTICLES	
Behavior of polyphenoloxidases in foods. — <i>Maria Antonia Martins Galeazzi</i> .	269
RESEARCH PAPERS	
HUMAN NUTRITION	
Serum zinc levels in Brazilian children of low socioeconomic status. — <i>Carmen Marino Donangelo and Carlos Eduardo Azevedo</i> . . . . .	290
Influence of nutrition on the bone development in the child. — <i>Maria Luisa Alcázar, Jorge Alvear and Santiago Muzzo</i> . . . . .	298
Longitudinal study on head circumference of Pakistani infants in different socioeconomic groups. — <i>Saeed A. Nagra and Abrar H. Gilani</i> . . . . .	308
EXPERIMENTAL NUTRITION	
Nutritive value of diets based on tubers and legumes consumed in three different proportions. — <i>Walter da S. Jorge João, Luiz G. Elías and Ricardo Bressani</i> . . . . .	315
Effect of iodine deficit during intrauterine and postnatal life on liver and brain DNA synthesis, in rats. — <i>Isabel Fábrega, María Mánquez, Laura Leiva, Abraham Zvaighaft and Santiago Muzzo</i> . . . . .	321
Biological evaluation, in rats and humans, of a milk product without lactose, and of a soybean protein isolate for use in protein-energy malnutrition. — <i>Angela Sotelo, Miguel Hernández and Silvestre Frenk</i> . . . . .	334

## NUTRITIONAL BIOCHEMISTRY

- Rat pituitary and plasma growth hormone levels. Standardization of double antibody radioimmunoassay using  $^{125}\text{I}$  labelling. — *Pedro Achilles, Antonio Carlos de Carvalho C., Celso Guimaraes Jr. and Roberto Carlos Burini* . . . . . 343

## FOOD SCIENCE

- Protein quality of commercial texturized soybean protein and of meat mixtures. — *Luiz G. Elías, J. Edgar Braham, Delia A. Navarrete and Ricardo Bressani* . . . . . 355
- The complementation effects on dietary protein of ungerminated and germinated mung bean (*Phaseolus aureus*) with rice. — *Mohd Ismail Noor, Roberto Gómez Brenes, Ricardo Bressani and Luiz G. Elías* . . . . 366
- Accelerated tests for studying the loss of the nutritive value of bean flour (*Phaseolus vulgaris*) protein. — *M. P. Buera, A. M. R. Pilosof and G. B. Bartholomai* . . . . . 376
- Bacterial content of liver paté in three stages of elaboration. — *Erika Gesche and Tamara Ordóñez* . . . . . 384

## DIETARY STUDIES

- Relationship between household income, expense and consumption of food in urban marginal areas of Sonora, Mexico. — *Pablo Wong, Inocencio Higuera and Mauro E. Valencia* . . . . . 391

NEW BOOKS . . . . . 405

NOTES . . . . . 409

CONTENTS OF THE JOURNAL TURRIALBA, Volume 34, No. 3, 1984 . . 413

INSTRUCTIONS TO AUTHORS . . . . . 417

## EDITORIAL

### SUPRESION TEMPORAL DE LA SECCION "BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA"

*En esta oportunidad, tocaremos un punto de gran importancia para todos los lectores de Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ya que atañe a las razones que nos indujeron a adoptar la decisión de suprimir temporalmente la Sección "Bibliografía Latinoamericana" cuya inclusión data desde los inicios de ALAN y su precursor, Archivos Venezolanos de Nutrición, a la que dio vida el Dr. Werner G. Jaffé. La decisión no ha sido fácil, por lo que abundaremos un tanto el tema.*

*Como es de conocimiento general, el análisis a cargo de grupos dedicados a recopilar las publicaciones científicas en los diferentes Continentes del mundo, señala que América Latina es una de las regiones que cuenta con el menor número de ellas.*

*A pesar de que esta conclusión es válida hasta cierto punto, tampoco es del todo correcta, ya que las revistas que figuran en órganos de publicación de extractos o de listados de títulos de artículos, se ciñen a estándares ya establecidos que excluyen muchas revistas de índole nacional o regional que no satisfacen tales requisitos.*

*Entre las numerosas experiencias vividas como Editor General de ALAN, una de las más interesantes ha sido y continúa siendo el recibo de revistas procedentes de muchos países latinoamericanos, no conocidas a nivel internacional, lo que de hecho sugiere que sí se publica en este Continente. Es cierto que en algunos casos la calidad de los trabajos es tal vez mediocre y hasta podría calificarse de inadecuada, pero también lo es que en ellas se encuentran artículos científicos bien concebidos y preparados, que aportan información útil y valiosa. Estos muy bien podrían ser aceptados para publicación en revistas apreciadas en los círculos científicos, círculos en los que considero se cuenta Archivos.*

*Surge la pregunta, ¿por qué no fueron dados a conocer esos trabajos en ALAN o en otra revista reconocida? No hay una respuesta concreta al respecto. Uno de los factores bien podría ser la barrera del idioma, pero en mi criterio, es más probable que se haya debido a que desconocen nuestra revista. Ello ha sido preocupación constante para este servidor desde hace mucho tiempo; no obstante, su promoción exige la disponibilidad de recursos económicos que, en el caso de ALAN, vienen siendo sumamente restringidos durante los últimos años. Ajeno a ello, sin embargo, estima-*

*mos que sería de gran beneficio para América Latina en general que ALAN pudiese recopilar toda esa información que se publica a nivel local.*

*Me he permitido expresar estas reflexiones en vista de que, como antes dije, a partir de este número de Archivos, la Sección destinada a "Bibliografía Latinoamericana" no figurará en sus páginas. Nuestra decisión se basa en que al presente no existe un sistema adecuado que permita continuar incluyendo esa Sección. En forma muy breve, el problema crucial que presenta la Bibliografía Latinoamericana no es fácil de resolver, ya que no se trata solamente de llenar páginas con resúmenes de artículos de revistas nacionales, regionales, o locales.*

*Para dar a conocer una Bibliografía Latinoamericana efectiva se requiere del análisis de cada artículo, y de un sistema de recopilación que obviamente involucra personal capacitado para esa labor. Se han intentado varios mecanismos en el devenir de los años, pero éstos han fracasado, y es casi imposible que el Editor cumpla un trabajo que requiere personal a tiempo completo.*

*Evidentemente, la idea de incluirla en cada número de ALAN es algo que no puede descartarse fácilmente, ya que estamos más que conscientes de su valor, pero —si ha de cumplir su cometido— el convertirla en hecho exige mucha ayuda económica.*

*Por las razones apuntadas, estamos explorando dicha actividad con la esperanza de renovar las páginas destinadas a esta Sección en el pasado, y llevarlas al campo de la realidad.*

*Necesitamos su ayuda como miembro de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición o como simple receptor de ALAN. Unidos todos, ¿no creen nuestros lectores que podríamos lograrlo con las finalidades establecidas?*

*Ricardo Bressani  
Editor General*

# **ARTICULOS GENERALES**



## COMPORTAMENTO DAS POLIFENOLOXIDASES EM ALIMENTOS

*Maria Antonia Martins Galeazzi<sup>1</sup>*

Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola  
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil

### RESUMO

Um dos problemas encontrados na manipulação e processamento de várias frutas é o escurecimento enzimático e não enzimático. As polifenoloxidasas estão estreitamente ligadas a este primeiro aspecto merecendo, portanto, a devida atenção por parte dos pesquisadores e indústrias de alimentos. Essas enzimas, oxidando mono, di e polifenóis na presença de oxigênio molecular, produzem dopacromos que são polimerizados e originam melaninas como produto final. Entretanto, o seu mecanismo de ação é ainda obscuro. O presente artigo tem o objetivo de fornecer informações específicas quanto a natureza e comportamento das polifenoloxidasas encontradas em diferentes frutas e alimentos.

### INTRODUÇÃO

O reconhecimento da existência de enzimas como catalizadores do escurecimento, observado em diferentes espécies de alimentos, foi feito por Lindet (1) e Kastle (2).

A maioria das pesquisas desenvolvidas durante essa época foi relacionada com caracterizações qualitativas e métodos de inativação. Não havia, portanto, nenhuma preocupação com a elucidação de problemas concernentes ao mecanismo dos sistemas enzimáticos envolvidos, natureza dos substratos e mesmo mecanismo de formação de pigmentos escuros observados nos alimentos.

Várias teorias foram então propostas para explicar o escurecimento enzimático. Chodat (3) propôs que os tecidos vegetais que escureciam com a danificação, continham substâncias denominadas oxigenases. Em contato com o oxigênio do ar elas geravam peróxido de hidrogênio que, ativado pela peroxidase contida nas plantas, acarretava a auto-oxidação de muito fenólicos naturais.

---

Manuscrito original recebido: 8-6-83.

<sup>1</sup> Professor Assistente Doutor do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, CEP 13.100 - ESP, Brasil.

Em 1931, Onslow (4), interessado no escurecimento resultante da danificação de tecidos vegetais, mostrou a presença de orto-difenóis livres, com o isolamento de catecol dos tecidos. Em seus experimentos observou que o escurecimento dos derivados catecóicos no tecido vegetal era mais rápido do que em solução aquosa. No entanto, esse escurecimento não se verificava quando o tecido era previamente fervido. Este fato levou-o a postular a existência de uma enzima que catalizava a auto-oxidação de derivados fenólicos que continham grupos hidroxílicos funcionais na posição orto. Onslow postulou, em adição ao conceito emitido por Chodat, a presença de uma enzima que, em contato com o ar oxidava os orto-fenóis gerando, como um dos produtos de oxidação, um peróxido, ou mesmo peróxido de hidrogênio. Este, na presença de peroxidase geraria finalmente, cromogênios característicos que, em sua concepção, eram pigmentos oriundos da oxidação secundária de mono, di e polifenóis.

Em estudos sistemáticos, Onslow pode classificar essas enzimas em dois grupos: um que continham oxigenases e outro, que continha peroxidases vegetais onde as oxigenases e os catecóis não estavam presentes. O primeiro grupo, que causava rápido escurecimento, podia ser encontrado nas seguintes frutas: maçã, apricot, banana, cereja, figo, uva, pêssego e morango. O segundo grupo era encontrado nas frutas cítricas.

Entretanto, Szent-Gyorgyi (5) já havia demonstrado, em batatas, que essas reações de escurecimento poderiam ocorrer na ausência de peróxidos.

Nessa mesma época, foi estabelecida a distinção entre as oxigenases, que continham cobre na molécula e catalizavam a oxidação de fenóis pelo oxigênio molecular e as peroxidases que catalizavam a oxidação de fenóis pelo peróxido de hidrogênio e continham ferroporfirina.

De acordo com as diferentes reações de oxidação de mono, di e polifenóis, as fenolases foram classificadas posteriormente em três grupos:

- a) Tirosinase – catalisando a oxidação de monofenóis, especificamente tirosina.
- b) Cresolase – catalisando a oxidação de polifenóis.
- c) Lacase – (obtida do látex) catalisando diferentes reações de oxidação (6).

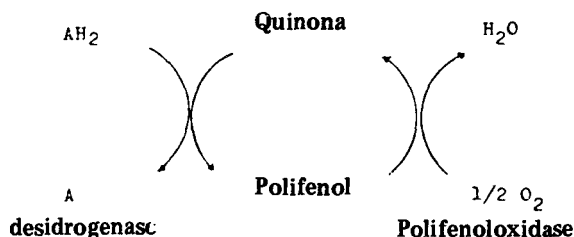
Atualmente, prefere-se o termo de polifenoloxidase ou fenolase para o sistema de oxidação de polifenóis. A nomenclatura correta, apresentada pela "Comissão on Enzymes of the International Union of Biochemistry" em 1965 (7), é: o-difenol  $O_2$  - oxidoreductase E.C.1.10.3.1. e p-difenol  $O_2$  - oxidoreductase E.C.1.10.3.2.

#### OCORRENCIA E POSSIVEL FUNÇÃO DA POLIFENOLOXIDASE

As polifenoloxidases ocorrem com muita frequência em tecidos vegetais e animais.

Palladin (8) foi o primeiro pesquisador a sugerir a existência, em vegetais, de um sistema polifenol-quinona como intermediário na oxidação de vários compostos orgânicos durante a respiração. Chamou esses polifenóis de cromogênios respiratórios. A polifenoloxidase, segundo esse autor, participaria no seguinte processo:

## Formula 1



Desta hipótese, surgiram quatro tipos de evidências, mostrando que as enzimas que oxidam fenóis servem como oxidase terminal em qualquer tecido (9):

- a) Ocorrência natural da enzima e seu substrato nos tecidos.
- b) Aumento da respiração após adição de substrato nos tecidos.
- c) Presença de enzimas acessórias que catalisam a redução da quinona intermediária.
- d) Diminuição da respiração terminal por inibidores específicos da fenolase.

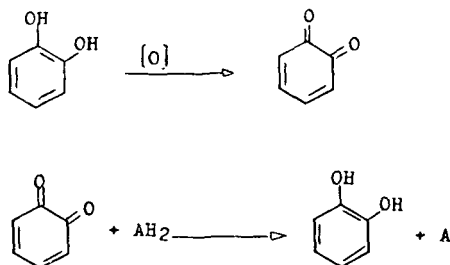
Desde a década de trinta, vários experimentos tentam implicar as fenolases como oxidases terminais da cadeia respiratória. Os pesquisadores têm observado os efeitos da adição de substratos catecóicos sobre a respiração dos tecidos vegetais. Com particular atenção aos quocientes de respiração e às variações em função de tempo, nas velocidades relativas de consumo de oxigênio (10-12).

Já se conhecia que o consumo de oxigênio aumentava com a danificação dos tecidos vegetais que continham fenolases (13).

As plantas, em geral, contém um grande número de orto-fenóis, tais como: polifenóis, flavonóides, taninos e alcalóides, sendo particularmente comum, a configuração o-difenólica necessária para a atividade da fenolase. Estas enzimas parecem ser inacessíveis à transformação dos substratos até que ocorra a danificação do tecido. Experimentos com extratos de plantas têm mostrado que grande número dessas substâncias existem em modelos que se modificam com o desenvolvimento da planta (14-17).

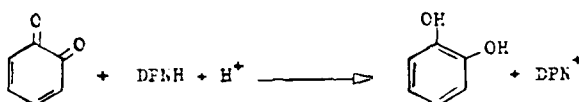
Estudos *in vitro* de sistemas enzimáticos e não enzimáticos, com a capacidade de reduzir as quinonas produzidas por fenolases, tem mostrado grande semelhança entre si e aparecem tanto em vegetais como em animais (18-20). Desta forma, a oxidação enzimática dos difenóis pode ser acoplada à oxidação do ácido ascórbico:

## Formula 2



Em outros sistemas (21, 22), a redução das o-quinonas, em presença de enzimas e coenzimas apropriadas, tem sido acoplada à oxidação de catecol.

Formula 3



Em síntese, apesar desses sistemas serem largamente distribuídos nos vegetais e animais, parece ser pouco evidente que a etapa final da respiração de células vegetais não danificadas, possa envolver as quinonas formadas pela ação da fenolase, pois esse estágio de respiração é catalisado por outras enzimas (23-25).

O problema foi revisto por Towers (26), mas não se pode elucidar a participação da polifenoloxidase como enzima terminal pois não é possível eliminar-se o sistema oxidase dos citocromos, sem afetar a atividade da fenolase.

A localização da polifenoloxidase nos tecidos, tem sido investigada em grande número de plantas. Samisch (27), mostrou que fatias de damasco, quando imersas em catecol, apresentavam escurecimento rápido na casca e feixes vasculares, principalmente na porção ventral e dorsal. A parte restante da polpa, compreendida pelo pericarpo da fruta, era muito lentamente escurecida. Hussein e Cruess (28), de forma semelhante, encontraram em trabalhos com uvas, uma menor atividade de polifenoloxidase no pericarpo do que nos feixes vasculares. Por outro lado, Arnon (29), mostrou que a polifenoloxidase estava quase totalmente localizada no cloroplasto da folha de espinafre.

Tolbert (30), demonstrou que a polifenoloxidase localizada no cloroplasto de grande variedade de plantas, incluindo espinafre, apresentava atividade enzimática na estrutura lamelar. A enzima encontrava-se em estado latente, e era estimulada tanto pela luz, como por dimetiluréia ou antimicina A.

Em trabalhos mais recentes, Anderson (31), mostrou que a localização da polifenoloxidase nos tecidos não é ainda bem compreendida. Enquanto se acredita ser a polifenoloxidase uma enzima solúvel, vários trabalhos mostram que a atividade é localizada na mitocôndria e cloroplasto. Walker e Hulme (32), preparando mitocôndria de casca de maçã, utilizando polivinilpirrolidona solúvel na extração, encontraram duas polifenoloxidases tanto na mitocôndria como na fração solúvel que, possivelmente, seriam isoenzimas. Entretanto, os autores sugerem que a distribuição observada poderia ser um artefato, possivelmente causada pela adsorção de o-difenoloxidase citoplasmática que diferia da fração particulada.

### PURIFICAÇÃO DE POLIFENOLOXIDASES

Sabe-se que durante a extração de fenolases em vegetais os compostos fenólicos ligam-se facilmente a proteínas, formando melanoproteínas, que são substâncias inibidoras de muitas enzimas (33). Uma vez que a natureza dos compostos fenólicos naturais varia entre os vegetais, tem-se procurado

rado encontrar sistemas de extração adequados para melhor solubilização da enzima.

Diversos solventes têm sido utilizados sendo que, de um modo geral, o emprego de soluções tamponadas neutras têm produzido boa extratibilidade. Um fator que determina o tipo de solução usada para extração é a natureza e localização da enzima na célula. Em batatas, as fenolases foram encontradas em maior concentração na fração solúvel (34), enquanto que em outros produtos, a enzima encontra-se ligada a cloroplastos ou à mitocôndria (35).

As etapas subseqüentes de purificação envolvem eliminação de fenólicos por precipitação em acetona a frio, fracionamento com solução de sulfato de amônio, e separação cromatográfica, tanto por colunas de adsorção como de troca iônica.

Walker e Hulme (36), utilizando casca de maçãs, mostraram que a polivinilpirrolidona insolúvel, quando associada a detergentes amônicos, aumenta a atividade fenolásica dos extratos.

Em preparações utilizando Triton X-100 seguidas de cromatografia em DEAE-celulose, foi possível separar duas frações enzimáticas que, por sua homogeneidade e semelhança nas propriedades físicas e químicas, foram consideradas isoenzimas (19).

Palmer (37) demonstrou que os extratos da polpa da banana madura, obtidos utilizando 10/o do detergente não iônico (Cutscum) em soluções tamponadas, desenvolviam alto índice de atividade enzimática. O detergente a seguir era liberado com a precipitação da enzima pela adição de 1.6 volumes de acetona a frio. Por cromatografia em DEAE-celulose, a enzima foi obtida com um grau de purificação de 10 a 12 vezes. Galeazzi (38) utilizando um congelamento prévio do precipitado acetônico, obteve após cromatografia em Sephadex G-100 e eletroforese preparativa em gel de poliácridamida uma fração enzimática de alta atividade específica com um grau de purificação final de 39 vezes.

Preparações purificadas de cogumelo, exibem dois tipos de atividade, dependendo da fonte e do método de purificação. Como regra geral, a relação da atividade catecolase e cresolase é de 10 para 80. Entretanto, têm sido publicadas relações extremas de 2 para 240. Para explicar essa multiplicidade de tipos de enzimas, Mallette e Dawson (39) sugeriram que as enzimas catecolases e as formas intermediárias eram resultados de degradações químicas, físicas ou fragmentações de uma enzima nativa, o que ocorreria durante o fracionamento. Entretanto, Smith e Krueger (40), purificaram extratos de cogumelos através de colunas de DEAE-celulose e hidróxi-apatita, mostrando a presença de diversos tipos de enzimas com alta atividade catecolase e cresolase. Electroforeses em gel de amido indicam que os diversos tipos de enzimas devem ocorrer naturalmente, e não resultar da degradação ou fragmentação de uma enzima nativa.

Kertsz e Zito (41) obtiveram, de cogumelo, preparações homogêneas, utilizando extrações e precipitações com acetona a frio, seguidas de precipitações fracionadas com soluções de sulfato de amônio e cromatografia em Sephadex G-100. As preparações finais apresentaram alta atividade específica. A tirosinase purificada mostrou um coeficiente de sedimentação correspondente ao peso molecular  $128,000 \pm 50/o$ . A enzima dissocia-se em sub-unidades, quando em solução saturada de uréia, as

quais são inativas. O conteúdo de cobre estimado foi de 0.200/o.

A tirosinase de *Neurospora*, obtida em estado homogêneo e cristalino, mostrou um pico de absorção característico a 280 nm e um "ombro" a 340 nm (42). Esta enzima apresentou-se em duas formas alélicas que se agregam irreversivelmente, com peso molecular  $63,000 \pm 2,000$ . A tirosinase purificada apresentou um coeficiente de sedimentação, em gradiente de sacarose, de 3.6 S, estando o peso molecular calculado entre 65,000 a 70,000.

Harel e Mayer (43), demonstraram, em preparações de cloroplastos de maçãs e, após tratamento com Triton X-100 e filtração em coluna de Sephadex G-100, três frações com atividade catecolase. O peso molecular estimado para as três frações foi de: 30,000 a 40,000, 60,000 a 70,000 e 120,000 a 130,000. Eletroforeses em gel de amido mostraram que a fração de peso molecular 60.000, tinha uma mobilidade eletroforética menos lenta em direção ao ânodo.

Com preparações de fenolase de batatas foram separados dois componentes por cromatografia em DEAE-celulose (44). Um dos componentes foi purificado por eluição em coluna de Sephadex G-100 e mostrou ser homogêneo por ultracentrifugação com um coeficiente de sedimentação de 5.9 S. O espectro de absorção da enzima apresentou um pico a 275 nm e um "ombro" na região de 320 nm a 380 nm. Essa enzima, submetida a luz fluorescente em comprimento de onda de excitação de 370 nm, mostrou alta fluorescência.

Gregory e Bendall (45) purificaram a polifenoloxidase de chá 5,000 vezes através de cromatografia de troca iônica e adsorção. Em um estágio intermediário de purificação, a enzima apresentou quatro frações solúveis de coloração amarela. Os autores acreditaram que essas frações representavam complexos de uma enzima básica, com produtos de oxidação de ácidos fenólicos. Após a remoção dos materiais complexantes, as frações tornaram-se de coloração azul e divididas em duas espécies: A e B. A enzima da espécie A mostrou uma absorção máxima a 279 nm e 611 nm com um "ombro" a 330 nm. O peso molecular calculado por difusão e sedimentação foi  $144,000 \pm 16,000$ , sendo que o teor de cobre encontrado foi de 0.320/o.

Galeazzi *et al.* (38) em fração purificada de polifenoloxidase de banana encontraram uma só espécie de enzima que apresentou um espectro de absorção com um máximo em 279 nm, e um ombro entre 320 e 350 nm, sendo que a relação entre a absorção em 330 nm e 279 nm foi de 0.11. A cromatografia em papel dessa fração mostrou que a absorção em 330 nm correspondia a presença de ácido clorogênio, complexado a molécula da enzima. O peso molecular calculado por gradiente de sacarose foi  $60,000 \pm 2,000$  correspondendo a um dímero com subunidade de PM igual a  $30,000 \pm 1,000$ . O teor de cobre encontrado foi insignificante evidenciando a ausência desse ion na molécula da enzima.

A evidência de ácido clorogênico como um fenólico ligado a moléculas protéicas foi sugerido por Amorim e Josephson (46). Preparações de extratos dialisados de dois tipos de cafés: Mole e Rio, mostraram por eletroforese em gel de agar, diferenças quanto à mobilidade electroforética das proteínas. Os autores relacionaram essas diferenças à presença de polifenoloxidases mais ativa e ligada ao ácido clorogênico (47).

Experimentos conduzidos com focalização isoeétrica em gel de po-

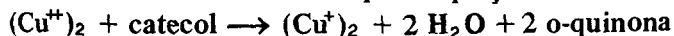
liacrilamida mostraram que os extratos de café tratados com uréia 7M, apresentaram ponto isoelétrico superior aos extratos de café não tratados, o que sugere a provável presença de ácido clorogênico ligado à proteína de maneira não covalente. Sabir, Sosulski e Finlayson (48), encontraram que proteínas de girassol podem estar ligadas por ligações covalentes e não covalentes ao ácido clorogênico e que, a uréia, tem efeito dissociante do ácido ligado de maneira não covalente.

### MECANISMOS PROPOSTOS PARA A REAÇÃO ENZIMÁTICA

A concordância de que a o-benzoquinona é a primeira etapa no processo de oxidação de catecóis a melanina em presença de polifenoloxidasas é geral. Estas são enzimas conhecidas como proteínas que contém cobre, catalisando as seguintes reações:

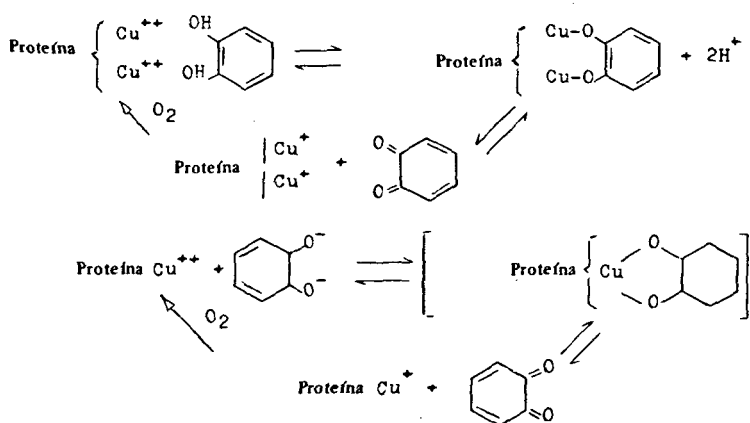
- a)  $4 \text{ Cu}^{++} - \text{proteína} + \text{catecol} \rightarrow 4 \text{ Cu}^{+} - \text{proteína} + 2 \text{ o-benzoquinona} + 4 \text{ H}^{+}$   
 b)  $4 \text{ Cu}^{+} - \text{proteína} + 4 \text{ H}^{+} + \text{O}_2 \rightarrow 4 \text{ Cu}^{++} - \text{proteína} + 2 \text{ H}_2\text{O}$

Warburg (49) sugeriu que as fenolases deveriam conter dois átomos de cobre no centro catalítico e que a equação seria:



Entre tanto, o mecanismo de utilização do oxigênio molecular não está claro nesta expressão. Segundo Mason (9), as reações na superfície catalítica deveriam ser:

#### Formula 4

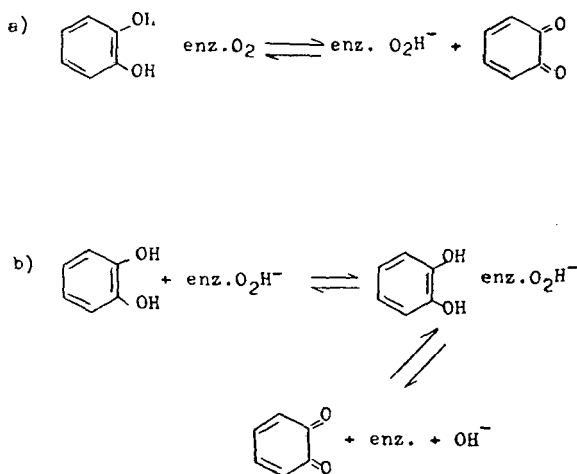


Contudo, deve-se lembrar que as fenolases na presença de o-difenóis ativam o oxigênio para hidroxilação do anel. Há razões para se acreditar que o oxigênio age de forma mais direta do que a proposta nas reações acima (50).

As proposições de Lu Valle e Goddard (51) para o mecanismo de

desidrogenação dos o-difenóis pela fenolase e oxigênio, enfatizam a possibilidade de formação de um complexo ternário de enzima-substrato-oxigênio à semelhança do que ocorre com a oxidase ascórbica que, na desidrogenação do ácido ascórbico, catalisa uma reação semelhante à desidrogenação de o-difenóis por fenolases.

### Formula 5



#### a) Formação de Melanina

Quimicamente as melaninas são polímeros amorfos, insolúveis, frequentemente ligados a proteínas. São altamente estáveis e têm sido isolados na forma não modificada em fósseis de 150 milhões de anos. As reações envolvidas na formação de melaninas têm sido propostas em modelos químicos (52). Um deles é o mecanismo de oxidação de tirosina a dopa (Formula 6).

Em animais, a hidroxilação da tirosina a dopa pela tirosinase é conhecida há muitos anos. A enzima tem duas atividades: uma, cresolase, que catalisa a hidroxilação de tirosina a dopa e a catecolase que catalisa a oxidação da dopa em dopaquinona, após o que segue o fechamento do anel, seguido por oxidação sucessiva até formação de melanina como produto final (53) (Formula 7).

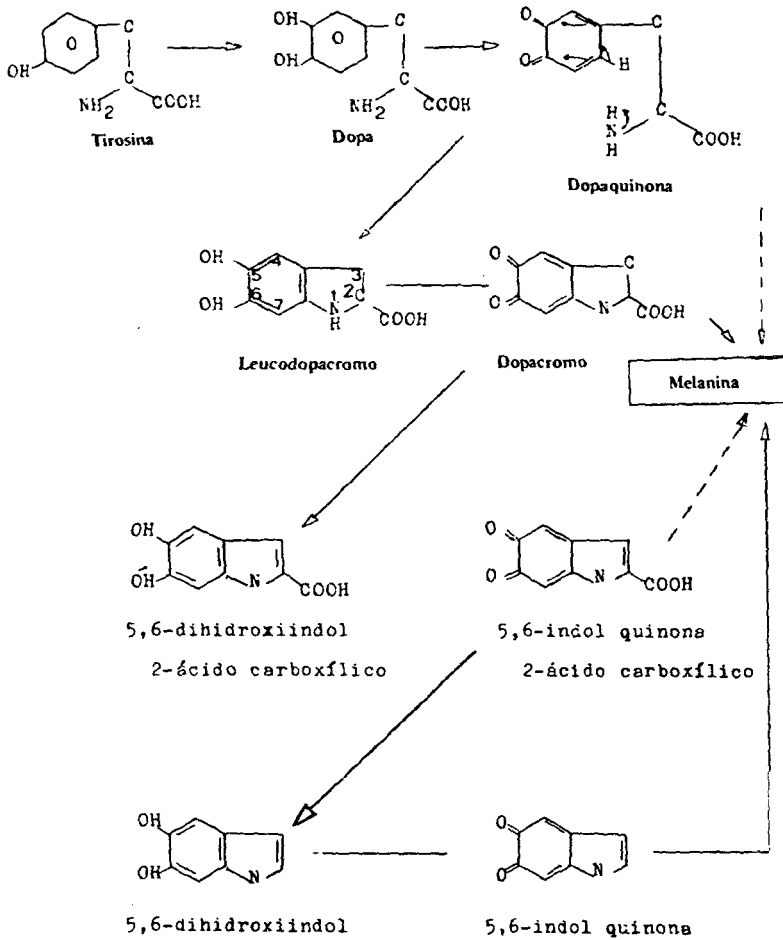
Outros mecanismos foram propostos para a oxidação enzimática de difenóis. Raper (54) propôs um mecanismo para a conversão enzimática de 3,4-dihidroxi-fenilalanina (dopa) a melanina (Formula 8).

Em trabalhos com polifenoloxidase de banana, Palmer (37) propôs um mecanismo para a oxidação de dopamina, baseado em determinações espectroquímicas dos intermediários formados durante a reação (Formula 9).

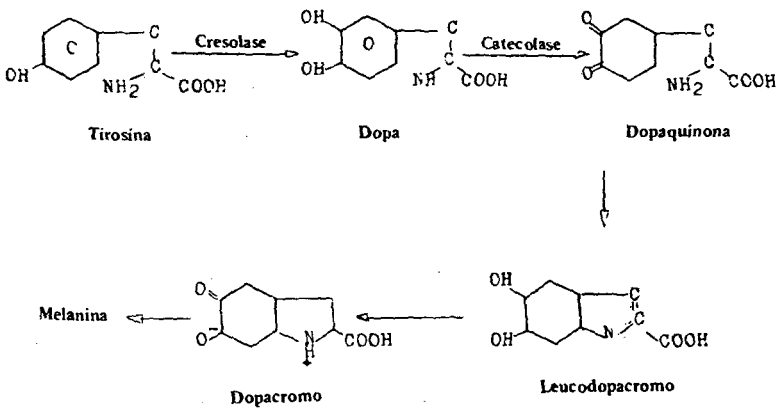
#### b) Formação de Intermediários

Alguns intermediários da ação de polifenoloxidases sobre o-difenóis,

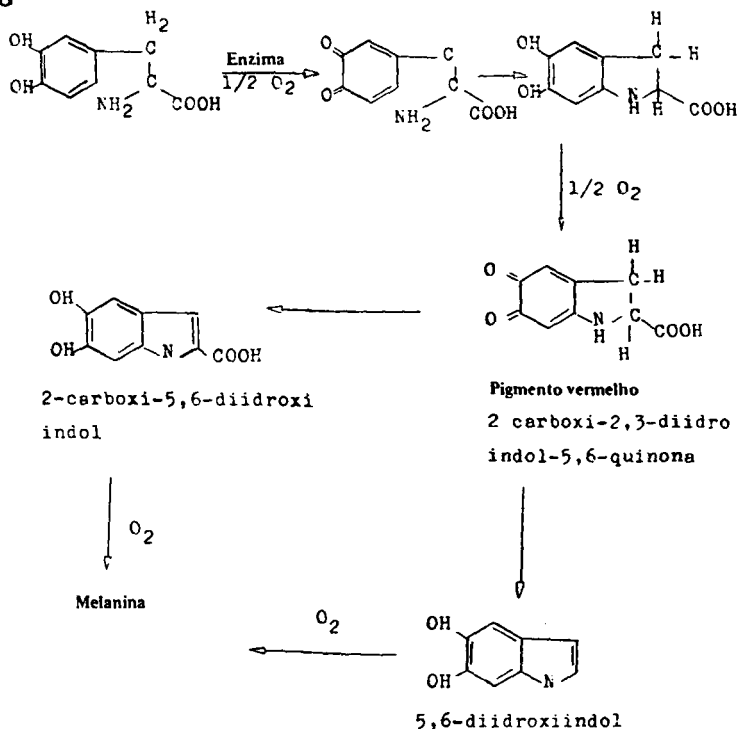
**Formula 6**



**Formula 7**



## Formula 8



como dopa e dopamina, já são conhecidos. Entretanto, os intermediários oriundos da oxidação do catecol ainda permanecem desconhecidos. O estudo desses intermediários tem sido realizados através de cromatografia em papel e por métodos manométricos (55). O composto intermediário isolado em baixa concentração de substrato foi um pigmento vermelho púrpura. Em altas concentrações de substrato, formam-se três isômeros tetra-hidroxi-difenilos junto com outro composto de estrutura ainda desconhecida.

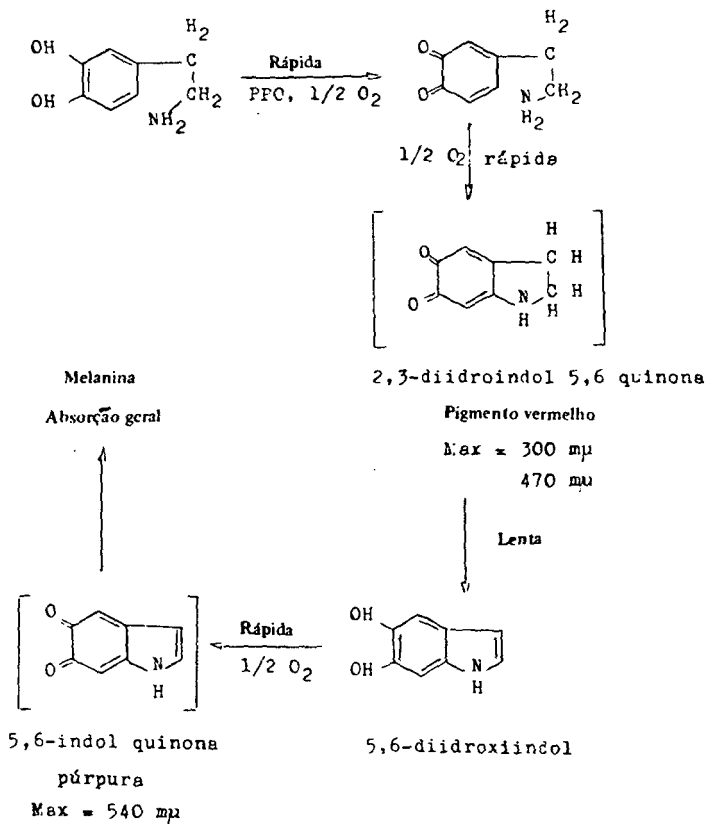
Com a ressonância das quinonas, tendem a se formar cargas positivas no anel aromático (9). Por outro lado, as quinonas reagem com aminas tanto por substituição nuclear como por formação de quinonimina (Formula 10).

Tendo em vista que as reações de aminoácidos com o-quinonas resultam em derivados análogos (56), supõe-se que os intermediários da reação da polifenoloxidase com catecol apresentam um modelo semelhante, que tem sido de difícil isolamento e, conseqüentemente, sua estrutura também difícil de ser estabelecida, devido à alta instabilidade dos produtos (9).

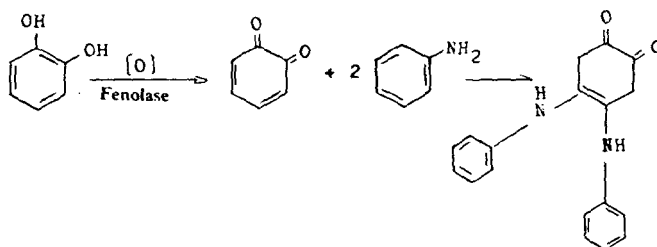
## ESPECIFICIDADE A SUBSTRATOS

A maioria das polifenoloxidases vegetais apresentam atividade catecolase com orto-difenóis simples. De um modo geral, considera-se a atividade tirosinase de menor importância, uma vez que são raros os substratos fenólicos

## Formula 9



## Formula 10



que apresentam ausência de grupos orto-difenólicos. Corroborando essa afirmação, Brown e Ward (57) isolaram por cromatografia em DEAE-celulose, três componentes ativos da tirosinase de camundongo Harding Pessey. Estes apresentaram atividade para tirosina e dopa, sendo quatro vezes mais ativos para dopa. Através de seus trabalhos experimentais, sugeriram que a mesma enzima pode ser responsável pela oxidação de mono e difenóis.

Onslow (58), em trabalhos realizados com pêssegos, isolou diversos

compostos fenólicos e mostrou a presença de enzimas oxidantes. Posteriormente, Reyes e Luh (59) demonstraram que nessa fruta, a atividade polifenoloxidase era mais efetiva ao se utilizar catecol como substrato. Wong, Luh e Whitaker (60), estudando iso-enzimas de pêssegos mostraram atividade para o-difenóis com maior especificidade para o-catecol e o-catequina. Nenhuma atividade para monofenóis e m-fenóis foi encontrada nessas preparações.

Walker (61) encontrou que polifenoloxidases de pera e maçã eram semelhantes quanto à especificidade a substratos representados por um grande número de polifenóis, incluindo ácido clorogênico. Uma alta especificidade para ácido clorogênico e 4-metil-catecol foi encontrada em tubérculos de batata (62) e a atividade da enzima no extrato cru era semelhante para ácido clorogênico e catecol, enquanto que, na preparação purificada a atividade foi maior para o ácido clorogênico, sendo inibida por altas concentrações de catecol.

Dizik e Knapp (63), em extratos purificados de abacate, separaram a enzima em cinco frações. Os autores concluíram que a atividade de uma das frações era responsável pela real atividade obtida no extrato cru e purificado. Isto porque ela se mostrou mais ativa para todos os substratos, bem como desenvolveu coloração muito mais rapidamente que para as outras frações. Racusen (64) encontrou, em folhas de *Phaseolus vulgaris*, que a oxidase apresentava especificidade para ácido caféico, dopa e pirgalol, enquanto que nenhuma atividade foi encontrada para tirosina.

Griffiths (65) mostrou que o escurecimento de bananas era uma oxidação de dopamina. Estudos mais intensivos realizados por Palmer (57) mostraram que nessa fruta a polifenoloxidase tinha especificidade somente para o-difenóis com maior afinidade para dopamina. O autor menciona que no estado semi-purificado, a enzima apresentava-se mais ativa para L-dopa do que para D-dopa como substrato. Essa diferença da especificidade foi confirmada em BPO purificada de banana nanica (66). Apesar da enzima ser mais específica para dopamina ( $k_m = 1.7 \times 10^{-4}$ ) o qual é considerado o seu substrato natural, ela evidenciou ser estereoespecífica, com maior afinidade para os substratos na forma L. Entre os substratos analisados a L-dopa, D-dopa e D-catequina mostraram  $k_m$ s iguais a  $6.6 \times 10^{-3}$ ;  $2.5 \times 10^{-2}$  e  $2.5 \times 10^{-2}$  moles/litro respetivamente.

Montgomery e Sgarbieri (67), estudando a ação de diversos substratos em diferentes partes da banana madura, mostraram que o catecol e 4-metil catecol eram melhores substratos para a polifenoloxidase. A enzima apresentou maior especificidade para dopamina, dentre os fenólicos estudados. Os autores sugerem que a diferença em especificidade encontrada para dopamina prendeu-se ao fato do grupo carboxílico da dopa induzir um decréscimo na atividade enzimática.

Em trabalhos recentes, Aragão e Bacila (68) mostraram que a polifenoloxidase de *Biomphalaria glabrata*, embora com baixa especificidade para os substratos estudados, mostrou-se mais ativa para di e tri-fenóis, bem como para várias aminas aromáticas.

Os autores sugerem que a posição do aminogruppo das aminas fenólicas influi na formação do complexo enzimático. Assim, a presença de grupos metilos, hidrofóbicos modificariam a estrutura do substrato, produzindo uma melhor adaptação do centro ativo da enzima. Por outro lado, os mesmos autores mostraram que as aminas aromáticas, embora possuindo o

grupo hidroxila na cadeia, não eram substratos para a polifenoloxidase.

#### EFEITO DE INIBIDORES

Vários inibidores têm sido utilizados para investigar o mecanismo de inibição das reações de oxidação provocadas pela fenolases.

Há muito tempo sabia-se que o ácido ascórbico era oxidado por quatro sistemas:

- a) Oxidação direta pela oxidase do ácido ascórbico (69).
- b) Oxidação direta pela o-quinona gerada da ação de peroxidase, por flavonas na presença de peroxidase e peróxido (70).
- c) Oxidação direta por o-quinonas formadas por catecol e polifenoloxidase (71, 72).
- d) Oxidação direta pelo sistema de citocromos (73).

Em trabalhos realizados com maçãs, foi observado que apesar da existência de ácido ascórbico como substrato natural da fruta, não foi localizada nenhuma atividade ascorbase (74). Por outro lado, verificou-se a presença de polifenoloxidase e peroxidase nos tecidos dessa fruta. Concluiu-se, então, que a oxidação do ácido ascórbico estava intimamente relacionada com o escurecimento, sendo que este não ocorria antes de todo o ácido ascórbico ter sido oxidado.

Em anos posteriores foi proposto como regra geral, que o ácido ascórbico seria um agente redutor para qualquer o-quinona produzida durante a oxidação de substratos fenólicos.

Drueger (75), estudando o efeito do ácido ascórbico na velocidade de reação da oxidação da tirosina pela polifenoloxidase de cogumelo, concluiu que o ácido tinha inicialmente um efeito pró-oxidante no sistema, passando a anti-oxidante na ação sobre o produto da reação. Tem sido mostrado que a concentração de íons cúpricos influi nas velocidades de oxidação dos sistemas polifenoloxidases, na presença de ácido ascórbico (76, 77).

Em estudos com batatas (78), observou-se que o ácido ascórbico, quando presente no sistema catecol-polifenoloxidase, provoca um retardamento no desenvolvimento da cor até que haja oxidação completa do ácido. Por outro lado, esses autores mostraram que a presença desse inibidor afeta de forma irreversível o centro ativo da enzima, dependente de cobre iônico.

Los grupos sulfidrilos desempenham papel importante na formação biológica da melanina. O problema de uma ligação química das melaninas às proteínas não está, até o momento, resolvido.

A tendência de numerosas quinonas simples combinarem-se com grupos aminados e com tióis, tem levado à hipótese de uma condensação das quinonas com esses grupos livres nas proteínas. Os grupos sulfidrilos estão presentes nas queratinas e sabe-se que a presença de enxofre nas melaninas, obtidas pela digestão pancreática de melano-proteínas naturais, foi interpretada como a indicação da participação deste elemento na ligação melano-proteína (79). A ação inibitória dos tióis sobre a melanogênese *in vivo* ou *in vitro*, já é conhecida (80).

Mason (81) mostrou não ter observado nenhuma reação inibitória de tióis com a dopamina, mas assinala modificações espectrofotométricas do

indol 5,6-quinona em presença de glutatona, que ele atribuiu a uma forma oxidada destes dois compostos. Posteriormente, foi mostrado que a oxidação da tirosina ou da dopa pela polifenoloxidase, em presença de um excesso de glutatona ou de cisteína, conduziu à formação de um composto de adição da dopamina com o tiol (82). O dopacromo formado em presença de glutatona re-arranja-se tanto em 5,6-diidroxi indol a pH 6,8, como em 2-diidroxi indol a pH mais baixo, que são capazes de reagir com o tiol em meio oxidante. Por outro lado, mostrou que a oxidação da dopa pela polifenoloxidase em presença de glutatona ou cisteína em quantidades próximas à estequiométrica, gera um complexo misto destas substâncias com seus produtos de oxidação.

Experimentos desenvolvidos com cromatografia em papel, mostraram, em extratos de maçã, o efeito inibitório da cisteína e glutatona, utilizando ácido clorogênico como substrato para a polifenoloxidase. A mistura desses compostos inibiu o escurecimento pela formação de um complexo cisteína-ácido clorogênico, identificados por fluorescência no cromatograma (83). Em estudos com polifenoloxidase de batatas, a ação da cisteína não se mostrou eficaz ao utilizar ácido clorogênico como substrato para a enzima (84). Este composto inibidor mostrou ser efetivo para a ação tirosinase, enquanto que, para a inibição da reação com dopa, foram necessárias concentrações mais elevadas.

Dentre os agentes sulfurados, o mais comumente utilizado é o SO<sub>2</sub>. Ponting e Johnson (85) acreditavam que o SO<sub>2</sub> inibia a atividade enzimática simplesmente pela sua capacidade redutora, agindo competitivamente com o oxigênio. Diemair, Koch e Hess (86), mostraram que quando a polifenoloxidase de batata era tratada com SO<sub>2</sub> a enzima era inativada antes que fosse adicionado o substrato.

Embs e Markakis (87), trabalhando com polifenoloxidase de cogumelos, mostraram que o sulfito agia como um inibidor pela combinação com o-quinonas, prevenindo, portanto, a condensação até melanina. Os autores verificaram também que uma pré-incubação do sulfito com a enzima inibia sua capacidade de reagir com o substrato. Confirmando essa proposição, Wong, Luh e Whitaker (60), mostraram que em pêssegos o metabissulfito de sódio provocava uma diminuição na absorção da reação de oxidação a 420 nm, devido à redução de o-benzoquinona. Essa diminuição dependia da concentração do inibidor utilizado.

O cobre desempenha papel importante no centro catalítico da enzima (88-90). Assim sendo, têm-se procurado investigar os compostos capazes de agir como quelantes de cobre e, conseqüentemente inibir a atividade enzimática.

Reyes e Luh (59), em estudos com polifenoloxidase de pêssegos, mostraram que ditiocarbamato, bem como 1-fenil 2-tiouréia, são quelantes muito efetivos de cobre e que, fluoroglucinol, na concentração de 3 mM era um inibidor competitivo para a polifenoloxidase.

Pomerantz (91) pôde demonstrar que tanto o ditiocarbamato como o cianeto de potássio produziam inibição de polifenoloxidase de melanoma de "hamster", cuja atividade era restaurada pela adição de Cu<sup>++</sup>. Também mostraram que a adição de ditiocarbamato produz um período de retardamento na formação do dopacromo intermediário.

Polifenoloxidase de duas espécies de uvas, parcialmente purificada, parece degradar antocianina *in vitro*, sendo esta degradação inibida por

ácido ditiocarbâmico, cianeto de potássio e tiouréia (92). Prabhakaran, Harris e Kirchheimer (93) mostraram que o ácido ditiocarbâmico penetra no *Micobacterium leprae* inibindo completamente a atividade da polifenoloxidase.

Em o-difenoloxidase de folha de fumo, foi demonstrado, utilizando ácido clorogênico como substrato, que vários outros compostos capazes de reagir com quinonas afetam a oxidação do ácido clorogênico. A cor dos produtos formado e o oxigênio absorvido na sua formação, sugerem que a quinona reage com estes compostos do mesmo modo que reagem com quinonas simples (94).

Macrae e Duggleby (72), em estudo com fenolases de batata, mostraram que os diferentes tipos de inibição e as constantes de inibição encontradas com tirosina e dopa como substratos, indicam a existência de dois centros ativos distintos: um para oxidação de o-difenóis e outro para hidroxilação de mono-fenóis. Os autores sugerem uma teoria na qual os dois centros ativos estão em diferentes moléculas de proteína. Se cada uma das moléculas tiver um centro adicional que liga fenóis ácido e ácidos carboxílicos, então, substâncias ligadas a este centro inibidor poderão reagir com o centro catalítico. Considerando a forma oxidada de o-difenóis, inibidores o-difenóis poderão ligar-se em ambos os centros. Se a afinidade para o centro catalítico é muito maior do que para o centro inibidor, observar-se-á inibição competitiva e, se a afinidade para o centro inibidor foi muito maior do que para o centro catalítico, será observada inibição não competitiva. Consequentemente, se as afinidades para os dois centros são aproximadamente iguais, será observada inibição mista. Inibidores monofenóis ligar-se-ão no centro inibidor, dando uma inibição não competitiva ou mista. De forma semelhante, para a hidroxilação do monofenol, o-difenóis e ácidos carboxílicos, podem agir como inibidores competitivos, não competitivos ou mistos.

Em trabalhos com tirosinase de melanoma de camundongo Harding Passey, foi visto que a oxidação de dopa a dopaquinona, catalisada por tirosinase, foi inibida por tirosina (95). Estudos cinéticos sugeriram a existência de dois centros ativos na molécula da tirosinase; um onde a dopa é oxidada e outro, onde a tirosina é ligada mas não oxidada durante a primeira fase da reação.

Em experimentos recentes, foram isolados dois inibidores de tirosinase de cogumelo (96). Um deles, de peso molecular 1,200 apresentou inibição competitiva para dopa como substrato, o outro, apresentou inibição não competitiva para a tirosinase. Os autores sugeriram que a incubação prolongada do primeiro inibidor com a enzima provocava mudanças conformacionais na molécula.

#### FORMAS MOLECULARES ATIVAS

O termo isozima tem sido usado para descrever as diferentes formas moleculares em muitos sistemas enzimáticos.

Jornvall (97), mostrou que diferentes enzimas que exibem especificidades semelhantes, apresentam diferentes perfis eletroforéticos e cromatográficos. Para muitas dessas isozimas é evidente, agora, que são formas relacionadas da mesma enzima.

Kaplan (98), apresentou extensa revisão de isozimas de desidrogenase

lática a fim de estudar, em base molecular, a natureza das formas múltiplas das enzimas. As formas moleculares múltiplas podem ser oriundas de diferentes agregados de uma determinada enzima. A estrutura dos agregados pode ser de tal natureza, que a carga na superfície seja diferente a ponto de produzir diferenças nas suas mobilidades eletroforéticas. O termo "conformers" foi descrito pelo autor para descrever um grupo de formas múltiplas de enzimas que possuem a mesma sequência de aminoácidos mas, diferem em sua conformação. Esta diferença na conformação produz variações eletroforéticas bem como diferentes comportamentos em resinas de troca iônica. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar as múltiplas formas moleculares da polifenoloxidase.

Harel e Mayer (43), sugeriram que as três frações de catecol oxidase purificadas de cloroplastos de maçã, eram resultantes da agregação de sub-unidades de uma mesma enzima. Estas frações quando submetidas a tratamento com cloreto de sódio e Triton X-100 e estocadas entre 2 a 40°C, se interconvertiam.

Constantinides e Bedford (99), usando eletroforese em gel de poli-acrilamida, estudaram o sistema polifenoloxidase em tecidos de cogumelos, batatas e maçãs. O sistema enzimático mostrou um fenômeno de formas múltiplas apresentando diferenças de especificidade e características próprias a cada espécie e variedade estudadas. O sistema polifenoloxidase de cogumelo apresentou nove formas múltiplas com alta atividade para DL-dopa e três formas reativas com L-tirosina. Em batatas, foram encontradas onze formas com atividade para DL-dopa enquanto que, em maçãs, três formas eram ativas com esse substrato. Os autores verificaram que as formas de polifenoloxidase de cogumelo eram diferentemente afetadas pela temperatura. A atividade de todas as formas foi destruída após um minuto a 100°C, enquanto que, algumas das formas submetidas a 40°C, 50°C e 60°C eram destruídas após 60 minutos e outras, quebradas em fragmentos distintos. A 70°C, a banda de maior mobilidade foi estável por mais de 60 minutos.

Jolley e Mason (100), estudando formas múltiplas de tirosinase de cogumelo, encontraram que as isozimas apresentaram um certo grau de interconversão dependendo das condições de força iônica, pH e concentração protéica. Os seus resultados indicaram que para determinadas condições existia um equilíbrio entre 5 a 6 isozimas. A separação das isozimas de tirosinase mostrou uma mistura de formas poliméricas com predominância de um tetrâmero (101). A dissociação é facilitada a 50°C sob alta força iônica e em presença de 0.25% de dodecil sulfato de sódio. Em eletroforese de gel de poli-acrilamida as bandas foram identificadas como monômeros, dímeros e tetrâmeros. Bouchilloux, McMahill e Mason (102) mostraram também que a tirosinase de cogumelo era composta por formas múltiplas com aparente dissociação em sub-unidades ativas, na presença de dodecil sulfato de sódio.

Horowitz, Fling e McLeod (103) mostraram a presença de diversas formas de tirosinase em *Neurospora crassa*, distintas pela termo-resistência e propriedades eletroforéticas. Posteriormente, Fling, Horowitz e Heinemann (42), em preparações homogêneas na forma cristalina, isolaram duas tirosinases alélicas S e L. O peso molecular de ambas foi de  $63,000 \pm 2,000$  e pareciam se agregar reversivelmente em solução. A forma S era consideravelmente mais termolábil que a forma L.

Extratos acetônicos de pêssegos mostraram por eletroforese em gel de poli(acrilamida), quatro bandas com atividade de polifenoloxidase. Essas quatro isozimas isoladas A, B, C e D, diferem pela termoestabilidade, sendo que a forma D foi a mais estável a 76°C (60). Por outro lado, a isozima A apresentou-se resistente aos inibidores metabissulfito de sódio, glutatona, ácido ascórbico e ditiocarbamato.

Estudos recentes, realizados com eletroforese em gel de poli(acrilamida) mostraram nove isozimas com atividade de polifenoloxidase no interior da polpa de banana, oito no exterior da polpa e dez na casca (67). As isozimas do interior e do exterior da polpa mostraram-se iguais diferindo da casca em apenas uma. Compostos químicos como ditiocarbamato de sódio, cisteína, 2-mercaptoetanol e cianeto de sódio inibiram todas as isozimas de polifenoloxidase, enquanto que metabissulfito de sódio inibiu apenas algumas.

Harel, Mayer e Lehman (104) observaram formas múltiplas de catecol oxidase de uva. Eletroforeses em gel de poli(acrilamida) mostraram oito bandas ativas, que eram interconvertidas durante o isolamento, estocagem, tratamento com uréia e pH ácido. Essa interconversão deveria originar-se da dissociação da enzima em sub-unidades. A análise de várias bandas sugeriram que algumas formas da enzima teriam o mesmo peso molecular mas difeririam na distribuição de cargas.

## SUMMARY

### BEHAVIOR OF POLYPHENOLOXIDASES IN FOODS

One of the problems in the handling and processing of various kinds of fruits, is the enzymatic and nonenzymatic browning. The polyphenoloxidases are strictly related with the first aspect, needing therefore, more attention from the scientists and food industries. These enzymes oxidize mono, di and polyphenols in the presence of molecular oxygen, producing dopachromes which are polymerized to melanins as a final product. Their mechanism of action, however, is still unknown. The purpose of this article is to provide specific information as to the nature and behavior of the polyphenoloxidases found in different kinds of fruits and foods.

## BIBLIOGRAFIA

1. Lindet, M. Sur l'oxidation du tannin de la pomme à cidre. *Compt. Rend.*, 120: 370, 1958.
2. Kastle, J. H. The oxidases and other oxygen-catalysts concerned in biological oxidation. *Hyg. Lab. Washington Bull.*, 59:1, 1910.
3. Chodat, R. Darstellung und Nachweis von Oxydasen und Katalasen pflanzlicher und tierischer Herkunft methoden ihrer Anwendung. In: **Emil Abderhalden's Handbuch der Biologischen Arbeits Methoden**. Berlin, Urban und Schwarzenberg, 1936. (Abst. IV, Teil I, 319-410).
4. Onslow, M. W. *The Principles of Plant Biochemistry*. Cambridge, England, Cambridge University Press, 1931.
5. Szent-Gyorgyi, A. Observation on the function of peroxidase system and chemistry of the adrenal cortex. *Biochem. J.*, 22:1387, 1928.

6. Graubard, M. A comparative study of some oxidases and peroxidases. *Enzymologia*, **5**:332, 1939.
7. International Union of Biochemistry. **Enzyme Nomenclature, Recommendations (1964) of the International Union of Enzymes Together with Their Units and the Symbols of Enzyme Kinetics**. New York, N. Y., Elsevier Publishing Co., 1961.
8. Palladin, V. I. The respiration of plants and its relationship to the transformation of substances and energy in plants. *Zap. Akad. Nauk. SSSR*, **8**:37, 1930.
9. Mason, H. S. Comparative biochemistry of the phenolase complex. *Adv. Enzymol.*, **16**:105, 1955.
10. Boswell, J. G. & G. C. Whitting. A study of the polyphenoloxidase system in potato tubers. *Ann. Bot.*, **2**:847, 1938.
11. Robinson, E. S. & J. M. Nelson. The tyrosine-tyrosinase reaction and aerobic plant respiration. *Arch. Biochem.*, **4**:111, 1944.
12. Walter, E. M. & J. M. Nelson. Further studies on tyrosinase in aerobic plant respiration. *Arch. Biochem.*, **6**:131, 1945.
13. Szent-Gyorgyi A. & K. Victorisz. Bemerkungen uber die Funktion und Bedeutung der Polyphenoloxidase der Kartoffel. *Biochem. Z.*, **168**: 1931.
14. Forsyth, W. G. C. Cacao polyphenolic substances. II. Changes during fermentation. *Biochem. J.*, **51**:516, 1952.
15. Hushima, Y. T., T. Nakabayashi & S. Nishida. Cited in: Comparative biochemistry of the phenolase complex. *Adv. Enzymol.*, **16**:105, 1955.
16. Nakabayashi, T. J. Cited in: Comparative biochemistry of the phenolase complex. *Adv. Enzymol.*, **16**:105, 1955.
17. Nakabayashi, T. J. Browning of apple fruit. II. Terminal oxidase of the respiration of apple fruit. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **28**:212, 1954.
18. Keilin, D. & J. Mann. Polyphenoloxidase: Purification nature and properties. *Proc. Roy. Soc. London*, **125 B**:187, 1938.
19. Kendall, L. P. The action of tyrosinase on monophenols. *Biochem. J.*, **44**:442, 1949.
20. Sreerangachar, H. B. Studies on the fermentation of Ceylon tea. *Biochem. J.*, **87**: 653, 1943.
21. Kubowitz, F. Schwermetallprotein und Pyridinprotein die Komponenten blausaure und Kohlenoxydempfindlicher Alkoholdehydrasen. *Biochem. Z.*, **293**: 308, 1937.
22. Roberts, E. A. H. & D. J. Wood. Separation of tea polyphenols on paper chromatograms. *Biochem. J.*, **53**:332, 1953.
23. Hackett, D.P., H.A. Schneiderman & K.V. Thimann. Terminal oxidase mediating water uptake by potato tissue. *Arch. Biochem. Biophys.*, **47**:205, 1953.
24. James, W. O. *Plant Respiration*. Oxford, England, Clarendon Press, 1953.
25. Webster, G. C. The effect of carbon monoxide on respiration in the sweet potato, *Ipomoea batatas L.* *Science*, **117**:530, 1953.
26. Towers, G. H. N. **Metabolism of Phenolics in Higher Plants and Microorganisms. Biochemistry of Phenolic Compounds**. New York, N. Y., The Academic Press, 1964.
27. Samisch, R. The location of oxidase in the apricot. *Am. J. Botany*, **22**:291, 1935.
28. Hussein, A. A. & M. J. Cruess. Properties of the oxidizing enzymes of certain vinifera grapes. *Food Res.*, **5**:637, 1940.
29. Arnon, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, **24**:1, 1949.
30. Tolbert, N. E. Activation of polyphenol oxidase of chloroplasts. *Plant Physiol.*, **51**:234, 1973.

31. Anderson, J. M. Extraction of enzymes and subcellular organelles from plant tissues. *Phytochemistry*, 7: 1968.
32. Walker, J. R. L. & A. C. Hulme. Studies on the enzymic browning of apples. III. Purification of apple phenolase. *Phytochemistry*, 5:259, 1966.
33. Sanderson, G. W. The action of polyphenolic compounds on enzymes. *Biochem. J.*, 95:248, 1965.
34. Craff, C. C. Localization and activity of phenolase in potato tubers. *Am. Potato J.*, 43:112, 1966.
35. Bendall, D. S. & R. P. F. Gregory. **Purification of Phenoloxidase. Enzyme Chemistry of Phenolic Compounds.** Chapter 7. Oxford, England, Pergamon Press, 1963.
36. Walker, J. R. L. & A. C. Hulme. The inhibition of the phenolase from apple peel by polyvinylpyrrolidone. *Phytochemistry*, 4:677, 1965.
37. Palmer, J. K. Banana polyphenoloxidase: Purification and properties. *Plant Physiol.*, 38:508, 1963.
38. Galeazzi, M., A. Martins, V. C. Sgarbieri & S. M. Constantinides. Isolation, purification and physicochemical characterization of polyphenoloxidase (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendishii*, L.). *J. Agr. Food. Chem.* Enviado para publicación.
39. Mallette, M. F. & C. R. Dawson. On the nature of highly purified mushroom tyrosinase preparations. *Arch. Biochem.*, 23:29, 1949.
40. Smith, J. L. & R. C. Krueger. Separation and purification of the phenolases of the common mushroom. *J. Biol. Chem.*, 23:4, 1121, 1962.
41. Kertesz, D. & R. Zito. Mushroom polyphenoloxidase. 1. Purification and general properties. *Biochem. Biophys. Acta*, 96:447, 1965.
42. Fling, M., N. H. Horowitz & S. F. Heinemann. The isolation and properties of crystalline tyrosine from neurospora. *J. Biol. Chem.*, 238:6, 1963.
43. Harel, E. & A. M. Mayer. Interconversion of subunits of catechol oxidase from apple chloroplasts. *Phytochemistry*, 7:199, 1968.
44. Pařil, S. S. & M. Zucker. Potato phenolases: Purification and properties. *J. Biol. Chem.*, 240:10, 1965.
45. Gregory, R. P. F. & D. S. Bendall. The purification and some properties of the polyphenoloxidase from tea (*Camellia sinensis*, L.). *Biochem. J.*, 101:569, 1966.
46. Amorim, H. V. & R. V. Josephson. Water soluble protein and nonprotein components of Brazilian green coffee beans. *J. Food Sci.*, 40:1179, 1975.
47. Amorim, H. V., A. A. Teixeira, M. Melo, V. F. Cruz & E. Malavolta. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage. 4. Electrophoresis of soluble proteins in agar-gel and its interaction with chlorogenic acid. *Turrialba*, 25:18, 1975.
48. Sabir, M. A., F. W. Sosulski & A. J. Finlayson. Chlorogenic acid-protein interactions in sunflower. *J. Agr. Food Chem.*, 22:575, 1974.
49. Warburg, O. **Heavy Metal Prosthetic Groups and Enzyme Action.** Oxford, England, Oxford, University Press, 1949.
50. Mason, H. S., W. L. Fowlks & E. Peterson, Oxygen transfer and electron transport by the phenolase complex. *J. Am. Chem. Soc.*, 77:2914, 1955.
51. Lu Valle, J. E. & D. R. Goddard. The mechanism of enzymatic oxidations and reductions. *Quart. Rev. Biol.*, 23:197, 1948.
52. Marin, L. **Secondary Metabolism in Plants and Animals.** New York, N. Y., The Academic Press, Inc., 1972.
53. Finkle, B. J. & V. C. Runeckles. **Phenolic Compounds and Metabolic Regulation.** New York, N. Y., Appleton Century Crofts, 1967.

54. Raper, H. S. Some problems of tyrosine metabolism. *J. Chem. Soc.*, **125**:333, 1938.
55. Forsyth, W. G. C. & V. C. Quesnel. Intermediates in the enzymatic oxidation of catechol. *Biochem. Biophys. Acta*, **25**:155, 1957.
56. Platt, B.S. & A.B. Wormal. Cited in: Comparative biochemistry of the phenolase complex. *Adv. Enzymol.*, **16**:105, 1955.
57. Brown, F.C. & D.N. Ward. Studies on mammalian tyrosinase. I. Chromatography on cellulose ion exchange agents. *J. Biol. Chem.*, **233**:77, 1958.
58. Onslow, M.W. Oxidizing enzymes. III. The oxidizing enzymes of some common fruits. *Biochem. J.*, **14**:541, 1920.
59. Reyes, P. & B. S. Luh. Characteristics of browning enzymes in Fay Elbert freestone peaches. *Food Technol.*, **14**:570, 1960.
60. Wong, T. C., B. S. Luh, & J. R. Whitaker. Isolation and characterization of polyphenoloxidase isozymes of clingstone peach. *Plant Physiol.*, **49**:19, 1971.
61. Walker, J. R. L. The polyphenoloxidase of pear fruit. *Australian J. Biol. Sci.*, **17**: 575, 1964.
62. Alberghina, F. A. A. Chlorogenic acid oxidase from potato tuber slices: Partial purification and properties. *Phytochemistry*, **3**:65, 1964.
63. Dizik, N. S. & F. W. Knapp. Avocado polyphenoloxidase purification and fractionation on Sephadex thin layers. *J. Food Sci.*, **35**:282, 1970.
64. Racusen, D. The catechol oxidase of bean leaves (*Phaseolus vulgaris*). *Can. J. Biol.*, **48**:1029, 1970.
65. Griffiths, L. A. Detection and identification of the polyphenoloxidase substrate of banana. *Nature*, **184**:58, 1959.
66. Galeazzi, M. A. M. **Extração, Purificação e Propriedades da Polifenoloxidase de Banana Nanica (*Musa cavendishii*, L.)**. Tese de Doutorado. UNICAMP, Campinas, Brasil, 1978.
67. Montgomery, M. W. & V. C. Sgarbieri. Isoenzymes of banana polyphenol oxidase. *Phytochemistry*, **14**:1245, 1975.
68. Aragão, G. A. & M. Bacila. Purification and properties of a polyphenoloxidase from the fresh water snail *Biomphalaria glabrata*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **53**, B:179, 1976.
69. Tauber, H., I. S. Kleiner & D. Mishkind. Ascorbic acid (vitamin C) oxidase. *J. Biol. Chem.*, **110**:211, 1935.
70. Tauber, H. The interaction of peroxidase and ascorbic acid (vitamin C) in biological oxidations and reductions. *Enzymologia*, **1**:209, 1936.
71. Keiling, D. & T. Mann. Polyphenoloxidase: Purification, nature and properties. *Proc. Roy. Soc., London*, **125 B**: 138, 1938.
72. Macrae, A. R. & R. G. Duggleby. Substrates and inhibitors of potato tuber phenolase. *Phytochemistry*, **7**:855, 1968.
73. Keiling, D. & E. F. Hartree. Polyphenoloxidase: Purification, nature and properties. *Proc. Roy. Soc., London*, **125 B**:171, 1938.
74. Ponting, J. D. & M. A. Joslyn. Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts. *Arch. Biochem.*, **19**:47, 1948.
75. Krueger, R. C. The effect of ascorbic acid on the enzymatic oxidation of monohydric and o-dehydric phenols. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**:5582, 1950.
76. Kertesz, D. Cuivre, polyphénoloxidase (tyrosinase), catéchol et acide ascorbique. *Bull. Soc. Chim. Biol., Paris*, **33**:1400, 1951.
77. Kertesz, D. Tyrosinase and polyphenoloxidase. The role of metallic ions in melanogenesis. *Biochim. Biophys. Acta*, **9**:170, 1952.
78. Baruah, P. & T. Swain. The effect of L-ascorbic acid on the *in vitro* activity of

- polyphenoloxidase from potato. **Biochem. J.**, 55:392, 1953.
79. Greenstein, J. P. & M. Winitz. **Chemistry of the Amino Acids**. Vol. I. New York, N. Y., Wiley & Sons, Ltd., 1971.
  80. Lerner, A. B. & T. B. Fitzpatrick. **Pigment Cell Growth**. Myron Gordon (Ed.). New York, N. Y., The Academic Press, Inc., 1953.
  81. Mason, H. S. **Pigment Cell Biology**. Myron Gordon (Ed.). New York, N. Y., The Academic Press, Inc., 1959.
  82. Bouchilloux, S. & A. Kodja. Combinaison des thiols avec les quinones se formant au cours de la melanogénèse. **Bull. Soc. Chim. Biol.**, 42:9, 69, 1960.
  83. Henze, R. E. Inhibition of enzymatic browning of chlorogenic acid solution with cysteine and glutathione. **Science**, 123:390, 1956.
  84. Muneta, A. & J. Walradt. Cysteine inhibition of enzymatic blackening with polyphenoloxidase from potatoes. **J. Food Sci.**, 33:606, 1968.
  85. Ponting, J. D. & C. Johnson. Determination of SO<sub>2</sub> in fruits. **Ind. Eng. Chem.**, 17:682, 1945.
  86. Diemair, W., J. Koch & D. Hess. Einfluss der schwefligen Saure und L-Ascorbic-saure bei der Weinbereitung. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.**, 113:381, 1960.
  87. Embs, R. J. & P. Markakis. Mechanism of sulfite inhibition of browning caused by polyphenoloxidase. **J. Food Sci.**, 30:753, 1965.
  88. Mason, H. S. Structures and functions of the phenolase complex. **Nature (London)**, 177:79, 1956.
  89. Mason, H. S. Mechanism of oxygen metabolism. **Adv. Enzymol.**, 19:79, 1957.
  90. Mathew, A. G. & H. A. B. Parpia. Food browning as a polyphenol reaction. **Adv. Food Res.**, 19:75, 1971.
  91. Pomerantz, S. H. Separation, purification and properties of two tyrosinases from hamster melanoma. **J. Biol. Chem.**, 238:7, 1963.
  92. Segal, B. & R. M. Segal. Enzymatic degradation of grape anthocyanins. **Rev. Ferment. Ind. Aliment.**, 24:22, 1969.
  93. Prabhakaran, K., E.B. Harris & W.F. Kirchheimer. Effect of inhibitors on phenoloxidase of *Mycobacterium leprae*. **J. Bacteriol.**, 100:935, 1969.
  94. Pierpoint, W. S. The enzymic oxidation of chlorogenic acid and some reactions of the quinone produced. **Biochem. J.**, 98:567, 1966.
  95. Shimao, K. Partial purification and kinetic studies of mammalian tyrosinase. **Biochim. Biophys. Acta**, 62:205, 1962.
  96. Madhosingh, C. & L. Sundberg. Purification and properties of tyrosinase inhibitor from mushroom. **FEBS Letters**, 49:2, 1974.
  97. Jornvall, H. Multiple molecular forms of enzymes. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 151:1, 1968.
  98. Kaplan, N. O. Nature of multiple molecular forms of enzymes. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 151:382, 1968.
  99. Constantinides, S. M. & C. L. Bedford. Multiple forms of phenoloxidase. **J. Food Sci.**, 132:446, 1967.
  100. Jolley, R. L. & H. S. Mason. The multiple forms of mushroom tyrosinase. **J. Biol. Chem.**, 240, P.C. 1489, 1965.
  101. Jolley, R. L., D. A. Robb & H. S. Mason. The multiple forms of mushroom tyrosinase. **J. Biol. Chem.**, 244:1593, 1969.
  102. Bouchilloux, S., P. McMahill, & H. S. Mason. The multiple forms of mushroom tyrosinase. **J. Biol. Chem.**, 238:1699, 1963.
  103. Horowitz, N.H., M. Fling & H.L. McLeod. Structural and regulative genes controlling tyrosinase synthesis in neurospora. **Cold Spring Harbour Symp. Quant. Biol.**, 26:233, 1961.
  104. Harel, E., A. M. Mayer & E. Lehman. Multiple forms of *Vitis vinifera* catechol oxidase. **Phytochemistry**, 12:2649, 1973.

# ZINCO SÉRICO EM CRIANÇAS BRASILEIRAS DE FAMÍLIAS DE BAIXA RENDA<sup>1</sup>

*Carmen Marino Donangelo<sup>2</sup> e Carlos Eduardo Azevedo<sup>3</sup>*

Centro de Ciências de Saúde,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil

## RESUMO

Foi determinado o teor de zinco no soro de 103 crianças brasileiras de 3 meses a 6 anos de idade, pertencentes a famílias de baixa renda, com a finalidade de auxiliar na caracterização do seu estado nutricional relativo ao zinco. O teor de albumina sérica foi determinado em algumas das crianças estudadas. As crianças foram classificadas em três grupos pela adequação da estatura para a idade e peso em relação à estatura utilizando como referência curvas de crescimento estabelecidas para crianças brasileiras e resultando em 80 normais; 18 com desnutrição atual e 5 com desnutrição crônica. Este critério foi complementado pelo critério de Gomez. Trinta adultos normais de ambos sexos, serviram como grupo de referência das técnicas analíticas utilizadas.

O teor de zinco sérico dos adultos foi de  $107.5 \pm 14.5$   $\mu\text{g/dl}$ , comparável com o observado por outros investigadores. Este teor foi significativamente superior ao determinado para todas as crianças estudadas. O teor de zinco sérico das crianças normais foi de  $98.3 \pm 15.7$   $\mu\text{g/dl}$ . Verificou-se uma diminuição do zinco sérico das crianças em função do grau de desnutrição, sendo significativa para as crianças com desnutrição atual de segundo grau ( $87.8 \pm 9.2$   $\mu\text{g/dl}$ ;  $p < 0.05$ ) e as crianças com desnutrição crônica ( $68.7 \pm 8.9$   $\mu\text{g/dl}$ ;  $p < 0.001$ ).

Verificou-se correlação significativa entre o teor de albumina e zinco séricos das crianças ( $r = 0.51$ ,  $n = 37$ ;  $p < 0.01$ ) particularmente para as que apresentaram desnutrição mais severa ( $r = 0.63$ ,  $n = 8$ ;  $p < 0.05$ ).

---

Manuscrito modificado recebido: 7-5-84.

- 1 Este projeto foi parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq).
- 2 Professor Titular do Instituto de Nutrição, Centro de Ciência da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CCS Bloco J., 2o. Andar, 2.1910 Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, Brasil.
- 3 Professor Assistente do Instituto de Puericultura e Pediatria, Martagão Gesteira, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

## INTRODUÇÃO

O zinco é um nutriente essencial ao organismo humano, particularmente importante nos períodos de rápido crescimento pela sua ativa participação no metabolismo dos ácidos nucleicos e síntese de proteínas (1, 2).

A disponibilidade biológica desse nutriente é altamente dependente das características regionais da dieta dado que se associa particularmente à proteína dietética (3) e o uso de alimentos ricos em fibra e fitatos interfere negativamente na sua absorção intestinal (4).

As comunidades brasileiras de baixo poder aquisitivo baseiam sua alimentação no uso de arroz e feijão, com pouca contribuição de alimentos proteicos de origem animal. Apesar deste padrão alimentar ter sido considerado adequado, sob certas condições, do ponto de vista da necessidade proteica de pré-escolares (5), a sua adequação em vários outros nutrientes e particularmente em zinco, permanece ainda uma questão aberta.

O propósito do presente trabalho é auxiliar na caracterização do estado nutricional relativo ao zinco de grupos vulneráveis a apresentarem quadros de deficiência através da determinação dos níveis séricos de zinco e albumina.

## MATERIAL E METODOS

Foram estudadas 103 crianças de 3 meses a 6 anos de idade, a maioria atendidas no ambulatório do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG) da Universidade Federal do Rio de Janeiro e algumas atendidas nas enfermarias do referido Instituto, todas pertencentes à famílias de baixa renda, de acordo com informação verbal do responsável. Trinta adultos normais de ambos os sexos (10 mulheres e 20 homens) constituídos por médicos e residentes do IPPMG, participaram como grupo de referência das técnicas analíticas empregadas, particularmente a dosagem do zinco sérico por espectrofotometria de absorção atômica.

As amostras de sangue foram obtidas nos indivíduos em jejum por venipuntura, utilizando seringas de vidro. O sangue colhido foi imediatamente transferido para tubos plásticos e após coagulação, o soro foi separado por centrifugação e mantido em congelador até análise. As amostras de sangue das crianças desnutridas foram obtidas de crianças sem diarreia ou edema. As amostras que apresentaram hemólise foram excluídas das análises.

O zinco sérico foi dosado por espectrofotometria de absorção atômica (Varian Techtron, modelo AA-120) após precipitação com ácido tricloroacético diluído, segundo o método descrito por Giroux (6) em todos os indivíduos estudados. A dosagem de albumina sérica foi realizada pelo método colorimétrico do verde de bromocresol (7) utilizando um Albumina-kit (Biolab-Merieux), apenas numa subamostra de indivíduos devido ao reduzido volume de soro disponível para a maioria das amostras colhidas. Todo o material de laboratório utilizado nas dosagens foi lavado por imersão numa solução de ácido nítrico 20o/o durante 24 horas e cuidadosamente enxaguado com água deionizada.

Para cada criança foram calculados os índices de adequação peso/idade, estatura/idade e peso/estatura. Todos estes índices foram determinados com base nas curvas de crescimento de crianças brasileiras estabelecidas

por Marques e colaboradores (8). Foram usadas como referência as curvas correspondentes ao percentil 50, da classe socio economica mais alta. A classificação nutricional das crianças foi feita segundo o critério de Seoane e Latham (9) pela combinação dos índices de adequação da estatura para a idade e do peso para estatura. Esta classificação foi complementada pelo critério de Gomez (10).

A avaliação estatística dos resultados foi feita por análise de variância e aplicação do teste de Tukey para estabelecer diferenças específicas entre os grupos (11). O mínimo nível de significancia estatística aceito foi de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

A classificação das crianças pela adequação dos índices antropométricos é apresentada na Tabela 1. De acordo com o critério adotado 77.7% das crianças apresentaram-se normais, 11.7% com desnutrição atual de primeiro grau e 10.7% com quadros mais severos de desnutrição.

TABELA 1

### CLASSIFICAÇÃO NUTRICIONAL DAS CRIANÇAS ESTUDADAS

Adequação estatura/idade %	Adequação peso/estatura %	Adequação peso/idade %	Estado nutricional	Número de crianças
> 90	> 90	91-110	Normal	80
> 90	≤ 90	76-90	Desnutrição atual de primeiro grau	12
> 90	≤ 90	61-75	Desnutrição atual de segundo grau	6
≤ 90	≤ 90	≤ 60	Desnutrição crônica de terceiro grau*	5

\* Todas as crianças com desnutrição crônica estudadas apresentaram desnutrição de terceiro grau segundo o critério de Gomez. Não houve crianças com desnutrição progressa.

Os resultados dos níveis de zinco sérico e albumina sérica de crianças e adultos são apresentados na Tabela 2. Os valores encontrados nos adultos apresentaram boa concordância com valores reportados por outros autores em soro de adultos normais (12-14) indicando que a nossa metodologia analítica é comparável à utilizada por outros investigadores. Estes valores foram significativamente mais elevados que os das crianças estudadas, incluindo as normais.

O zinco sérico das crianças apresentou uma diminuição em função da severidade da desnutrição, sendo significativa para as que apresentaram

TABELA 2

ZINCO SÉRICO E ALBUMINA SÉRICA NAS CRIANÇAS  
E ADULTOS ESTUDADOS

Grupos	Media $\pm$ desvio padrão	
	Zinco ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	Albumina ( $\text{g}/\text{dl}$ )
Adultos	107.5 $\pm$ 14.5 <sup>a</sup> (30)	4.90 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup> (20)
Crianças		
normais	98.3 $\pm$ 15.7 <sup>b</sup> (80)	4.24 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup> (24)
desnutrição atual		
primeiro grau	93.9 $\pm$ 17.3 <sup>bc</sup> (12)	4.29 $\pm$ 0.17 <sup>bc</sup> (5)
segundo grau	87.8 $\pm$ 9.2 <sup>c</sup> (6)	3.91 $\pm$ 0.19 <sup>c</sup> (3)
desnutrição crônica		
terceiro grau	68.7 $\pm$ 8.9 <sup>d</sup> (5)	2.34 $\pm$ 0.50 <sup>d</sup> (5)

As medias de cada coluna com supraíndices diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas.

desnutrição atual de segundo grau e desnutrição crônica e variando desde um valor médio de 98.3  $\mu\text{g}/\text{dl}$  para as crianças normais até 68.7  $\mu\text{g}/\text{dl}$  para as que apresentaram desnutrição crônica.

A albumina sérica das crianças também diminuiu em função do grau de desnutrição sendo significativo para as crianças mais severamente desnutridas. Observou-se correlação significativa entre o teor de albumina e o de zinco sérico particularmente para as crianças com desnutrição mais acentuada (Figura 1).

## DISCUSSÃO

Os valores do zinco sérico encontrado nas crianças normais foram semelhantes aos reportados por outros investigadores em soro de crianças controle (15-17). Nós não verificamos variações significativas em função do sexo, origem étnica ou idade das crianças. Entretanto, os resultados do zinco e albumina destas crianças mostraram-se significativamente inferiores aos dos adultos normais utilizados como grupo de referência do nosso estudo. Este fato concorda com os achados de Halsted e Smith (18), que determinaram um teor de zinco plasmático, em crianças normais de 3 a 13 anos de idade, ligeira mas significativamente inferior que em adultos controle.

Trabalhos mais recentes não confirmam uma diferença significativa no zinco plasmático em função da idade. Hambidge e colaboradores (19), estudando lactentes de 6 meses de idade, observaram que, os amamentados exclusivamente com leite materno não apresentavam diferença significativa do zinco plasmático com respeito a adultos normais. Já os lactentes que recebiam fórmulas preparadas, a partir de leite de vaca, mesmo que suplementadas com zinco, apresentaram um menor teor de zinco no

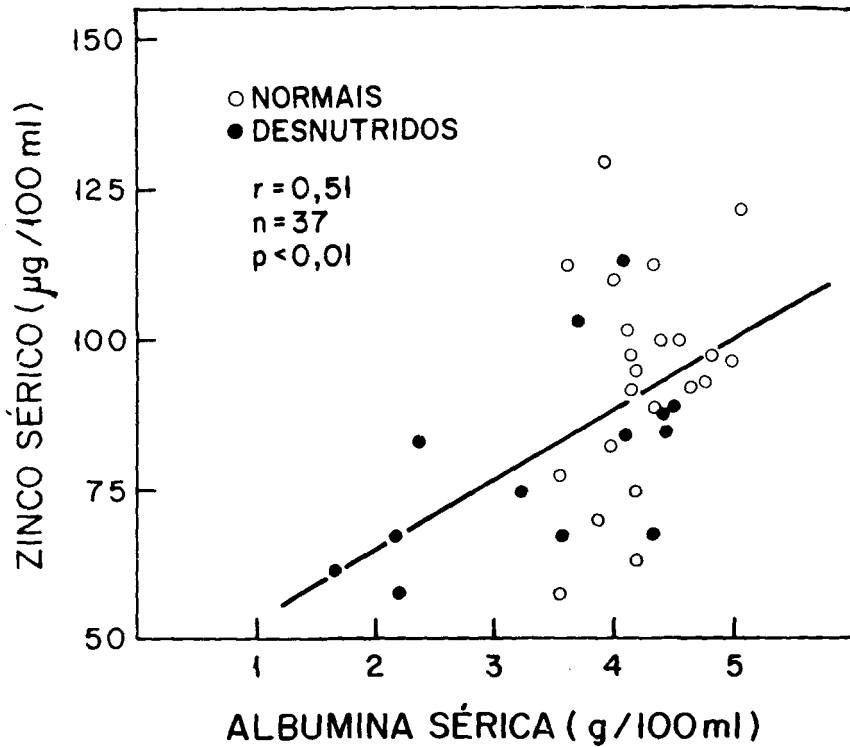


FIGURA 1

Correlação entre os teores de zinco e albumina séricos numa submostra das crianças estudadas

plasma, sugerindo uma possível inadequação do zinco dietético. Golden e Golden (20), estudando a associação das características clínicas da desnutrição proteico-energética e o zinco plasmático, também determinaram níveis semelhantes de zinco no plasma de crianças normais de 4 a 20 meses de idade e de adultos controle. O zinco plasmático das crianças com marasmo e sobretudo daquelas com Kwashiorkor, foi significativamente menor. Estas observações sugerem que o teor de zinco no plasma ou soro, não varia com a idade quando se trata de indivíduos sadios pelo qual se poderia questionar a normalidade nutricional atribuída a crianças com crescimento dentro dos padrões esperados, especialmente quando pertencentes a famílias de baixa renda, como no caso do presente trabalho.

A redução observada do zinco no soro das crianças com desnutrição severa confirma achados anteriores na África do Sul (15), Egito (21) e Índia (22). Os nossos resultados sugerem alguma correlação entre a severidade do retardo no crescimento e o teor de zinco sérico. Uma inadequação severa do peso em relação à idade mesmo com estatura adequada acarreta uma diminuição significativa no zinco sérico. Este fato se acentua quando

a inadequação do peso para a idade se associa a uma inadequação da estatura em relação à idade (desnutrição crônica).

Até que ponto as crianças com crescimento inadequado e baixo teor de zinco sérico estão verdadeiramente deficientes em zinco, não pode ser estabelecido com certeza com base nas informações disponíveis. A determinação do zinco sérico ou plasmático é amplamente utilizada como índice do estado do organismo relativo ao zinco porém várias situações de stress podem provocar uma diminuição do seu teor sem refletir necessariamente deficiência (23) o qual limita a sua interpretação. Entre outros, fatores que alteram o transporte e/ou a distribuição do zinco no organismo afetam o seu teor no soro.

Um dos principais determinantes da concentração do zinco no soro é o teor de albumina, já que a albumina liga de 60-70% do zinco circulante numa forma facilmente disponível aos tecidos (24). Os teores de zinco e albumina séricos tem sido correlacionados em vários estudos (23).

Para as crianças do nosso trabalho, foi verificada uma correlação significativa entre o zinco e albumina séricos, quando considerados em conjunto, sem diferenciação do estado nutricional ( $r = 0.51$ ,  $n = 37$ ;  $p < 0.01$ ). Considerando apenas as crianças normais, o grau de correlação foi fraco e não significativo ( $r = 0.30$ ,  $n = 24$ ;  $p < 0.1$ ). Considerando simultaneamente as crianças normais e as desnutridas de primeiro grau com albuminemia normal, a correlação foi também fraca e não se mostrou significativa ( $r = 0.25$ ,  $n = 29$ ;  $p < 0.1$ ). Nestas crianças, um baixo teor de zinco sérico poderia refletir insuficiência de zinco no organismo ocasionada por algum fator diferente da disponibilidade da principal proteína de transporte. Poder-se-ia especular que tal fator fosse um fornecimento dietético inadequado. Pretendemos explorar este aspecto mais especificamente.

Considerando o conjunto de crianças desnutridas, a correlação entre zinco e albumina séricos foi mais acentuada e significativa ( $r = 0.57$ ,  $n = 13$ ;  $p < 0.05$ ) particularmente para as crianças com desnutrição crônica ( $r = 0.63$ ,  $n = 8$ ;  $p < 0.05$ ). Nas crianças severamente desnutridas, um baixo teor de zinco sérico poderia ser interpretado como consequência da hipalbuminemia resultante de uma insuficiência proteica da dieta. Se estas crianças encontram-se verdadeiramente deficientes em zinco, não pode ser determinado com base nos dados disponíveis. Alguns estudos sugerem que a deficiência de zinco esteja envolvida no desenvolvimento da hipalbuminemia dado que, com apenas uma suplementação oral de zinco conseguiu-se uma elevação da albuminemia em indivíduos com zinco e albumina séricos inicialmente baixos (25).

Será necessário, portanto, verificar se as crianças mais severamente desnutridas do nosso estudo normalizam os teores de albumina e zinco séricos, corrigindo apenas a inadequação proteico-energética das suas dietas ou se este efeito só resultará da utilização de uma suplementação simultânea com zinco. Será também muito importante, estudar os efeitos destas manipulações sobre o ritmo de recuperação pondero-estatural das crianças.

#### SUMMARY

#### SERUM ZINC LEVELS IN BRAZILIAN CHILDREN OF LOW SOCIOECONOMIC STATUS

Serum zinc was measured in 103 Brazilian children from low income families, 3

months to 6 years of age, with the purpose of characterizing their zinc nutritional status. Serum albumin was determined in some of the children studied. They were grouped in three categories according to the adequacy of height for age and weight for height indices related to the growth curves determined for Brazilian children. There were 30 normal, 18 acutely malnourished and five chronically malnourished children. This criteria was complemented by the Gomez criteria. Thirty healthy adults of both sexes served as a reference group for the analytical procedures.

In the adults, serum zinc was  $107.5 \pm 14.5 \mu\text{g/dl}$ , similar to values observed by other investigators, and significantly higher than in all of the children studied. Serum zinc of normal children was  $98.3 \pm 15.7 \mu\text{g/dl}$ . It decreased with the degree of malnutrition, being significant for second degree acutely malnourished ( $87.8 \pm 9.2 \mu\text{g/dl}$ ;  $p < 0.05$ ) and chronically malnourished children ( $68.7 \pm 8.9 \mu\text{g/dl}$ ;  $p < 0.001$ ). Serum zinc and albumin correlated significantly ( $r = 0.51$ ;  $n = 37$ ;  $p < 0.01$ ), particularly in the severely malnourished children ( $r = 0.63$ ;  $n = 8$ ;  $p < 0.05$ ).

### AGRADECIMENTOS

Os autores desejam expressar seu agradecimento:

Ao Professor Wolfgang C. Pfeiffer e sua equipe de laboratório do Instituto de Biofísica (UFRJ) pela assistência técnica na execução das análises por espectrofotometria de absorção atômica e pelo constante apoio em vários aspectos da pesquisa.

Ao Professor Rainer Gross pela atenta leitura do manuscrito e valiosas sugestões.

A Comissão de Pesquisas do IPPMG (UFRJ) pela autorização para a obtenção das amostras de sangue.

### BIBLIOGRAFIA

1. Halsted, J. A., J. C. Smith & M. I. Irwin. A conspectus of research on zinc requirements of man. *J. Nutr.*, **104**:345-378, 1974.
2. Walravens, P. A. Nutritional importance of copper and zinc in neonates and infants. *Clin. Chem.*, **26**:185-189, 1980.
3. Osis, D., L. Kramer, E. Wiatrowski & H. Spencer. Dietary zinc intake in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **25**:582-588, 1972.
4. Solomons, N. W. Interacciones entre zinc y factores dietéticos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **32**:26-31, 1982.
5. Dos Santos, J. E., J. M. Howe, F. A. Moura Duarte & J. E. Dutra de Oliveira. Relationship between the nutritional efficacy of a rice and bean diet and energy intake in preschool children. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**:1541-1544, 1979.
6. Giroux, E. L. Determination of zinc distribution between albumin and  $\alpha_2$ -macroglobulin in human serum. *Biochem. Med.*, **12**:258-266, 1975.
7. Husdan, H. & A. Rapoport. Estimation of creatinine by the Jaffe reaction - A comparison of three methods. *Clin. Chem.*, **14**:222-238, 1968.
8. Marques, R. M., E. Berqué, J. Junes & E. Marcondes. Crescimento de crianças brasileiras - peso e altura segundo idade e sexo. Influência de fatores socioeconômicos. *Anais Nestlé* 84, Suplemento II, 1974.
9. Seoane, N. & M. C. Latham. Nutritional anthropometry in the identification of malnutrition in childhood. *J. Trop. Pediat. Environ. Child. Health*, **17**:98-103, 1971.

10. Aranda-Pastor, J., G. Arroyave, M. Flores, M. A. Guzmán & R. Martorell. Indicadores mínimos del estado nutricional. *Rev. Col. Med. (Guatemala)*, **26**:5-27, 1975.
11. Gill, J. L. *Design and Analysis of Experiments in the Animal and Medical Sciences*. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1978.
12. Pekarek, R. S., W. R. Beisel, P. J. Bartelleni & K. A. Bastian. Determination of serum zinc concentrations in normal adult subjects by atomic absorption spectrophotometry. *Am. J. Clin. Pathol.*, **57**:506-510, 1972.
13. Falchuk, K. H. Effect of acute disease and ACTH on serum zinc proteins. *New Engl. J. Med.*, **296**:1129-1134, 1977.
14. Lin, H. J., W. C. Chan, Y. Y. Fong & P. M. Newborne. Zinc levels in serum, hair and tumors from patients with esophageal cancer. *Nutr. Repts. Internat.*, **15**:635-643, 1977.
15. Smith, S. M. & P. J. Pretorius. Studies in metabolism of zinc. Part 2. Serum zinc levels and urinary zinc excretions in South African Bantú kwashiorkor patients. *J. Trop. Pediat.*, **9**:105-112, 1964.
16. Hansen, J. D. L. & B. H. Lehmann. Serum zinc and copper concentrations in children with protein-calorie malnutrition. *South African Med. J.*, **43**:1248-1251, 1969.
17. Castro-Magana, M., P. J. Collipp, S. Y. Chen, S. Cheravanky & V. Maddaiah. Zinc nutritional status, androgens, and growth retardation. *Am. J. Dis. Child.*, **135**:322-325, 1981.
18. Halsted, J. A. & J. C. Smith. Plasma zinc in health and disease. *Lancet*, **1**:322-324, 1970.
19. Hambidge, K. M., P. A. Walravens, C. E. Casey, R. M. Brown & C. Bender. Plasma zinc concentrations of breast-fed infants. *J. Pediat.*, **94**:607-608, 1979.
20. Golden, B. L. & M. H. N. Golden. Plasma zinc and the clinical features of malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**:2490-2494, 1979.
21. Sandstead, H. H., A. S. Shukry, A. S. Prasad, M. K. Gabr, A. G. El Hifny, N. Mokhtar N. & W. J. Darby. Kwashiorkor in Egypt. I. Clinical and biochemical studies with special reference to plasma zinc and serum lactic dehydrogenase. *Am. J. Clin. Nutr.*, **17**:15-25, 1965.
22. Kumar, S. & K. S. J. Rao. Plasma and erythrocyte zinc levels in protein-calorie malnutrition. *Nutr. Metabol.*, **15**:364-371, 1973.
23. Solomons, N. W. On the assessment of zinc and copper nutriture in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**:856-871, 1979.
24. Parisi, A. F. & B. L. Vallee. Isolation of zinc  $\alpha$  2-macroglobulin from human serum. *Biochem.*, **9**:2421-2426, 1970.
25. Wahlqvist, M. L., D. M. Flint, D. M. Prinsley & P. A. Dryden. The effect of zinc supplementation on serum albumin and folic acid concentrations in a group of hypoalbuminemic and hypozincaemic aged persons. In: *Recent Advances in Clinical Nutrition*. 1st ed. A. N. Howard and I. McLean Baird (Eds.). London, Libbey, 1981, p. 83.

# INFLUENCIA DE LA NUTRICION EN EL DESARROLLO OSEO DEL NIÑO

*María Luisa Alcázar,<sup>1</sup> Jorge Alvear<sup>2</sup> y Santiago Muzzo<sup>3</sup>*

Patronato Nacional de la Infancia,  
Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos (INTA),  
Universidad de Chile, Santiago, Chile

## RESUMEN

Se estudió la maduración ósea del niño menor con diferentes grados de desnutrición, mediante una radiografía del carpo, según el Atlas de Greulich y Pyle. El nivel socioeconómico fue similar en los diferentes grupos de malnutridos. Los obesos presentaron un adelanto de la edad ósea y los desnutridos un retraso que fue mayor mientras más severa era la desnutrición. Hubo una correlación positiva entre el porcentaje de adecuación de la edad ósea con respecto a la edad cronológica y el porcentaje de adecuación de la talla para la edad. Se constató un mayor retardo de edad ósea en los desnutridos que habían estado sometidos a desnutrición intrauterina que en los adecuados para la edad gestacional.

## INTRODUCCION

La alta frecuencia de problemas nutricionales en los países subdesarrollados es un hecho más que conocido (1). Estos problemas repercuten especialmente en los niños, quienes se encuentran en un período de rápido crecimiento y desarrollo. Su alimentación depende de terceras personas, las que no siempre cuentan con los medios socioeconómicos, higiénicos y culturales necesarios para aportar los nutrientes requeridos, de buena calidad y en cantidades suficientes.

Para crecer y desarrollarse, el ser humano depende de factores genéticos y ambientales. Entre estos últimos, los nutrientes son fundamentales para obtener un crecimiento y desarrollo armónico (2, 3). Mientras mayor

---

Manuscrito modificado recibido: 5-8-83.

1 Médico de la Unidad de Endocrinología del INTA, y del Patronato Nacional de la Infancia. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.

2 Médico de la Unidad Metabólica del mismo INTA.

3 Médico, Jefe de la Unidad de Endocrinología del citado Instituto, Santiago, Chile.

es la velocidad de crecimiento y desarrollo de un niño, más vulnerable será a los efectos de una noxa nutricional.

El complejo proceso de la maduración ósea depende de factores genéticos, constitucionales y hormonales, los que pueden ser influenciados por problemas socioeconómicos, de desnutrición y enfermedades crónicas (4-9).

Se ha demostrado que la desnutrición postnatal precoz prevalece en los niveles socioeconómicos bajos (10, 11). Esta deja como secuela un retraso estatural irrecuperable a pesar de que el niño se rehabilite (4), lo que explicaría la menor talla definitiva de las poblaciones de países subdesarrollados (4, 12).

En el caso de la desnutrición infantil se ha descrito un retraso de la maduración ósea (3, 4), que se recupera parcialmente con la rehabilitación nutricional (4). Undurraga *et al.* (13), así como Balassa *et al.* (14) han comunicado que los desnutridos de tipo marásmico llegan a recuperarse parcialmente del déficit de talla dos a tres años después de su rehabilitación.

Por otro lado se sabe que niños con obesidad simple son más altos y acusan un adelanto de su maduración ósea, que los eutróficos (15-17).

Los Centros Cerrados de Recuperación Nutricional (CONIN) que funcionan en nuestro país, informan que los lactantes desnutridos recuperados en su relación peso para edad, egresan con un sobrepeso en su relación peso para talla por presentar un déficit estatural (14).

Estimamos así que sería de interés estudiar la influencia de los problemas nutricionales en la maduración ósea de niños menores, por constituir éste un grupo etario que ha estado expuesto por menos tiempo a otros factores ambientales negativos que influyen en los procesos madurativos.

#### MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron niños de ambos sexos con problemas nutricionales. Los obesos y desnutridos grado I y II se tomaron de un consultorio de beneficencia, y los de grado III se obtuvieron de un Centro Cerrado de Recuperación Nutricional. El estado nutritivo se evaluó según las Tablas de Sempé y Massé (18). Se clasificaron como eutróficos a aquéllos cuyo peso estaba comprendido entre  $-1$  y  $+1$  DE del promedio para la edad. Se consideraron desnutridos grado I, cuando el peso para la edad era de  $-1$  a  $-2$  DE; desnutridos grado II, si el peso se encontraba entre  $-2$  y  $-3$  DE, y desnutridos grado III, si el peso era inferior a  $-3$  DE para la edad. Se clasificaron como obesos los niños cuyo peso estaba por encima de  $+2$  DE del promedio para la edad, y su relación de peso para talla, por encima de 1200/o.

Se seleccionaron niños recién nacidos a término, con peso adecuado para la edad gestacional (AEG) (19), sin antecedentes perinatales ni otras patologías asociadas de importancia. Al grupo de desnutridos grado I sólo se ingresaron niños con bajo peso al nacer a fin de estudiar subgrupos según hubiesen sido recién nacidos a término pequeños para la edad gestacional (PEG), o pretérmino adecuados para su edad gestacional.

La etiología de su desnutrición y obesidad fue primaria en todos los niños que habían iniciado la recuperación nutricional.

A través de la Escala de Graffar modificada se determinó el nivel

socioeconómico de la familia de los niños (20, 21). Esta comprende sub-índices de escolaridad, actividad, y vivienda del jefe de hogar, con una clasificación de 1 a 6, siendo 1 el nivel alto y 6 el nivel miseria.

El apetito de los niños se clasificó según la evaluación subjetiva materna, en: muy bueno, normal, malo y pésimo. Se consignó el antecedente familiar de obesidad, edad de menarquia y talla materna, la cual se evaluó según las tablas del NCHS (22).

La edad ósea fue el resultado del promedio de evaluación doble ciego de dos investigadores, de una radiografía estandarizada de la mano izquierda, interpretada según el Atlas de Greulich y Pyle (23).

Los resultados se analizaron estadísticamente según la prueba de "t" de Student, el coeficiente de correlación de Pearson, el test de Fischer, y el test del Ji cuadrado (24).

## RESULTADOS

Ingresaron al estudio 60 niños recién nacidos a término AEG, y 13 desnutridos grado I pretérmino AEG, o de término PEG. De los 73 niños, 38 eran del sexo masculino y 35 de sexo femenino.

Se estudiaron 14 niños con obesidad simple cuyo rango de edad era de 5 a 24 meses ( $12.6 \pm 5.6$  ms); ocho eutróficos de 6 a 22 meses ( $13.0 \pm 5.2$  ms); 25 desnutridos grado I de 5 a 29 meses ( $17.6 \pm 6.3$  ms); 9 desnutridos grado II de 8 a 25 meses ( $14.4 \pm 7.4$  ms), y cuatro desnutridos grado III, cuyas edades fluctuaban entre 4 y 21 meses de vida ( $10.3 \pm 6.6$  ms). La Tabla 1 muestra los promedios de peso corporal, talla y circunferencia craneana, que fueron menores mientras peor era el estado nutricional, siendo sólo estadísticamente significativas las diferencias en talla y cráneo de los desnutridos III al compararlo con los normales. A pesar que en esta Tabla no se incluyen los desnutridos grado I que tuvieron bajo peso al nacer, hubo una diferencia significativa en el peso al nacer de los desnutridos respecto al promedio de los eutróficos ( $3,018 \pm 345$  g vs  $3,230 \pm 280$  g;  $P < 0.05$ ). No hubo diferencias en la talla al nacer ( $49.5 \pm 1.3$  cm) ni en la edad gestacional promedio ( $39.8 \pm 1.0$  sem.) en los diferentes grupos.

Según se aprecia en la Tabla 2, no se constataron diferencias en el nivel socioeconómico entre los niños con diferentes grados de desnutrición.

En la Tabla 3 se demuestra que el porcentaje de obesidad en los familiares de niños obesos, fue significativamente mayor que en los familiares de los desnutridos ( $P < 0.05$ ).

Se encontró una relación positiva de significancia estadística entre peso y apetito ( $P < 0.0001$ ), observándose mejor apetito en los obesos y peor apetito a medida que aumentaba la intensidad de la desnutrición (Tabla 4).

La edad ósea de los niños malnutridos se expresó como el porcentaje de adecuación respecto a la edad cronológica (Tabla 5). Como se observa, los eutróficos tuvieron un promedio de 22.3% de retraso respecto a su edad cronológica; los obesos, un adelanto de 21.8%, y los desnutridos, un retraso de 24.9, 34.1 y 61.8%, según eran de grado I, II o III, respectivamente.

La Figura 1 ilustra que existe una correlación positiva significativa entre el porcentaje de adecuación de la edad ósea en función de la edad

TABLA 1

## CARACTERISTICAS ANTROPOMETRICAS DE LOS NIÑOS MALNUTRIDOS

	Obesos	Eutró- ficos	Desnutri- dos I	Desnutri- dos II	Desnutri- dos III
Peso (kg)	12.5 ± 2.1 <sup>a*</sup> (14)*	9.9 ± 1.7 (8)	9.0 ± 1.2 (25)	7.4 ± 1.4* (9)	5.7 ± 1.5* (4)
Talla (cm)	76.6 ± 7.5 (14)	74.9 ± 6.5 (8)	73.7 ± 5.7 (25)	69.4 ± 6.9 (9)	62.9 ± 8.0* (4)
Circunferencia de cráneo (cm)	46.8 ± 2.1 (14)	46.0 ± 2.6 (8)	45.9 ± 2.1 (25)	44.5 ± 2.2 (9)	39.7 ± 1.8* (3)

<sup>a</sup>  $\bar{x} \pm DE =$  No. de casos.

\*  $P < 0.05$  respecto a los eutróficos.

TABLA 2

## NIVEL SOCIOECONOMICO DE NIÑOS MALNUTRIDOS

	Obesos		Eutróficos		Desnutridos	
	n	o/o	n	o/o	n	o/o
Graffar 3	4	33.3	—	—	4	12.9
Graffar 4	6	50.0	5	62.5	16	51.6
Graffar 5	2	16.7	3	37.5	10	32.3
Graffar 6	—	—	—	—	1	3.2
Total	12	100.0	8	100.0	31	100.0

$X^2 = 1.646$ .

P = N.S.

cronológica y el porcentaje de adecuación de talla para la edad.

De los niños con desnutrición grado I, 25 eran recién nacidos a término adecuados a la edad gestacional ( $2,987 \pm 313$  g y  $39.7 \pm 1.0$  semanas de gestación); ocho pretérmino, adecuados a la edad gestacional ( $2,239 \pm 507$  g y  $35.0 \pm 2.3$  semanas de gestación) y cinco a término, pequeños para su edad gestacional ( $2,288 \pm 214$  g y  $39.4 \pm 0.8$  semanas de gestación). Se encontró también cierta tendencia a menor peso, talla y cráneo actual, sólo en el subgrupo de los nacidos a pretérmino (Tabla 6).

TABLA 3

## ANTECEDENTES FAMILIARES DE OBESIDAD EN NIÑOS MALNUTRIDOS

	Antecedentes de obesidad		Total
	n	o/o	
Obesos	10	83.3	12*
Eutróficos	6	75.0	8*
Desnutridos	18	56.3	32*

\* Test de Fisher,  $P < 0.005$ .

TABLA 4

## APETITO EN NIÑOS MALNUTRIDOS

	Obesos		Eutróficos		Desnutridos I-II	
	n	o/o	n	o/o	n	o/o
Pésimo	—	—	—	—	10	29.4
Malo	—	—	3	37.5	19	55.9
Normal	7	53.8	5	62.5	3	8.8
Muy bueno	6	46.2	—	—	2	5.9
Totales	13	100.0	8	100.0	34	100.0

$X^2 = 36.7$   
 $P < 0.0001$ .

TABLA 5

PORCENTAJE DE ADECUACION DE EDAD OSEA CON RESPECTO  
A CRONOLOGICA EN NIÑOS MALNUTRIDOS

	o/o de adecuación de edad ósea
Obesos	+21.8 ± 36.5 (A)* (14)
Eutróficos	-22.3 ± 25.1 (8)
Desnutridos, grado I	-24.9 ± 27.0 (25)
Desnutridos grado II	-34.1 ± 19.4 (9)
Desnutridos, grado III	-61.8 ± 26.4** (4)

\*  $P < 0.005$  respecto a los eutróficos. \*\*  $P < 0.025$  respecto a los eutróficos.  
 (A)  $\bar{x} \pm DE$  (No. de casos).

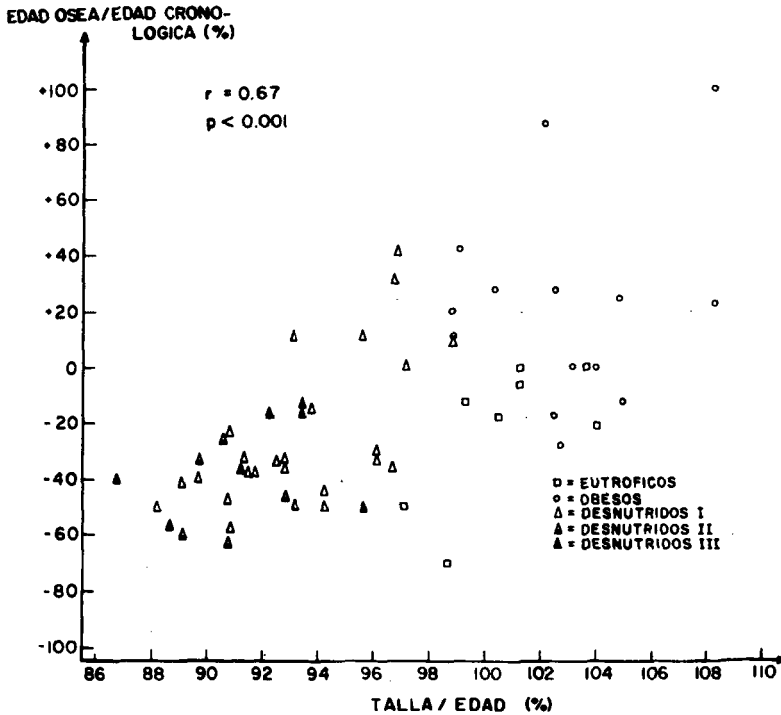


FIGURA 1

Correlación entre edad ósea y talla en niños malnutridos

TABLA 6

## CARACTERÍSTICAS DE LOS NIÑOS DESNUTRIDOS GRADO I SEGUN EDAD GESTACIONAL Y PESO DE NACIMIENTO

	D <sub>I</sub> - AEG <sup>a</sup>	D <sub>I</sub> - PRET <sup>b</sup>	D <sub>I</sub> - PEG <sup>c</sup>
Peso (kg)	9.0 ± 1.2 <sup>d</sup> (25)	8.3 ± 1.6 (8)	9.5 ± 1.4 (5)
Talla (cm)	73.7 ± 5.7 (25)	70.3 ± 7.3 (8)	76.0 ± 6.6 (5)
Cráneo	45.9 ± 2.1 (25)	44.5 ± 2.0 (8)	46.2 ± 2.0 (5)

<sup>a</sup><sup>b</sup><sup>c</sup><sup>d</sup>D<sub>I</sub>-AEG = Desnutrido grado I - término - adecuado a la edad gestacional.D<sub>I</sub>-PRET = Desnutrido grado I - pretérmino - adecuado a la edad gestacional.D<sub>I</sub>-PEG = Desnutrido grado I - término - pequeño para la edad gestacional. $\bar{x} \pm DE$  (No. de casos).

En la Tabla 7 se señala que en estos niños, la edad ósea sólo fue significativamente menor entre el grupo de nacidos a un término adecuado, y los a término, pequeños para su edad gestacional.

El promedio de talla de las madres de todos los niños incluidos en la encuesta fue de  $153 \pm 7$  cm, con un rango entre 140 y 168 cm. Se determinó 71.6% de retraso de talla (bajo el percentil 10 de las tablas del NCHS).

TABLA 7

PORCENTAJE DE RETRASO DE EDAD OSEA CON RESPECTO  
A CRONOLOGICA EN DESNUTRIDOS GRADO I

	o/o de retraso en la edad ósea
$D_I - AEG^a$	$-24.9 \pm 27.0^d$ (25)
$D_I - PRET^b$	$-34.7 \pm 28.3$ (8)
$D_I - PEG^c$	$-45.5 \pm 13.1^*$ (5)

<sup>a</sup> Desnutrido grado I — RN término — adecuado a la edad gestacional.

<sup>b</sup> Desnutrido grado I — RN pretérmino — adecuado a la edad gestacional.

<sup>c</sup> Desnutrido grado I — RN término — pequeño para la edad gestacional.

<sup>d</sup>  $\bar{x} \pm DE$  (No. de casos).

\*  $P < 0.025$  con respecto al grupo  $D_I - AEG$ .

La edad promedio de menarquia de las madres de los niños desnutridos, fue significativamente menor que la de las madres de niños eutróficos ( $13.0 \pm 1.5$  vs  $14.0 \pm 1.6$  años, respectivamente;  $P < 0.025$ ).

## DISCUSION

En la sección de resultados se destaca que el apetito de los niños incluidos en el estudio, evaluados según la impresión subjetiva de sus madres, era menor mientras peor era su estado nutricional. Es posible que esta alteración haya contribuido a retardar la respuesta recuperacional de estos pacientes. Tales hallazgos concuerdan con los descritos por Burrows y Muzzo (25).

Es de interés señalar que a pesar que a 60 de los niños investigados se les exigió un peso al nacer mayor de 2,500 g, hubo un peso promedio significativamente menor en los desnutridos, en comparación con los eutróficos y obesos. Se ha descrito que los desnutridos de los Centros Cerrados de Recuperación Nutricional (CONIN) (1, 14) tienen un menor peso al nacer que los niños normales, a causa de la mayor frecuencia de haber

tenido bajo peso al nacer para su edad gestacional.

Los desnutridos prematuros AEG tuvieron igual porcentaje de retraso de edad ósea que los desnutridos grado I a término AEG, a pesar de que se sabe que los primeros tienen ya cierto retraso al nacer (26). Esto sugiere que en algún momento de su vida postnatal, tuvieron una sobreaceleración en su maduración ósea.

El mayor retraso en los desnutridos grado I con antecedentes de haber sido PEG indica que la existencia de desnutrición intrauterina y postnatal precoz se suma a esos efectos.

Se ha descrito que los niños con obesidad simple tienen mayor talla que los eutróficos (15, 17, 27). Los obesos estudiados presentaron un adelanto de edad ósea con talla normal. Este hallazgo podría explicarse dado el escaso tiempo de evolución de la obesidad, aunque en ellos se observó una mejor adecuación de su talla para la edad.

El hallazgo de retraso de edad ósea en los niños eutróficos, unido a una menarquia más tardía en sus madres, sugiere que podrían existir factores raciales (5, 6), constitucionales (28) o ambientales (10, 11), que no se han manifestado en una desnutrición de peso para edad, pero que podrían estar jugando un rol en este retraso.

Es un hecho de aceptación general la alta prevalencia de obesidad que presenta especialmente las mujeres de nivel socioeconómico bajo, la que aumenta progresivamente con la edad (11, 12, 29). Es en la obesidad simple que hemos descrito una aceleración de la maduración ósea.

Hemos descrito, asimismo, que la desnutrición postnatal precoz induce un retraso en la maduración ósea, la que es mayor mientras más grave es la desnutrición. Se ha informado también una buena correlación entre la edad ósea y la edad de inicio de la pubertad.

En países donde la desnutrición es prevalente, se ha determinado un retraso de la edad de menarquia en adolescentes de sexo femenino (32). Es interesante señalar que, a pesar de que la desnutrición prevalece en la ciudad de Santiago, según informes al respecto, la edad de menarquia es similar a la de países desarrollados (12, 29-31).

Se podría sospechar, que el posible atraso de maduración ósea en nuestras poblaciones, donde existe desnutrición postnatal precoz, se recupera posteriormente por la alta prevalencia de obesidad. Esta recuperaría el déficit de maduración ósea, y haría que la menarquia se produzca a una edad similar a la de poblaciones que no tienen problemas nutricionales.

Los adultos de nivel socioeconómico bajo en nuestro país son de menor estatura que los adultos de países desarrollados. Pensamos así que en Chile, la menor talla detectada en la población de nivel bajo, es mejor expresión de su nutrición durante la infancia que de factores genéticos. Por lo tanto, la recuperación de la maduración ósea que se sospecha en el nivel bajo, a lo largo de la vida no significaría una mejoría de su estatura final.

Sin duda alguna, un seguimiento longitudinal podrá informarnos si esta hipótesis es o no válida.

## SUMMARY

INFLUENCE OF NUTRITION ON THE BONE DEVELOPMENT  
IN THE CHILD

The effect of nutrition on infant bone age was studied. Bone age was examined in children with different degrees of malnutrition using wrist X-Rays and comparing them with Greulich and Pyle Atlas. There were no differences in the socioeconomic level of the different groups. In obese children bone age was advanced, while in undernourished, it was retarded. The more severe the undernutrition the more delayed the bone age. A positive correlation between the percentage of variation of bone age and chronological age, and percentage of height for age was found. A greater delay in bone age was detected in undernourished children who had been small for date infants.

## BIBLIOGRAFIA

1. Mönckeber, F. Treatment of severe malnutrition during the first year of life. En: *Nutrition in the 1980s: Constraints on Our Knowledge*. New York, Alan R. Liss, Inc., 1981, p. 141-149.
2. Graham, G. G. Effect of infantile malnutrition on growth. *Fed. Proc.*, **26**:139-143, 1967.
3. Herrera, P., O. Undurraga, M. Neira, A. Manterola, E. Vallejos, I. Matamala & J. León. Algunos aspectos del efecto de la desnutrición grave sobre el esqueleto. *Rev. Chil. Pediat.*, **38**:674-677, 1967.
4. Dreizen, S., R. E. Stone & T. D. Spies. The influence of chronic undernutrition on bone growth in children. *Post. Grad. Med.*, **29**:182-193, 1961.
5. Marshall, W. A., M. T. Ashcroft & G. Bryan. Skeletal maturation of the hand and wrist in Jamaican children. *Human Biol.*, **42**:419-435, 1970.
6. Prakash, S. & S. R. K. Chopra. Hand-wrist ossification timing delay in Punjabee pre-school children from Rohtak. *Indian J. Med. Res.*, **68**:531-539, 1978.
7. Dreizen, S., R. M. Snodgrass, H. Webb-Peploe & T. D. Spies. The effect of prolonged nutritive failure on epiphyseal fusion in the human hand skeleton. *Am. J. Roentgenol.*, **78**:461-469, 1957.
8. Roord, J. J., L. H. J. Ramaekers & J. M. A. Van Engelshoven. Intrauterine malnutrition and skeletal retardation. *Biol. Neonate*, **34**:167-169, 1978.
9. Prader, A., J. M. Tanner & G. A. Von Harnack. Catch-up growth following illness or starvation. *J. Pediat.*, **62**(5):646-659, 1963.
10. Barja, I., M. E. de la Fuente, D. Ballester, F. Mönckeberg & G. Donoso. Peso y talla de preescolares chilenos de tres niveles de vida. *Rev. Chil. Pediat.*, **36**:525-529, 1965.
11. Arteaga, A., A. Galofré, A. Maiz, A. Winter, H. Taboada & L. Cornejo. Estudio nutricional de una población infantil del Area Sur-Oriente de Santiago (1970). *Rev. Med. Chile*, **102**:387-394, 1974.
12. Valiente, S., A. Arteaga, M. Muñoz & J. V. Santa María. Obesidad: ¿un problema colectivo en Chile? *Rev. Med. Chile*, **91**:868-871, 1963.
13. Undurraga, O., A. Manterola, V. Kardonsky & T. Segura. Desnutrición infantil precoz y grave. Efectos sobre el crecimiento pondo-estatural. *Bol. Med. Hosp. Infantil Mex.*, **32**:463-485, 1975.
14. Balassa, R., X. Cassorla, R. Reyes, J. Espinoza, M. Araya, C. Castillo & O. Brunser. *Recuperación Nutricional de Niños Marásimicos*. Informe a la Corporación para la

Nutrición Infantil de Chile, 1978.

15. Knittle, J. L., R. J. Merritt, D. Difon-Shanier, F. Ginsberg-Fellner, K. I. Timmers & D. P. Katz. Childhood obesity. En: **Textbook of Pediatric Nutrition**. R. M. Suskind (Ed.). New York, N. Y., Raven Press, 1981, p. 415-434.
16. Hammar, S. L., M. M. Campbell, V. A. Campbell, N. L. Moores, C. Sareen, F. J. Gareis & B. Lucas. An interdisciplinary study of adolescent obesity. **J. Pediat.**, **80**:373-383, 1972.
17. Forbes, G. B. Lean body mass and fat in obese children. **Pediatrics**, **34**:308-314, 1964.
18. Sempé, M. & M. P. Massé. **La Croissance Normale. Methodes de Mesures de Resultats**. Paris, France, L'Expansion Scientifique Française, 1965.
19. Lubchenco, L. O. Assessment of gestational age and development at birth. **Pediat. Clin. North America**, **17**:125-145, 1970.
20. Graffar, M. Une méthode de classification sociale d'échantillons de population. **Courrier**, **G**:445-549, 1956.
21. Alvarez, M. L., F. Wurgaft & M. E. Salazar. Mediciones del nivel socioeconómico bajo urbano en madres con lactante desnutrido. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **32**:650-662, 1982.
22. **Vital and Health Statistics, NCHS Growth Curves for Children, Birth to 18 Years, United States**. Hyattsville, Md., U. S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Center for Health Statistics, 1977. (Series 11, No. 165).
23. Greulich, W. W. & S. I. Pyle. **Radiographic Atlas of Skeletal Development of the Hand and Wrist**. 2nd. ed. Stanford, California, Stanford University Press, 1959.
24. **Non-Parametric Statistics for the Behavioral Sciences**. S. Sidney (Ed.). New York, N. Y., McGraw-Hill Book Company, 1956.
25. Burrows, R. & S. Muzzo. Efecto de la estimulación del apetito en la velocidad de recuperación ponderal de niños con desnutrición calórico-proteica. **Rev. Chilena Pediat.**, **52**:187-193, 1981.
26. Scott, K. E. & R. Usher. Epiphyseal development in fetal malnutrition syndrome. **New Engl. J. Med.**, **270**:822-824, 1964.
27. Forbes, G. B. Nutrition and growth. **J. Pediat.**, **91**:40-42, 1977.
28. Hansman, Ch. F. & M. M. Maresh. A longitudinal study of skeletal maturation. **Am. J. Dis. Child.**, **101**:305-321, 1961.
29. Stunkard, H., E. d'Aquili, S. Fox & R.D.L. Filion. Influence of social class on obesity and thinness in children. **JAMA**, **221**:579-584, 1972.
30. Patri, A., C. Valenzuela, I. Morales, I. Saavedra & L. Figueroa. Estudio de la edad de la menarquia en niñas escolares de la enseñanza fiscal del sector norte de Santiago. Edad de la menarquia y factores determinantes. **Cuadernos Médico-Sociales (Chile)**, **21**:12-20, 1980.
31. Dreizen, S., Q. N. Spirakis & R. E. Stone. A comparison of skeletal growth and maturation in undernourished and well-nourished girls before and after menarche. **J. Pediat.**, **70**:256-263, 1967.
32. Programas de planificación familiar. Fecundidad adolescente. Riesgos y consecuencias. **Population Reports, Serie J.**, No. 10, agosto, 1976, 4 p.

# LONGITUDINAL STUDY ON HEAD CIRCUMFERENCE OF PAKISTANI INFANTS IN DIFFERENT SOCIOECONOMIC GROUPS

*Saeed A. Nagra<sup>1</sup> and Abrar H. Gilani<sup>2</sup>*

University of the Punjab, Lahore, Pakistan, and University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

## SUMMARY

Head circumference of Pakistani infants from different socioeconomic groups, was measured during the entire period of infancy. Growth curves for head circumference of local infants remained below the 25th percentile of the Harvard standard throughout the first year. However, divergence from the standard increased as their age advanced. Head circumference was found to vary directly with socioeconomic status. It was concluded that smaller head circumference of the local infants was part of the overall growth depression caused by inadequate supplementary feeding and late introduction of solids to the infants' diet.

## INTRODUCTION

Physical anthropometry is considered a valuable tool for the indirect assessment of nutritional status of a community.

In earlier communications we have discussed the influence of socioeconomic status (SES) on body weight (1) and length (2) of Pakistani infants. Measurement of the head circumference (HC) is valuable for the period of infancy and makes it possible to assess the volume of the brain and its development as reflected by the gradual increase in the HC (3). When used in combination with other anthropometric data, this parameter is especially useful to assess the nutritional status of the infants. The study herein presented is the first of its kind carried out in Pakistan and it is the object of this paper to present the growth pattern of HC of local infants in different socioeconomic groups, and to suggest local standards for HC for the first year of life.

---

Manuscrito modificado recibido: 28-9-83.

- 1 Division of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of the Punjab, Lahore-1, Pakistan.
- 2 Department of physiology and pharmacology, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.

## MATERIALS AND METHODS

A total of 916 infants born in various hospitals of Faisalabad, Pakistan, having no congenital abnormality, were randomly selected for this study. Head circumference was measured by the method recommended by Jelliffe (4) within 24 hours of birth and every  $30 \pm 2$  days thereafter in a longitudinal fashion throughout the first year of life. After birth all the observations were recorded by visiting the family at its residence.

Data thus obtained were classified into three SES i.e. high, medium and low according to the method adopted by Nagra *et al.* (1). Analysis of variance (5) and Duncan's multiple range test (6) were used to determine significant differences. Various percentiles (7) were worked out for comparison with the standard.<sup>3</sup>

## RESULTS

Average values for HC of the infants, from birth to 12 months of age are given sexwise in Table 1. Details of the average HC of infants belonging to various SES are presented in Table 2.

TABLE 1  
AVERAGE MONTHLY HEAD CIRCUMFERENCE OF INFANTS  
IRRESPECTIVE OF SOCIOECONOMIC STATUS (cm)

Age	Male		Female	
	Local	Standard	Local	Standard
At birth	34.1 $\pm$ 1.2a(488)	35.3	33.5 $\pm$ 1.3a(388)	34.7
1	36.4 $\pm$ 1.2b(379)		35.6 $\pm$ 1.2b(284)	
2	38.2 $\pm$ 1.1c(355)		37.2 $\pm$ 1.3c(243)	
3	39.3 $\pm$ 1.5d(322)	40.9	38.3 $\pm$ 1.3d(238)	40.0
4	40.4 $\pm$ 1.2e(278)		39.2 $\pm$ 1.2e(210)	
5	41.3 $\pm$ 1.2f(279)		40.2 $\pm$ 1.3f(210)	
6	42.0 $\pm$ 1.3g(255)	43.9	40.9 $\pm$ 1.3g(202)	42.8
7	42.6 $\pm$ 1.2h(264)		41.7 $\pm$ 1.3h(205)	
8	43.1 $\pm$ 1.2i(256)		42.3 $\pm$ 1.1i(188)	
9	43.6 $\pm$ 1.2j(255)	46.0	42.8 $\pm$ 1.3j(201)	44.6
10	44.0 $\pm$ 1.1k(276)		43.2 $\pm$ 1.3k(231)	
11	44.4 $\pm$ 1.2l(280)		43.5 $\pm$ 1.2l(255)	
12	44.7 $\pm$ 0.9m(296)	47.3	43.7 $\pm$ 1.1m(229)	45.8

Values are mean  $\pm$  SD, and the figures in parentheses represent the number of samples. Means within a column followed by different letters are significantly different at the  $P < 0.01$  level.

<sup>3</sup> Harvard standard; Start & Stevenson (1959).

TABLE 2  
 AVERAGE MONTHLY HEAD CIRCUMFERENCE OF INFANTS BELONGING TO DIFFERENT SOCIOECONOMIC GROUPS  
 (cm)

Age	Socioeconomic group					
	High		Medium		Low	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
At birth	34.3 ± 1.2(90)	33.8 ± 1.2(69)	34.2 ± 1.4(224)	33.6 ± 1.3(195)	33.8 ± 1.3(174)	33.1 ± 1.3(124)
1	36.8 ± 1.0(73)	36.0 ± 1.1(56)	36.5 ± 1.2(171)	35.7 ± 1.3(143)	36.0 ± 1.4(135)	35.2 ± 1.3(85)
2	38.6 ± 0.9(70)	37.4 ± 1.2(47)	38.2 ± 1.2(165)	37.3 ± 1.3(124)	37.7 ± 1.4(120)	36.8 ± 1.4(72)
3	39.4 ± 1.5(62)	38.6 ± 1.2(51)	39.6 ± 1.5(148)	38.4 ± 1.2(122)	38.8 ± 1.4(112)	38.0 ± 1.5(65)
4	40.8 ± 1.1(59)	39.6 ± 1.1(48)	40.6 ± 1.2(127)	39.3 ± 1.2(109)	39.9 ± 1.2(92)	38.8 ± 1.4(53)
5	41.8 ± 1.0(55)	40.5 ± 1.3(42)	41.2 ± 1.1(127)	40.2 ± 1.5(118)	40.8 ± 1.3(97)	39.8 ± 1.4(50)
6	42.4 ± 1.2(52)	41.4 ± 1.2(48)	42.1 ± 1.2(113)	40.9 ± 1.3(100)	41.4 ± 1.3(90)	40.5 ± 1.3(54)
7	43.0 ± 1.2(51)	42.3 ± 1.3(41)	42.7 ± 1.1(117)	41.6 ± 1.6(105)	42.1 ± 1.3(96)	41.2 ± 1.1(59)
8	43.5 ± 1.3(58)	42.7 ± 1.1(43)	43.3 ± 1.2(114)	42.3 ± 1.3(95)	42.6 ± 1.2(84)	41.8 ± 1.0(50)
9	43.9 ± 1.2(52)	43.1 ± 1.3(47)	43.8 ± 1.1(109)	42.8 ± 1.3(97)	43.0 ± 1.3(94)	42.4 ± 1.4(57)
10	44.4 ± 1.0(54)	43.5 ± 1.2(47)	44.2 ± 1.0(122)	43.2 ± 1.3(120)	43.5 ± 1.2(100)	42.8 ± 1.4(64)
11	44.8 ± 1.3(60)	43.9 ± 1.1(50)	44.6 ± 0.9(119)	43.6 ± 1.2(115)	43.8 ± 1.3(101)	43.0 ± 1.3(60)
12	45.1 ± 0.8(62)	44.0 ± 1.0(49)	44.9 ± 0.9(124)	43.8 ± 1.0(121)	44.2 ± 1.4(105)	43.4 ± 1.2(59)

Values are mean ± SD, and figures in parantheses represent the number of samples.

Average HC of male infants was  $34.1 \pm 1.2$  cm at birth and increments in the first and second six months of life were 7.9 and 2.7 cm, respectively, as compared with standard values of 35.3 cm at birth and an increment of 8.6 cm for the first and 3.4 cm for the second six months of life. Average HC of female infants was  $33.5 \pm 1.3$  cm at birth with an increment of 7.4 cm in the first six months, and 2.8 cm for the second six months as compared with the standard value of 34.7 cm at birth and an increase in HC of 8.1 cm for the first semester and 3.0 cm for the second semester.

Infants of either sex showed lesser HC values than that of the standard throughout the first year. Nevertheless, the difference was more pronounced in the second six months of life. Male infants had greater HC than females at all ages. Statistical analysis of the data revealed that the infants of either sex belonging to high SES had a significantly ( $p < 0.01$ ) greater HC than infants from medium or low SES, and infants belonging to medium SES had a significantly ( $p < 0.01$ ) greater HC than infants from low SES.

#### DISCUSSION

The influence of SES on HC of infants is evident (Table 2). Like weight (1) and length (2) high SES appeared to be associated with larger HC (8). During first year of life infants belonging to high SES had an increment of 11.0 and 11.1 cm for the male and female infants, respectively. This figure, on an average, was 1.0 cm less than the infants standard for either sex. A comparison of HC values obtained in the present study with those reported by Grantham-McGregor and Desai (9) revealed that the HC of Jamaican infants belonging to a low SES was greater than the local infants belonging to the high SES. It may be concluded that in Pakistan, even the high-income segment of population has not yet improved its living standard to the extent that it affects the physical growth and development of the newborn. However, values for HC of local infants at birth were comparable with those reported by Brzozowska (10) and Palti and Adler (11).

Growth curves for HC of local infants belonging to different SES (Figures 1 and 2) remained below the 25th percentile of the standard throughout the first year and divergence from the standard increased with advancing age. A similar trend had been observed in the growth curves of local infants in regard to weight (1) and height (2). This may be due to inadequate supplementary feeding and late introduction of solids to the infants' diet, which result in overall growth depression (12).

It is suggested that the HC of local infants belonging to the high SES, be adopted as local standard.

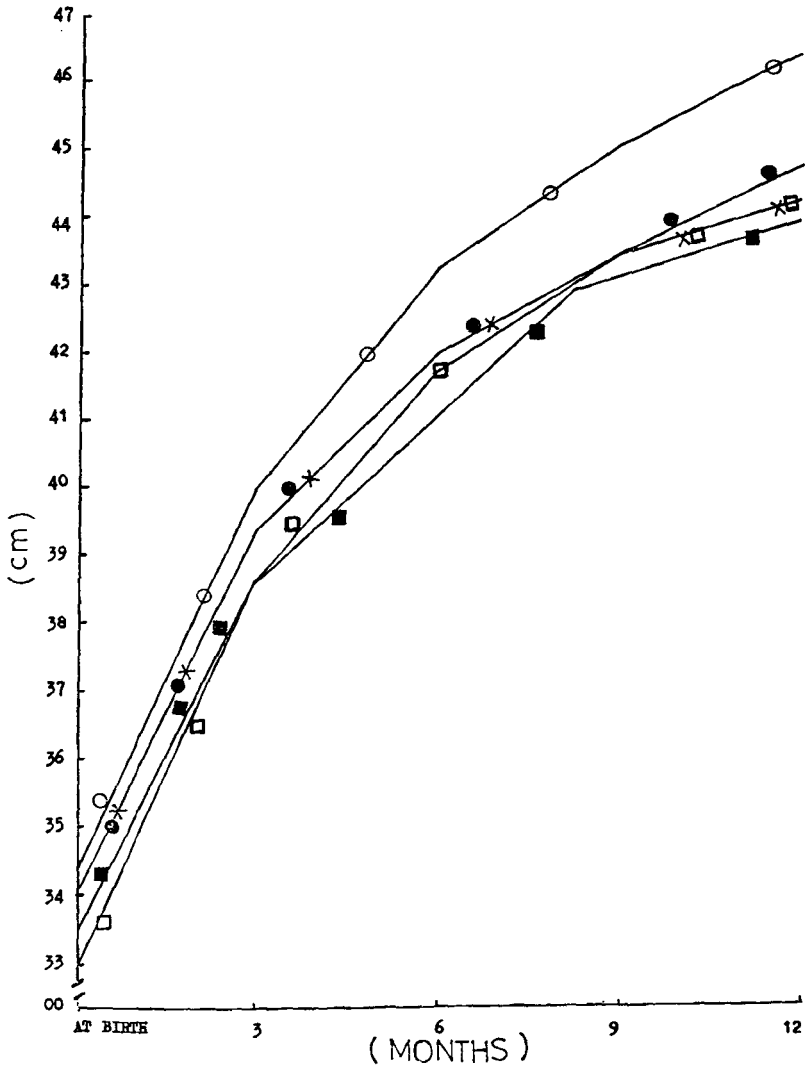


FIGURE 1

Head circumference-for-age of male infants belonging to different socioeconomic groups, compared with the Harvard standard. Within the graph, symbols  $\circ$  and  $\square$  represent 25th and 3rd percentile of the Harvard standard, respectively, and  $\bullet$ ,  $\times$  and  $\blacksquare$  represent 50th percentile of local infants belonging to high, medium, and low socioeconomic groups, respectively.

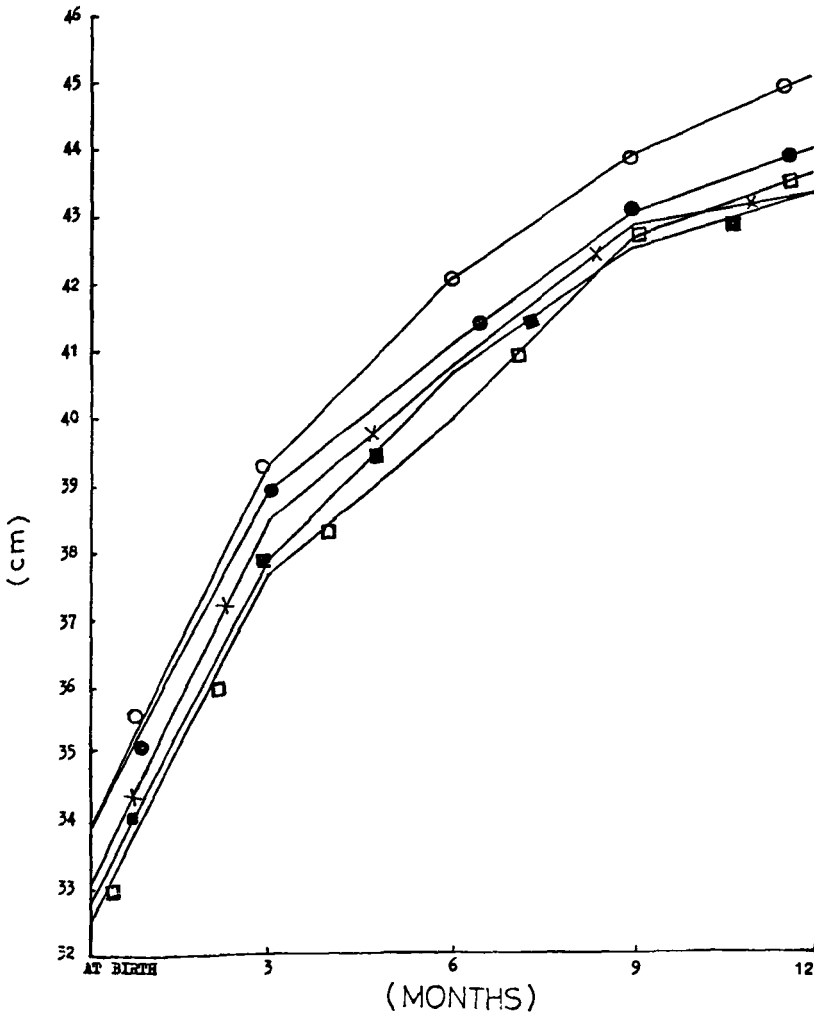


FIGURE 2

Head circumference-for-age of female infants belonging to different socioeconomic groups, compared with the Harvard standard. Within the graph, symbols  $\circ$  and  $\square$  represent 25th and 3rd percentile of the Harvard standard, respectively, and  $\bullet$ ,  $\times$  and  $\blacksquare$  represent 50th percentile of local infants belonging to high, medium, and low socioeconomic groups, respectively.

## RESUMEN

**ESTUDIO LONGITUDINAL DE LA CIRCUNFERENCIA CRANEANA  
DE NIÑOS LACTANTES DE PAQUISTAN DE GRUPOS  
SOCIOECONOMICOS DIFERENTES**

Se midió la circunferencia craneana de niños lactantes de Paquistán procedentes de grupos socioeconómicos diferentes, durante el período total de la infancia. Se determinó que las curvas de crecimiento de la circunferencia craneana de los niños locales permanecía por debajo del 25 percentilo del estándar de Harvard a través del primer año de vida. La diferencia del estándar, sin embargo, aumentaba a medida que los niños avanzaban en edad. Según se encontró, la circunferencia craneana varía directamente con el status socioeconómico. Se llegó a la conclusión de que la menor circunferencia craneana de los niños locales era parte del retardo en el crecimiento causado por una alimentación suplementaria inadecuada y una tardía introducción de sólidos a la dieta del pequeño.

## ACKNOWLEDGEMENTS

One of the authors (SAN), wishes to thank the University Grants Commission of the Government of Pakistan, for the award of a fellowship which allowed him to pursue doctoral studies, part of whose research report is included in this paper.

## BIBLIOGRAPHY

## BIBLIOGRAPHY

1. Nagra, S. A., A. H. Gilani, M. D. Ahmad & E. Haq. A longitudinal study in body weight of Pakistani infants as influenced by socioeconomic status. Accepted for publication in *J. Trop. Pediat.* (U. K.).
2. Nagra, S. A. & A. H. Gilani. Effect of socioeconomic status on body length of Pakistani infants during first year of life. Accepted for publication in *J. Trop. Pediat.* (U. K.).
3. Educational, Scientific and Cultural Organization. **The Child and His Development from Birth to Six Years Old** (2nd ed.). Paris, France, UNESCO, 1976.
4. Jelliffe, D. B. **The Assessment of the Nutritional Status of the Community.** Geneva, World Health Organization, 1966 (WHO Monograph Series No. 53).
5. Bancroft, T. A. **Topics in Intermediate Statistical Methods.** Vol. I. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1968.
6. Duncan, D. B. Multiple range and multiple F-test. *Biometrics*, 11:1-42, 1955.
7. Steel, R. & J. Torrie. **Principles and Procedures of Statistics.** New York, N. Y., McGraw Hill, Inc., 1960.
8. Grantham-McGregor, S. M. & P. Desai. Head circumference of Jamaican infants. *Dev. Child. Neurol. Suppl.* 15(4):441-446, 1973.
9. **Ten State Nutrition Survey.** Atlanta, Georgia, Center for Disease Control, 1972 (DHEW Publication No. (HSM)72-8131).
10. Brzozowska, I. Physical development of newborn infants in Poland. *Probl. Medyeymy. Weiku Rozowjowego*, 3:83-98, 1973.
11. Palti, H. & B. Adler. Anthropometric measurements of the newborn, sex difference and correlation between measurements. *Human Biol.*, 47:523-530, 1975.
12. Nagra, S.A. **Growth and Development of Infants: A Longitudinal Study during First Year of Life.** Ph. D. Thesis. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan, 1979.

# VALOR NUTRITIVO DE DIETAS ELABORADAS A BASE DE TUBERCULOS Y LEGUMINOSAS CONSUMIDAS EN TRES PROPORCIONES DIFERENTES<sup>1</sup>

*Walter da S. Jorge João<sup>2</sup>, Luiz G. Elías<sup>3</sup> y Ricardo Bressani<sup>4</sup>*

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),  
Guatemala, Guatemala, C. A.

## RESUMEN

La finalidad del presente trabajo fue determinar el valor nutritivo de dietas elaboradas a base de harinas de yuca y de frijol caupí. Las proporciones estudiadas fueron de 87/13, 70/30 y 50/50. Se investigó también el efecto de suplementar las dietas con metionina. Para evaluar el valor nutritivo de las dietas, se utilizó el porcentaje de proteína utilizable. Se observó que los valores más altos de proteína utilizable, se obtuvieron con las dietas constituidas por harinas de yuca y frijol caupí en la proporción de 50/50, encontrándose diferencias significativas entre las proporciones estudiadas. Al verificar el efecto de la suplementación con metionina, no se constataron diferencias significativas con la adición de este aminoácido a la dieta elaborada con harinas de yuca y frijol caupí en la proporción de 87/13. Sin embargo, en el caso de las proporciones 70/30 y 50/50, sí se observaron diferencias significativas debido a dicha suplementación. Los resultados señalan que los valores más altos se obtuvieron cuando ambas dietas fueron adicionadas con metionina. Asimismo, el porcentaje de proteína utilizable aumentó a medida que las proporciones de frijol caupí se incrementaban en las dietas.

---

Manuscrito modificado recibido: 5-4-84.

- 1 Este trabajo se llevó a cabo en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), durante la permanencia del Dr. Jorge João en carácter de becario. Participó en el Curso de Post-Grado en Ciencias de Alimentos y Nutrición Animal del Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos (CESNA), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia/INCAP.
- 2 Profesor del Curso de Nutrición del Centro de Ciencias de la Salud, Universidad Federal del Pará, Belém, Pará, Brasil.
- 3 Jefe del Programa de Alimentos Básicos de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.
- 4 Jefe de la citada División, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Apartado Postal 1188, Guatemala, Guatemala, C. A.

Publicación INCAP E-1130.

## INTRODUCCION

Es un hecho más que establecido que las leguminosas de grano constituyen una fuente potencial de proteínas en la dieta de numerosas poblaciones del mundo.

En el Brasil, por ejemplo, se encontró que las leguminosas se consumen generalmente una vez al día por casi el 100% de las familias, siendo la fuente más importante de proteína de la alimentación habitual (1). En otras encuestas dietéticas realizadas (2), se determinó que el consumo medio de leguminosas en todo el Brasil, alcanza cifras de aproximadamente 68 g por persona, por día. Sin embargo, se ha encontrado también que existe una gran variación en cuanto al consumo de leguminosas en todo el país.

Por otra parte, la harina de yuca que representa la fuente primordial de calorías es también grandemente consumida por la población, sobre todo en las regiones norte y noreste del Brasil.

Considerando que estos alimentos constituyen la dieta de consumo habitual en estas regiones, llegamos a la conclusión de que era necesario estudiar el valor nutritivo de dietas con estas características.

En virtud de lo expuesto, se realizó este trabajo con miras a determinar el valor nutritivo de dietas a base de tubérculos y leguminosas, consumidas en tres proporciones diferentes, con y sin la adición de metionina.

## MATERIAL Y METODOS

Para el caso, se utilizó la harina de yuca, obtenida comercialmente en la ciudad de Guatemala. La semilla de frijol caupí (*Vigna sinensis*) que se usó fue cosechada en la finca experimental del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). La obtención de harina del frijol caupí se ciñó a los métodos descritos por otros autores (3). El análisis químico proximal de cada uno de los alimentos se efectuó de acuerdo a los métodos de la AOAC (4).

Los estudios biológicos fueron realizados en ratas Wistar de 21 días de edad de la colonia animal del INCAP. Se empleó un número de ocho animales por cada grupo experimental, integrados por cuatro machos y cuatro hembras. El alimento y el agua fueron administrados *ad libitum* y las ratas se alojaron en jaulas individuales de alambre con pisos levadizos.

Para investigar el valor nutritivo de las diferentes proporciones de harinas de yuca y frijol caupí, con y sin adición de metionina, se prepararon dietas a base de estos materiales en tres proporciones diferentes, como sigue: 87/13, 70/30 y 50/50, respectivamente. Además, a cada dieta experimental se agregó 5% de aceite de semilla de algodón, 4% de minerales (5), 1% de aceite de hígado de bacalao y 5% de solución de vitaminas (6). La cantidad de DL-metionina agregada fue de 0.21 g% de la dieta, cantidad que se consideró adecuada en estudios anteriores en los que se usó el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) (3). La duración del estudio para la determinación de la proteína utilizable (7, 8), fue de cuatro semanas.

Los animales bajo experimento se pesaron cada semana y semanalmente se determinó también el consumo de alimentos.

### RESULTADOS Y DISCUSION

La composición química proximal, tanto de las harinas de yuca, como de frijol caupí, se detalla en la Tabla 1. Como se observa, el contenido de proteína en la harina de yuca fue de 1.5% y en la del frijol caupí de 25.3%, respectivamente. La composición de las dietas experimentales utilizadas en este estudio también se da a conocer en la Tabla 2. Por otro lado, en la Tabla 3 y en la Figura 1 se exponen los resultados en cuanto a calidad proteínica de las dietas elaboradas con diferentes proporciones de harinas de yuca y frijol caupí, con y sin la adición de metionina. Según se aprecia, al comparar las diferentes proporciones utilizadas en la elaboración de las dietas, se encontró que los mayores valores de proteína utilizable se obtuvieron con la dieta constituida por harina de yuca y frijol caupí en la proporción de 50/50, constatándose diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las tres proporciones diferentes sometidas a ensayo. Además, al verificar el efecto del agregado de metionina, no se encontró ninguna diferencia significativa al adicionar este aminoácido a la mezcla de harinas de yuca y frijol caupí en la proporción de 87/13. Sin embargo, para las proporciones de 70/30 y de 50/50, sí hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) debidas al agregado de metionina. Los valores más altos de proteína utilizable se obtuvieron al adicionar dicho aminoácido a ambas dietas. Por otro lado, conforme lo ilustra gráficamente la Figura 1, los valores de proteína utilizable aumentaron a medida que se incrementaban las proporciones de frijol caupí en las dietas. Dutra de Oliveira y de Menezes Salata (9), notifican resultados similares al utilizar mezclas de frijol común (*P. vulgaris*) y harina de yuca.

TABLA 1

ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DEL FRIJOL CAUPI Y HARINA DE YUCA  
(Expresado en términos de porcentaje)

	Harina de yuca	Frijol caupí
Humedad	12.2	6.9
Extracto etéreo	0.4	0.2
Fibra cruda	1.7	5.1
Nitrógeno	0.234	4.042
Proteína (N x 6.25)	1.5	25.3
Ceniza	1.4	2.6
Carbohidratos*	82.8	59.9
	100.2	80.2

\* Valores obtenidos por diferencia (100-% H<sub>2</sub>O - % E. etéreo - % de fibra cruda - % proteína - % ceniza).

TABLA 2

COMPOSICION DE LAS DIETAS ELABORADAS A BASE DE HARINAS DE YUCA Y DE FRIJOL CAUPI  
EN DIFERENTES PROPORCIONES CON Y SIN LA ADICION DE METIONINA

(Expresada en g/100 g)

Ingredientes	Yuca-frijol, 87/13		Yuca-frijol, 70/30		Yuca-frijol, 50/50	
	Con metionina	Sin metionina	Con metionina	Sin metionina	Con metionina	Sin metionina
Mezcla	89.79	90.0	89.79	90.0	89.79	90.0
Metionina	0.21	—	0.21	—	0.21	—
Minerales	4.00	4.0	4.00	4.0	4.00	4.0
Aceite de semilla de algodón	5.00	5.0	5.00	5.0	5.00	5.0
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.0	1.00	1.0	1.00	1.0
Total	100.00	100.0	100.00	100.0	100.00	100.0
Solución de vitaminas	5.00	5.0	5.00	5.0	5.00	5.0
o/o de proteína en la dieta	4.12	4.59		8.64		13.40

TABLA 3

**CALIDAD PROTEINICA DE DIETAS ELABORADAS CON DIFERENTES PROPORCIONES DE HARINAS DE YUCA Y FRIJOL CAUPI CON Y SIN LA ADICION DE METIONINA**

Dieta	Consumo de alimentos g	Ganancia de peso g	Proteína en la dieta o/o	Proteína utilizable** o/o
Yuca - Frijol 87/13 con metionina	166 ± 24.9*	-1 ± 1.2	4.7	-0.20
Yuca - Frijol 87/13 sin metionina	158 ± 5.5	-3 ± 1.4	4.7	-0.70
Yuca - Frijol 70/30 con metionina	272 ± 14.2	45 ± 3.5	8.0	4.93
Yuca - Frijol 70/30 sin metionina	246 ± 12.4	14 ± 1.6	8.0	1.65
Yuca - Frijol 50/50 con metionina	428 ± 12.4	127 ± 6.3	13.0	8.83
Yuca - Frijol 50/50 sin metionina	280 ± 12.6	50 ± 3.6	13.0	5.38

\* Error Estándar.

\*\* % Proteína utilizable =  $\frac{\text{Valor nutr. relat. a la caseína} \times \% \text{ de prot. en dieta}}{100}$

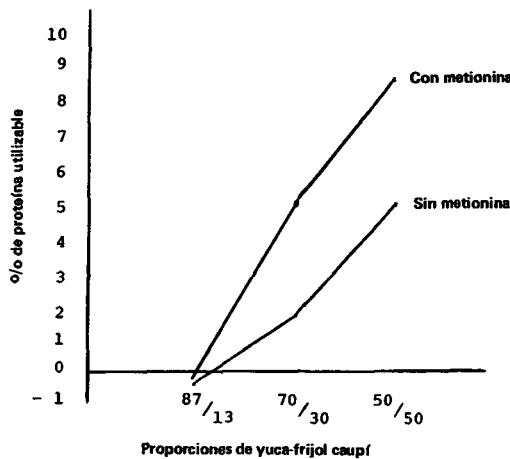


FIGURA 1

Calidad proteínica de dietas elaboradas con diferentes proporciones de harinas de yuca-frijol caupí, con y sin la adición de metionina

Se puede concluir, por lo tanto, que la adición del aminoácido metionina sólo es efectiva cuando se utiliza harinas de yuca y de frijol caupí en las proporciones de 70/30 y de 50/50, respectivamente.

#### SUMMARY

#### NUTRITIVE VALUE OF DIETS BASED ON TUBERS AND LEGUMES, CONSUMED IN THREE DIFFERENT PROPORTIONS

This study was an attempt to determine the nutritional value of diets based on mixtures of manioc and cowpea flours. The proportions analyzed were 87/13, 70/30 and 50/50, respectively. The effect of supplementing these diets with methionine was also investigated. The nutritional value of the diets was evaluated using as a basis the percentage of utilizable protein. Findings revealed that the protein was best utilized when the percentages of manioc and cowpea flours were 50/50, with significant differences observed among the proportions analyzed. In contrast, no significant differences were observed with methionine supplementation to diets of manioc and cowpea flours mixed in the proportion of 87/13. However, when the proportions were 70/30 and 50/50, the addition of methionine induced significant differences, with the highest protein value in both mixtures. It was also observed that the percentage of utilizable protein increased as the proportions of cowpea in the diets also increased.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ICNND Nutrition Surveys. Northeast Brazil, 1965. En: "Comentarios de la Conferencia sobre Aceptabilidad y Valor Nutricional de las Plantas Leguminosas de Grano en la Dieta Humana". (Dutra de Oliveira y Nelson de Souza). Presentado en: Seminario sobre el Potencial del Frijol y de otras Leguminosas Comestibles en América Latina, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, 26 de febrero a 10 de marzo de 1973.
2. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Las Leguminosas en la Nutrición Humana. Roma, FAO, 1964, p. 15-40 (Serie Estudios sobre Nutrición, No. 19).
3. Bressani, R., L. G. Elías & A. T. Valiente. Effect of cooking and of amino acid supplementation on the nutritive value of black beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Brit. J. Nutrition*, 17:69-78, 1963.
4. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970.
5. Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.*, 138:459-466, 1941.
6. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B<sub>13</sub> to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, 202:91-96, 1953.
7. Elías, L.G. & R. Bressani. Valor proteínico de los subproductos de la industria del trigo. Complementación y suplementación del granillo de trigo con concentrados proteínicos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 23:95-111, 1973.
8. Jorge João, W.S., L.G. Elías & R. Bressani. Efecto de diferentes tratamientos dietéticos sobre el consumo de dietas a base de tubérculos y leguminosas. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 30:187-199, 1980.
9. Dutra de Oliveira, J. E. & E.B.Z. de Menezes Salata. Methionine-fortified manioc flour to combat protein malnutrition. *Nutr. Reps. Internat.*, 3:291-294, 1971.

# **EFFECTOS DEL DEFICIT DE YODO DURANTE LA VIDA INTRAUTERINA Y POSTNATAL PRECOZ EN LA SINTESIS DE ADN EN HIGADO Y ENCEFALO DE RATAS**

*Isabel Fábrega,<sup>1</sup> María Mánquez,<sup>2</sup> Laura Leiva,<sup>3</sup>  
Abraham Zvaigbaft<sup>4</sup> y Santiago Muzzo<sup>5</sup>*

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

## **RESUMEN**

El déficit de yodo durante la vida pre y postnatal temprana de la rata, produce un descenso transitorio en el contenido de ADN en cerebro y cerebelo. Este se recupera espontáneamente, sin que medie una terapia de reemplazo, debido a una prolongación del período crítico de multiplicación celular. Los resultados del estudio revelaron un aumento transitorio de la captación de timidina radiactiva al 21o día en el hígado, cerebro y cerebelo, indicativo de una mayor actividad de síntesis y desplazamiento del período crítico. Estos hallazgos sugieren, por lo tanto, un daño del sistema nervioso por déficit precoz de yodo durante el embarazo.

## **INTRODUCCION**

Si bien es cierto que el bocio endémico puede considerarse como la enfermedad de más fácil prevención y control, éste continúa prevaleciendo en la mayor parte de los países subdesarrollados, a pesar de que la mayoría de los países afectados han emitido legislaciones referentes a la yodación de la sal para consumo humano (1-5).

---

Manuscrito modificado recibido: 9-5-84.

- 1 **Nutricionista del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Santiago, Chile.**
- 2 **Nutricionista, Departamento de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Antofagasta, Chile.**
- 3 **Tecnólogo Médico, Unidad de Endocrinología del INTA.**
- 4 **Ayudante de investigación en la citada Unidad.**
- 5 **Médico, Jefe de la Unidad de Endocrinología del INTA, Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.**

La profilaxis con yodo se considera como el tratamiento preventivo ideal del bocio endémico. Este debería estar dirigido especialmente a las mujeres embarazadas que habitan zonas donde la prevalencia de bocio endémico es severa, a fin de prevenir el cretinismo endémico (6, 7).

Sin lugar a dudas, el cretinismo endémico es la más seria consecuencia del bocio endémico, ya que produce retardo mental irreversible, diplejia espástica, sordomudez, estrabismo, bocio y mixedema. Se reconocen dos formas de cretinismo endémico: el mixedematoso, en cuyo caso prevalecen los síntomas de hipofunción tiroidea, encontrándose especialmente en países africanos (8), y la forma nerviosa, en la que prevalece la sintomatología neurológica, presentándose en algunas regiones de la cordillera de los Andes (9).

El déficit de yodo es de fundamental importancia en la etiología de este síndrome, ya que el tratamiento preventivo con yodo durante el embarazo evita su aparición. Sin pasar por alto la importancia del déficit de yodo en su etiología, se piensa que factores genéticos y algunos bocígenos también han de jugar un rol importante en su producción.

El cretinismo endémico ha sido estudiado en modelos experimentales en animales, usando dietas severamente deficitarias en yodo (30 ng/g de dieta), las que no sólo producen déficit de este micronutriente, sino también de otros nutrientes. Utilizando estos modelos se han descrito alteraciones en las curvas de crecimiento postnatal y una disminución de las hormonas tiroideas plasmáticas (10).

En Ecuador se ha visto que el coeficiente intelectual de la población de una zona de alta endemia bocígena, mejora solamente si la suplementación con yodo se inicia desde el comienzo del embarazo; no así, si se efectúa después del tercer mes (11).

Pretell en Perú, ha demostrado una mejoría del coeficiente psicomotor de niños de poblaciones suplementadas con yodo (12). Estas investigaciones, junto con otras que señalan que las hormonas tiroideas no atraviesan la placenta (13-15) y que su déficit durante la vida intrauterina —si se trata precozmente en la vida postnatal— evita el retardo mental que presentan los cretinos esporádicos (16). Estas investigaciones hablan en favor de que el daño del sistema nervioso en el cretinismo endémico sería consecuencia del déficit precoz de yodo durante el embarazo, más que de una hipofunción tiroidea del feto.

El trabajo aquí descrito fue un intento de estudiar los efectos del déficit moderado de yodo durante la vida prenatal y postnatal temprana de la rata, medido a través de ciertos parámetros bioquímicos de crecimiento y desarrollo del encéfalo e hígado.

#### MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar de 90 días de edad, con las que se integraron dos grupos: uno experimental, y otro control. Ambos grupos recibieron una dieta baja en yodo, con un contenido de 77 ng de yodo por gramo de dieta y agua deionizada a beber. El agua de bebida del grupo control se suplementó con 1.3 µg de KI/ml, lo que se considera suficiente para cubrir los requerimientos de yodo de la rata. Tanto la dieta como el agua de bebida fueron ofrecidas *ad libitum* a los

animales.

A diferencia de otras dietas utilizadas en modelos experimentales de déficit de yodo (17), la dieta empleada en nuestro estudio mantuvo un contenido calórico y proteínico normales, con un aporte de yodo de 77 ng/g de dieta. El nivel de yodo fue determinado por espectrofotometría, según la técnica de Lein y Schwartz (18). A esta dieta se le agregó metionina y treonina para lograr un cómputo aminoacídico adecuado (19), y una mezcla completa de vitaminas y minerales, excluyendo el yodo. La caseína se reemplazó por soya como fuente proteínica, en vista del conocido efecto antibocigénico de la caseína (20) (Tablas 1 y 2), así como el bajo contenido de yodo de la soya.

Ambos grupos de ratas fueron sometidos a un período de adaptación a la dieta de siete días. Durante el cruce de las ratas se efectuaron frotis vaginales cada mañana, y el día que se encontraron espermios fue considerado como día cero de embarazo.

TABLA 1

COMPONENTES DE LA DIETA BAJA EN YODO

	o/o
Soya	34.60
Gluten	44.00
Harina de trigo	5.12
Minerales (sin I)	4.20
Mezcla de vitaminas	1.00
Levadura	2.00
Maicena	4.08
Celulosa	5.00
	100.00*

\* Se agregaron 36 mg de metionina y 27 mg de treonina por cada 100 g de dieta.

Al nacimiento se dejaron ocho crías por madre en ambos grupos. Las crías fueron destetadas a los 21 días de nacidas, continuando hasta el día 35 de vida postnatal con la dieta baja en yodo. Sólo las ratas control recibieron agua suplementada con yodo.

Semanalmente se realizó un control de ingesta y de peso, tanto en las crías como en las madres. Se mantuvo la temperatura y ciclo de luz-oscuridad de 12 hr a través de todo el experimento.

Las ratas madres se sacrificaron a los 35 días postparto, cuando se extrajeron y pesaron sus glándulas tiroides.

Las crías fueron sacrificadas por decapitación a los 14, 21 y 35 días de vida postnatal; 18 horas antes del sacrificio se les inyectó intraperitonealmente 0.5  $\mu$ Ci de Timidina- $H_3$  por gramo de rata. Se extrajeron los hígados, cerebros, cerebelos y glándulas tiroides, órganos que fueron pesados

TABLA 2

## MEZCLA DE MINERALES EN LA DIETA BAJA EN YODO

Minerales	mg
CaCO <sub>3</sub>	167.21
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	175.62
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	126.60
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	308.62
CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	71.66
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	97.46
NaCl	20.78
FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ·6H <sub>2</sub> O	26.75
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	4.78
ZnCl <sub>2</sub>	0.24
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.29
	<b>1,000.00</b>

y homogeneizados. De este homogeneizado se tomó 1 ml para la extracción de ADN y ARN y proteínas de acuerdo a la técnica de Fleck y Munro (21).

El ADN y ARN fueron leídos a 268 y 260 m $\mu$ , respectivamente, en un espectrofotómetro Perkin Elmer, mientras que las proteínas se determinaron por el método de Biuret (22).

La significancia de los resultados entre el grupo control y el experimental se verificó estadísticamente por la prueba de "t" de Student.

## RESULTADOS

El peso corporal de ratas deficitarias en yodo no acusó diferencias con respecto al grupo control desde el nacimiento hasta los 35 días de vida postnatal (Tabla 3).

El peso de la glándula tiroidea de crías de 35 días de vida postnatal y de madres a los 35 días postparto del grupo experimental, mostró un aumento significativo en comparación con las del grupo control ( $P < 0.0025$  y  $P < 0.025$ , respectivamente) (Tabla 4).

En el grupo experimental se encontró una disminución en el peso del hígado a los 14 y 21 días, con recuperación al 35o día. Lo mismo sucedió con el cerebelo. En cambio, en el cerebro no se encontraron diferencias durante el período de estudio (Tabla 5).

Según se aprecia en la Tabla 6, el contenido proteínico en los órganos de ratas con déficit de yodo sólo mostró una disminución significativa en el cerebelo del grupo experimental al 35o día.

El contenido de ARN en hígado y cerebro, se encontró significativamente disminuido al 14o día, diferencia que desapareció al 35o día en el

**TABLA 3**  
**PESO CORPORAL DE RATAS CON DEFICIT DE YODO**  
 (Expresado en gramos)

Edad (días)	Dieta	
	Control	Experimental
0	6.3 ± 0.5 24	6.0 ± 0.2 <sup>1</sup> 26 <sup>2</sup> NS <sup>3</sup>
14	28 ± 1.9 13	27.2 ± 1.3 12 NS
21	39.8 ± 1.5 10	38.8 ± 3.3 10 NS
35	95.2 ± 7.0 12	93.5 ± 6.8 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

**TABLA 4**  
**PESO DE LA GLANDULA TIROIDES DE CRIAS DE 35 DIAS DE VIDA**  
**POSTNATAL, Y DE MADRES A LOS 35 DIAS POSTPARTO**

	Dieta	
	Control mg	Experimental mg
Crías	7.7 ± 1.4 12	11.9 ± 3.8 <sup>1</sup> 13 <sup>2</sup> < 0.0025 <sup>3</sup>
Madres	18.3 ± 3.5 9	26.4 ± 7.3 9 < 0.025

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3. Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

TABLA 5

PESO DE ORGANOS DE RATAS CON DEFICIT DE YODO  
(Expresado en gramos)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	992 ± 45 14	935 ± 256 14	273 ± 13 7
	Experimental	843 ± 133 <sup>1</sup> 16 <sup>2</sup> <0.025 <sup>3</sup>	1,005 ± 38 16 NS	245 ± 12 8 <0.025
21	Control	1,660 ± 67 10	1,205 ± 18 10	188 ± 10 10
	Experimental	1,546 ± 161 10 <0.05	1,228 ± 30 10 NS	196 ± 30 10 NS
35	Control	4,381 ± 430 12	1,402 ± 73 11	227 ± 22 12
	Experimental	4,220 ± 540 14 NS	1,338 ± 123 14 NS	224 ± 22 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

hígado, pero no en el cerebro, que continuó reducido al 35o. día. Como lo muestra la Tabla 7, el ARN del cerebelo no fue afectado por el déficit de yodo en ninguna de las etapas estudiadas.

Se encontró una reducción significativa del contenido de ADN en el grupo experimental en los tres órganos sometidos a investigación, pero esta disminución desapareció al 35o. día (Tabla 8).

Según se aprecia en la Tabla 9, la incorporación de Timidina-H<sub>3</sub> al ADN en el hígado, cerebro y cerebelo de las ratas experimentales, se encontró significativamente aumentada al 21o día. No sucedió así al 35o día en que la incorporación de timidina se igualó con el grupo control.

**TABLA 6**  
**CONTENIDO TOTAL DE PROTEINAS EN ORGANOS DE RATA**  
**CON DEFICIT DE YODO**  
**(Expresado en miligramos)**

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	78.4 ± 22 13	49.0 ± 3.4 12	6.0 ± 1.2 7
	Experimental	77.0 ± 17.7 <sup>1</sup> 12 <sup>2</sup> NS <sup>3</sup>	45.0 ± 5.2 13 <0.025	6.0 ± 0.3 8 NS
21	Control	209.0 ± 10.8 10	71.0 ± 3.2 10	11.0 ± 2.0 10
	Experimental	179.0 ± 20.6 10 <0.005	72.0 ± 2.8 10 NS	10.0 ± 1.7 10 NS
35	Control	487.0 ± 82.8 12	94.0 ± 7.9 10	15.0 ± 1.5 11
	Experimental	459.0 ± 122.5 14 NS	93.5 ± 6.5 14 NS	13.0 ± 2.1 14 0.01

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

### DISCUSION

Se han descrito variaciones en la función tiroidea de ratas sometidas a dietas deficientes en yodo, y se ha postulado que estas variaciones pueden deberse al contenido de yodo de las dietas, a su bajo valor nutricional y, en algunos casos, a la presencia de algún factor bocígeno en la dieta empleada en el estudio. La mayoría de los investigadores han usado la dieta Remington, con cantidades de yodo que fluctúan entre 10 y 70 ng/g de dieta (17). Esta sólo contiene proteínas de origen vegetal, y es deficiente en algunos aminoácidos esenciales, vitaminas y sales minerales. Por este motivo, es imposible afirmar que la alteración en el crecimiento de las ratas alimentadas con esta dieta se deba exclusivamente al déficit de yodo.

TABLA 7

CONTENIDO TOTAL DE ARN EN ORGANOS DE RATAS  
CON DEFICIT DE YODO  
(Expresado en microgramos)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	11,320 ± 2,018 13	2,896 ± 229 12	481 ± 71 7
	Experimental	9,646 ± 1,180 <sup>1</sup> 12 <sup>2</sup> < 0.0125 <sup>3</sup>	2,687 ± 252 13 < 0.05	502 ± 46 8 NS
21	Control	17,451 ± 1,353 10	3,095 ± 166 10	615 ± 89 10
	Experimental	16,228 ± 1,969 10 NS	3,128 ± 133 10 NS	615 ± 54 10 NS
35	Control	39,616 ± 5,230 12	3,066 ± 481 10	522 ± 123 12
	Experimental	37,402 ± 5,426 14 NS	2,665 ± 265 14 < 0.025	488 ± 83 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3. Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

La dieta deficitaria en yodo que se preparó para uso en el presente estudio tenía las características de ser adecuada en proteínas, calorías, aminoácidos, vitaminas y minerales a excepción del yodo, que se encontró en un rango de deficiencia moderada (77 ng/g).

Según se describe en la literatura, las dietas con un contenido de yodo hasta de 90 ng/g de dieta, son deficitarias en este micronutriente, y producen en el animal de experimentación un aumento de tamaño de la glándula tiroidea.

Es un hecho conocido que la hipofunción tiroidea durante el período crítico de maduración cerebral produce alteraciones que son irreversibles.

TABLA 8  
 CONTENIDO TOTAL DE ADN EN ORGANOS DE RATAS  
 CON DEFICIT DE YODO  
 (Expresado en microgramos)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	3,443 ± 699 13	1,351 ± 289 12	835 ± 84 7
	Experimental	3,069 ± 430 <sup>1</sup> 12 <sup>2</sup> < 0.05 <sup>3</sup>	1,154 ± 226 13 < 0.05	762 ± 33 8 < 0.05
21	Control	5,802 ± 336 10	1,364 ± 134 10	1,049 ± 168 10
	Experimental	5,405 ± 781 10 < 0.05	1,400 ± 131 10 NS	1,028 ± 179 10 NS
35	Control	10,930 ± 1,910 12	1,315 ± 133 12	1,010 ± 197 12
	Experimental	10,354 ± 1,938 14 NS	1,341 ± 183 14 NS	979 ± 156 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

El cretinismo esporádico y endémico es para muchos la enfermedad mejor documentada respecto al severo daño que induce en el sistema nervioso de no mediar un tratamiento en los primeros meses de vida.

Se ha señalado, asimismo, que el cretinismo endémico acusa una hipofunción tiroidea *in utero* que a veces continúa en la etapa postnatal (23). El daño que ocasiona en el sistema nervioso produce un agudo retardo mental y otras consecuencias de tipo neurológico. Sin embargo, es poco probable que este daño se produjera *in utero* por déficit de la hormona tiroidea, pero bien podría ser producto del déficit de yodo, directo o indirecto, causado a través de mecanismos desconocidos. Se sabe que a partir de la segunda mitad del embarazo el feto humano produce progresivamente sus propias hormonas tiroideas, con funcionamiento independiente de

TABLA 9

INCORPORACION DE TIMIDINA AL ADN EN ORGANOS DE RATA  
CON DEFICIT DE YODO  
(Expresado en CPM/mg/ADN)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	32,606 ± 4,157 8	11,017 ± 2,297 11	8,735 ± 1,453 8
	Experimental	30,203 ± 4,223 <sup>1</sup> 10 <sup>2</sup> NS <sup>3</sup>	11,337 ± 1,658 13 NS	13,484 ± 1,808 8 < 0.005
21	Control	20,194 ± 8,353 10	3,702 ± 417 10	1,957 ± 513 10
	Experimental	39,748 ± 10,384 10 < 0.0005	4,420 ± 867 10 < 0.025	2,524 ± 799 10 < 0.05
35	Control	25,553 ± 7,800 10	1,481 ± 406 10	473 ± 229 10
	Experimental	25,531 ± 8,972 12 NS	1,346 ± 577 14 NS	344 ± 139 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

la madre (24). Además, se ha demostrado que en patologías como la atireosis del feto —el que ha sido expuesto durante todo el embarazo a un déficit de hormonas tiroideas— su peso y talla al nacer son normales y, si media un tratamiento de reemplazo hormonal inmediatamente después del nacimiento, lo más probable es que su coeficiente intelectual futuro sea normal (25).

El presente trabajo aquí comentado demostró que el déficit de yodo prenatal y postnatal precoz produce una disminución transitoria del contenido de ADN en el cerebelo, cerebro e hígado de la rata, con una recuperación al 35o día, sin mediar una terapia de reemplazo con yodo. La síntesis de ADN estuvo aumentada al 21o día en los tres órganos estudiados, normalizándose al 35o día, lo que sugiere una prolongación del período

crítico de multiplicación celular. Iguales alteraciones han sido observadas en un modelo de hipotiroidismo en ratas tratadas con propiltiouracilo desde cuatro días antes del nacimiento hasta el 35o día de vida postnatal (26).

Nuestra investigación demuestra que un déficit moderado de yodo durante la vida intrauterina y postnatal precoz, alteraría la secuencia normal del desarrollo del sistema nervioso central. Este se expresa por una variación en los tiempos normales de los procesos de síntesis de ADN observados en el encéfalo de ratas con déficit moderado de yodo, lo que sugiere un posible daño de dicho órgano. Sería interesante, pues, estudiar si este déficit moderado de yodo también puede inducir una menor capacidad de aprendizaje, lo que serviría para incentivar una rápida solución al problema del bocio endémico en diferentes grados de severidad.

### SUMMARY

#### EFFECT OF IODINE DEFICIT DURING INTRAUTERINE AND POSTNATAL LIFE ON LIVER AND BRAIN DNA SYNTHESIS, IN RATS

Iodine deficiency during intrauterine and early postnatal life of the rat produces a transient decrease in the DNA content of brain and cerebellum, which is spontaneously recovered without replacement therapy. Results of the study revealed that DNA synthesis measured through thymidine- $H_3$  incorporation to DNA, was increased at 21 days of life in liver, brain and cerebellum, indicative of a higher activity of DNA synthesis. This prolongation of the critical period of brain cell multiplication in iodine deficient rats, suggests, therefore, an alteration of brain maturation.

### BIBLIOGRAFIA

1. Sooch, S. S. Prevention of endemic goiter with iodized salt. *Bull. WHO*, **49**: 307-312, 1973.
2. Ramalingaswami, U. Endemic goiter in Southeast Asia. *Ann. Int. Med.*, **78**: 277-284, 1973.
3. Stevenson, C. Investigación en bocio endémico. *Rev. Med. Chile*, **98**: 786-787, 1979.
4. Medina, E. Bocio endémico en Chile. Aspectos asistenciales y preventivos. *Rev. Med. Chile*, **104**: 670-675, 1976.
5. Koutras, D. A., P. D. Papapetrou & X. Yataganas. Dietary sources of iodine in areas with and without iodine-deficiency goiter. *Am. J. Clin. Nutr.*, **23**: 870-874, 1970.
6. Pharoah, P. O. D., I. H. Butfield & B. S. Hetzel. Defect of iodine prophylaxis on the incidence of endemic cretinism. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **30**: 201-206, 1972.
7. McCullagh, S. F. Goitre control project. *Papua New Guinea Med. J.*, **3**: 43-47, 1959.
8. Bastenie, P. A., A. M. Ermans, O. Thys, C. Beckers, H. G. Van den Schrieck, & M. de Visscher. Endemic goitre in the Uele Region. III. Endemic cretinism. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **22**: 187-194, 1962.
9. Hornabrook, R. W. Endemic cretinism. *Contemporary Neurol. Series*, **12**: 91-108, 1975.
10. Greer, A., P. Panton & S. Greer. The effects of iodine deficiency on thyroid function in the rat. *Metabolism*, **24**: 1391-1402, 1975.

11. Fierro-Benítez, R., I. Ramírez, E. Estrella & J. Stanbury. The role of iodine in intellectual development in an area of endemic goiter. En: **Report of the IV Meeting of the PAHO Technical Group on Endemic Goiter**. Washington, D.C., Pan American Health Organization, 1974, p. 135-142. (PAHO/WHO, Scientific Publication No. 292).
12. Pretell, E. A. Prophylaxis of endemic goiter with iodized oil in the rural highland of Peru. Preliminary report of the effect on development of newborn children. En: **Human Development and Thyroid Gland**. J. B. Stanbury and R. L. Kroc (Eds.). New York, N. Y., Plenum Press, 1972, p. 249-254.
13. Fisher, D. A., J. H. Dussault & R. W. Lam. Serum and thyroid gland triiodothyronine in the human fetus. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, **36**: 397-400, 1973.
14. Greenberg, A. H., P. Csernichow, R. C. Reba, J. Tyson & R. M. Blizzard. Observations on the maturation of thyroid function in early fetal life. **J. Clin. Invest.**, **49**: 1790-1803, 1970.
15. Grumbach, M. M. & S. C. Werner. Transfer of thyroid hormone across the human placenta at term. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, **16**: 1392-1395, 1956.
16. Rosman, N. P. Neurological and muscular aspects of thyroid dysfunction in childhood. **Pediat. Clin. North America**, **23**: 575-594, 1976.
17. Riesco, G., A. Taurog & P. R. Larsen. Variation in the response of thyroid gland of the rat to different low-iodine diets; correlation with iodine content of diet. **Endocrinology**, **99**: 270-280, 1976.
18. Lein, A. & N. Schwartz. Ceric sulfate-arsenious acid reaction in microdetermination of iodine. **Anal. Chem.**, **23**: 1507-1510, 1951.
19. Proteínas: Calidad química y biológica. En: **Nutrición, 1973**. (M. A. Tagle). Santiago de Chile, Impresores Jerba, 1973, p. 28-40.
20. Axelrod, A., C. P. Labland & A. Isler. Role of iodine deficiency in the production of goiter by the Remington diet. **Endocrinology**, **56**: 387-403, 1955.
21. Fleck, A. & H. N. Munro. The precision of ultraviolet absorption measurements in the Schmidt-Thannhauser procedure for nucleic acid estimation. **Biochim. Biophys. Acta**, **55**: 571-583, 1962.
22. Bailey, J. L. **Techniques in Protein Chemistry**. Amsterdam, Elsevier, 1962.
23. Delange, F. M., C. Thilly, M. Camus, H. Berquist, N. Cremer, R. D. Hesch & A. M. Ermans. Evidence for fetal hypothyroidism in severe endemic goitre. En: **Thyroid Research**, J. Robbins and L. E. Barverman (Eds.). Amsterdam, Excerpta Medica, 1976, p. 493-503.
24. Delbert, A. & D. A. Fisher. Thyroid function in the fetus. En: **Perinatal Thyroid Physiology and Disease**. D. A. Fisher and G. N. Burrow (Eds.). New York, N. Y., Raven Press, 1975, p. 21-39.
25. Anderson, H. J. Nongonitrous hypothyroidism. En: **Endocrine and Genetic Diseases of Childhood**. L. I. Gardner (Ed.). Philadelphia, PA, Sanders Co., 1969, p. 216-234.
26. Muzzo, S., A. Zvaighaft & J. A. Brasel. Effects of thyroid function in DNA synthesis of rat cerebellum. **J. Pediat.**, **89**: 321-322, 1976.

# EVALUACION BIOLOGICA, EN RATAS Y EN HUMANOS, DE UN PRODUCTO LACTEO SIN LACTOSA, Y DE UNA FORMULA PROTEINICA DE SOYA PARA USO EN LA DESNUTRICION PROTEINICO-ENERGETICA

*Angela Sotelo<sup>1</sup>, Miguel Hernández<sup>2</sup> y Silvestre Frenk<sup>3</sup>*

Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS),  
México, D.F., México

## RESUMEN

Se determinó la calidad de la proteína de soya y de un producto lácteo sin lactosa, aplicando el método del índice de eficiencia proteínica (PER) en ratas, recién destetadas, y por medio del método de balance de nitrógeno (BN) en niños de dos a 12 meses de edad, con diversos grados de desnutrición. El PER de la leche sin lactosa fue de  $2.28 \pm 0.46$ , significativamente superior al de la proteína de soya, la que tuvo un valor de  $1.19 \pm 0.26$ , en tanto que la caseína utilizada como control acusó un PER de  $2.71 \pm 0.52$ . No hubo diferencias significativas entre estas dos fuentes proteínicas en cuanto al balance de nitrógeno, siendo la absorción, para ambos, de alrededor de 80%. Se encontró que los niños menores de seis meses, y más gravemente desnutridos, tenían una mayor retención de nitrógeno y un valor biológico más alto al ingerir el producto sin lactosa que cuando ingirieron la fórmula de soya. En cambio, los niños de 11 y 12 meses de edad con desnutrición leve o moderada exhibieron mayor retención de nitrógeno y valor biológico aparente al alimentarse con la fórmula de soya que con la láctea. Se considera que los dos productos representan buenas opciones para la recuperación de niños desnutridos con intolerancia a la lactosa.

## INTRODUCCION

La leche es un alimento de alto valor nutritivo, usualmente bien tolerado por niños lactantes y preescolares. En ciertas situaciones anormales, particularmente en el caso de enfermedad diarreica causada por infecciones gastrointestinales, se hace necesario prescindir temporalmente

---

Manuscrito modificado recibido: 13-12-83.

- 1 Jefe de la Sección de Bromatología de la División de Nutrición, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Apartado Postal 73-032, 03020 México, D.F., México.
- 2 Investigador asignado a la Sección de Bromatología, ya citada.
- 3 Director de la Unidad de Investigación Biomédica y Jefe de la División de Nutrición de la misma, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

del empleo de leche cuando ocurre intolerancia a la lactosa (1-3). Esta suele obedecer a hipolactasia, con la consecuente hidrólisis defectuosa de este disacárido. Esta situación es frecuente en pacientes con desnutrición avanzada (4, 5), en quienes la restricción en cuanto al empleo de leche, si bien puede acortar la duración de la diarrea, con frecuencia se traduce en desmedro tisular grave, y ser causa de muerte (6).

En los casos de diarrea grave se ha utilizado como sustituto la "leche" de soya (7, 8) elaborada con un extracto acuoso de la soya entera. Esta leguminosa ha sido utilizada por su alto contenido proteínico y por su buena calidad nutritiva, que puede ser hasta de 75% del valor de la caseína (9); su olor y sabor *sui generis* —que se ha atribuido a la presencia de una lipoxigenasa (10)— pueden ser eliminados a través del uso de diversos tratamientos (11, 12). Causa extrañeza que los concentrados o aislados de soya han sido poco utilizados, no obstante su mayor solubilidad y el hecho de presentar menor incidencia de fenómenos inconvenientes, tales como irritación anal (13).

En el presente trabajo se exponen los resultados de evaluar la calidad de un aislado proteínico de soya obtenido en México, y compararlo con un producto lácteo sin lactosa (aún no comercializado en México), con el fin de valorar la posibilidad de su uso en el tratamiento de diarreas graves, así como para su utilización en la recuperación de niños desnutridos que no toleran la leche.

#### MATERIALES Y METODOS

La leche sin lactosa es una fórmula industrial no disponible comercialmente en nuestro país, compuesta de caseína purificada, crema de leche, aceite de maíz y glucosa (AL-100). Contiene 22% de proteína, 21% de grasa y 50.8% de carbohidratos, y fue proporcionada por la Compañía Nestlé de México.

El aislado de soya (80% de proteína) fue preparado a nivel de planta piloto a partir de harina de soya desengrasada, extraída con hidróxido de sodio y precipitada en punto isoelectrico, soluble en agua a un pH de 7 y es un polvo amorfo que pasa un tamiz malla No. 100<sup>4</sup>.

La investigación se realizó en dos partes. En la primera fase se estudió el índice de eficiencia proteínica (PER), para lo cual se determinó previamente la composición química del producto sin lactosa y de la proteína de soya, de acuerdo a las técnicas descritas por la AOAC (14). Con estas muestras y utilizando la caseína como control, se elaboraron dietas isocalóricas al 10% de proteína, cuya composición se da a conocer en la Tabla 1. El PER se determinó en ratas Wistar recién destetadas, de 21 a 23 días de edad, cuyo peso promedio al inicio del estudio era de 36 g; el estudio tuvo una duración de 28 días.

La contraparte, en humanos, se llevó a cabo mediante estudios de balance de nitrógeno (BN), para lo cual se utilizaron 16 lactantes del sexo masculino de dos a 12 meses de edad, en quienes se había comprobado

---

4 Este producto fue gentilmente proporcionado por Productos Químicos y Farmacéuticos Roal, S.A.

TABLA 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS PARA EL ENSAYO DEL INDICE  
DE EFICIENCIA PROTEINICA (PER)

(Expresada en g/100 de alimento)

Ingredientes	Caseína (9)	LSL (6)	PS (7)
Caseína	11.9	—	—
LSL	—	45.4	—
PS	—	—	12.5
Sacarosa	20.1	15.6	19.5
Glucosa	19.0	—	19.0
Dextrina	25.0	25.0	25.0
Grasa vegetal	8.0	—	8.0
Aceite de maíz	6.0	4.0	6.0
Sales minerales <sup>a</sup>	4.0	4.0	4.0
Mezclas de vitaminas <sup>b</sup>	2.0	2.0	2.0
Celulosa <sup>c</sup>	4.0	4.0	4.0
Calorías/100 g	422.0	422.0	422.0

LSL = Leche sin lactosa.

PS = Proteína de soya.

( ) Número de animales.

a De acuerdo con Roger y Harper (23).

b Nutritional Biochemicals, Cleveland, Ohio, EUA.

c Celulosa tipo fibra (Teklad Test Diet, Madison, Wisconsin, EUA).

intolerancia a la leche. Las características de peso, edad y grado de desnutrición de los pacientes se presentan en la Tabla 2. Ocho de los niños recibieron ambas fórmulas, alternándose el empleo inicial de una u otra. Diversas causas como vómito, fiebre o infecciones, impidieron que los otros ocho lactantes ingirieran ambas fórmulas.

### Preparación de las Fórmulas

La fórmula sin lactosa se preparó a una concentración del 15% en agua, excepto dos casos (1 y 9), en los que la fórmula se preparó al 10%. La de soya se elaboró con 42.3 g de proteína de soya, 33.7 g de aceite de girasol, 74.0 g de glucosa anhidra, y agua en cantidades suficientes para obtener un litro. Las dos mezclas se homogeneizaron cinco minutos en licuadora y con ellas se llenaron biberones, esterilizados durante 15 minutos a 110°C y a 15 lb de presión. A cada biberón se le añadió, ya frío, una gota de un preparado de polivitaminas. La composición química de las fórmulas se detalla en la Tabla 3.

Se administraron seis biberones por día a cada niño, variando la cantidad administrada de acuerdo a su peso. Después de un período de adaptación de tres días se efectuó el balance metabólico durante cuatro días, utilizando colchones y demás equipo especializado. Se determinó el

**TABLA 2**  
**CARACTERISTICAS CLINICAS DE LOS NIÑOS**

Caso No.	Edad meses	Peso	
		kg	o/o*
1**	2	2.210	47
2	5	3.670	56
3	4	2.650	44
4	3	3.100	57
5	11	6.020	67
6	12	6.110	66
7	11	7.300	82
8	10	5.150	59
9**	3	3.000	55
10	12	5.710	62
11	5	2.820	43
12	10	4.030	47
13	9	3.750	45
14	6	3.670	52
15	7	3.020	40
16	5	2.920	44

\* Del peso normal para la edad, según los patrones de Ramos Galván (24).

\*\* En estos casos se administró la fórmula al 10<sup>o</sup>/o de proteína.

**TABLA 3**  
**COMPOSICION PORCENTUAL DE FORMULAS UTILIZADAS PARA**  
**LOS BALANCES DE NITROGENO**  
(Expresada en g/100 ml)

	LSL	PS
Proteína	3.3	3.4
Grasa	3.1	3.3
Glucosa	7.6	7.4
Minerales	0.5	2.0
Kilocalorías	71.5	72.9
Megajoules	3.0	3.0

LSL = Leche sin lactosa.

PS = Proteína de soya.

contenido de nitrógeno en ingesta y excreta mediante el procedimiento de Kjeldahl. El inicio y la terminación de cada período de balance se marcaron con rojo carmín y carbón, respectivamente. Los resultados se sometieron a la prueba de "t" no apareada, según Steel y Torrie (15).

## RESULTADOS

Los resultados del PER figuran en la Tabla 4, observándose que con la fórmula de caseína se obtuvo el valor más alto, con un PER de  $2.71 \pm 0.52$ ; la láctea sin lactosa calificó con  $2.28 \pm 0.46$ , y la proteína de soya, con  $1.19 \pm 0.26$ . Es de hacer notar que con esta última, el consumo de alimento fue menor.

En las Tablas 5 y 6 se presentan los datos de los estudios de balance, en particular de ingestión y excreción de nitrógeno y de balance de nitrógeno en mg/kg de peso/día. Los resultados en cuanto a absorción, retención y valor biológico en los niños que ingirieron las dos fórmulas se resumen en la Tabla 7, y en la Tabla 8 se dan a conocer los datos estadísticos correspondientes.

TABLA 4

## INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA (PER) DEL PRODUCTO LACTEO SIN LACTOSA (LSL) Y DE LA PROTEINA DE SOYA (PS)

	Caseína	LSL	PS
Alimento ingerido, g	183.0 $\pm$ 27.2	197.8 $\pm$ 20.1	149.6 $\pm$ 23.6
Ganancia de peso, g	49.7 $\pm$ 11.5	45.3 $\pm$ 12.3	17.7 $\pm$ 4.2
Ingestión de proteína, g	18.3 $\pm$ 2.7	19.8 $\pm$ 2.0	15.0 $\pm$ 2.4
PER	2.71 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	2.28 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>	1.19 $\pm$ 0.26*

\*  $P < 0.05$ .

<sup>a</sup> No significativo.

## DISCUSION

Si bien la proteína del frijol de soya se cuenta entre las proteínas vegetales de mejor calidad, su aislamiento por métodos químicos puede dañar su calidad, pues se han informado valores de PER muy variables. El valor obtenido en esta investigación, de sólo 44% con respecto al de la caseína, es semejante al obtenido por Jenkins y Mitchell (16), pero inferior al determinado por otros autores (8, 9, 17). Puede así deducirse que el método de extracción utilizado para la obtención de esta proteína de soya fue drástico. Entre las dos fórmulas, aquella sin lactosa exhibió un PER significativamente mayor al del aislado de soya.

Con respecto al balance de nitrógeno, se encontró que ambas proteínas fueron bien absorbidas (alrededor de 80%). Esta absorción ya ha sido notificada para la "leche" de soya por otros autores (7, 17, 18).

Ambas fórmulas fueron bien aceptadas y toleradas por los niños, aunque la utilización de las mismas fue diferente. Por ejemplo, se notó preferencia por el producto lácteo entre los niños que ingirieron ambas

TABLA 5

ALIMENTO INGERIDO, VOLUMEN DE ORINA Y PESO DE HECES  
DE LOS NIÑOS QUE INGERIERON LECHE SIN LACTOSA (LSL)  
Y LA FORMULA DE PROTEINA DE SOYA (PS)

Casos	Alimento ingerido ml/día		Volumen orina ml/día*		Peso de heces g/día*	
	LSL	PS	LSL	PS	LSL	PS
1	515 ± 41	489 ± 108	204 ± 48	146 ± 39	69 ± 23	31 ± 17
2	863 ± 36	521 ± 51	260 ± 36	148 ± 64	118 ± 70	52 ± 42
3	464 ± 22	376 ± 45	107 ± 13	105 ± 16	92 ± 16	46 ± 15
4	676 ± 66	410 ± 11	167 ± 45	112 ± 11	100 ± 26	71 ± 21
5	1,050 ± 60	1,334 ± 121	431 ± 89	678 ± 52	110 ± 24	47 ± 16
6	1,097 ± 86	900 ± 10	350 ± 95	341 ± 29	136 ± 22	45 ± 22
7	1,192 ± 15	1,108 ± 88	543 ± 13	483 ± 80	156 ± 37	140 ± 43
8	900 ± 0	602 ± 78	427 ± 113	237 ± 24	70 ± 39	32 ± 20
9	801 ± 86	—	325 ± 85	—	97 ± 24	—
10	807 ± 121	—	152 ± 24	—	156 ± 40	—
11	593 ± 81	—	170 ± 19	—	79 ± 18	—
12	707 ± 40	—	316 ± 70	—	71 ± 51	—
13	—	530 ± 61	—	144 ± 13	—	52 ± 14
14	—	616 ± 36	—	158 ± 7	—	55 ± 17
15	—	445 ± 105	—	147 ± 53	—	52 ± 15
16	—	792 ± 119	—	250 ± 91	—	68 ± 7

\* ± Desviación estándar.

fórmulas. Como consecuencia de una ingestión elevada de proteína, el balance de nitrógeno fue positivo en todos los niños, ya que se encontraban en un franco período de recuperación. A pesar de que estadísticamente no se constataron diferencias entre ambas fórmulas, es importante subrayar el hecho de que los niños más pequeños, menores de seis meses que ingirieron ambas fórmulas (casos 1 a 4), acusaron valores más altos con la leche sin lactosa, que con la leche de soya. En cambio, en los niños de 11 y 12 meses de edad, los valores fueron más elevados en cuanto a balance de nitrógeno, retención y valor biológico aparente, con la proteína de soya que con la leche sin lactosa; al mismo tiempo, estos niños eran los que padecían del menor grado de desnutrición en el momento previo a efectuar el estudio de balance nitrogenado. Este comportamiento ya había sido observado antes por otros autores (7, 18, 19). En general, la ganancia de peso fue mayor en los niños que ingirieron la fórmula láctea, pero el período de observación fue muy corto como para asumir que la fórmula sea únicamente el factor responsable de ello.

El valor biológico de la fórmula de aislado de soya no puede ser considerado del todo óptimo debido principalmente a la deficiencia de amino-

TABLA 6

BALANCE DE NITROGENO OBTENIDO CON LA LECHE SIN LACTOSA (LSL) Y CON LA PROTEINA DE SOYA (PS)

Casos	Nitrógeno ingerido		Nitrógeno urinario		Nitrógeno fecal		Balance de nitrógeno			
							mg/kg/día		g/kg/total	
	LSL	PS	LSL	PS	LSL	PS	LSL	PS	LSL	PS
1	747 ± 58*	681 ± 149	216 ± 99	271 ± 22	162 ± 36	144 ± 36	369	266	1.476	1.064
2	1,156 ± 48	700 ± 69	539 ± 19	475 ± 60	197 ± 65	151 ± 63	420	74	1.680	0.296
3	956 ± 46	845 ± 99	505 ± 131	448 ± 67	185 ± 46	206 ± 59	266	191	1.064	0.764
4	1,238 ± 119	678 ± 19	621 ± 47	456 ± 38	244 ± 47	157 ± 48	373	65	1.492	0.260
5	934 ± 52	1,029 ± 93	623 ± 125	608 ± 35	143 ± 16	141 ± 37	168	280	0.672	1.120
6	1,024 ± 69	814 ± 20	695 ± 55	481 ± 17	180 ± 37	134 ± 63	149	199	0.596	0.796
7	883 ± 11	784 ± 70	645 ± 19	562 ± 28	156 ± 23	134 ± 31	82	88	0.328	0.352
8	933 ± 0	647 ± 83	524 ± 87	336 ± 30	157 ± 83	91 ± 65	252	220	1.008	0.880
9	875 ± 91	—	365 ± 179	—	206 ± 30	—	304	—	1.216	—
10	667 ± 93	—	383 ± 84	—	177 ± 54	—	107	—	0.428	—
11	1,167 ± 159	—	592 ± 28	—	242 ± 48	—	333	—	1.332	—
12	1,006 ± 65	—	487 ± 80	—	177 ± 100	—	342	—	1.368	—
13	—	780 ± 89	—	400 ± 21	—	144 ± 37	—	236	—	0.944
14	—	1,147 ± 67	—	515 ± 61	—	161 ± 47	—	471	—	1.844
15	—	721 ± 169	—	410 ± 46	—	169 ± 43	—	142	—	0.568
16	—	1,127 ± 169	—	600 ± 136	—	158 ± 33	—	369	—	1.476

\* ± Desviación estándar.

**TABLA 7**  
**BALANCE TOTAL DE NITROGENO CON PRODUCTO LACTEO**  
**SIN LACTOSA (LSL) Y PROTEINA DE SOYA (PS)**

Casos	Absorción, %		Retención, %		Valor biológico		Cambio de peso, g	
	LSL	PS	LSL	PS	LSL	PS	LSL	PS
1	78.0	78.5	49.1	38.6	62	49	30	20
2	82.8	78.1	36.1	10.2	43	13	90	0
3	80.4	78.8	27.5	19.6	34	26	70	-100
4	80.1	76.4	29.6	8.9	37	11	190	-100
5*	84.6	86.3	18.0	27.2	21	31	430	100
6*	82.3	83.4	14.4	24.3	17	29	230	230
7*	82.3	82.8	9.3	11.0	11	13	200	0
8	83.1	74.0	26.7	22.1	32	29	300	-40
9	76.2	—	34.4	—	45	—	-70	—
10	73.5	—	16.2	—	22	—	-10	—
11	79.2	—	28.2	—	36	—	130	—
12	82.4	—	34.1	—	41	—	30	—
13	—	76.2	—	18.9	—	24	—	10
14	—	85.9	—	32.6	—	38	—	30
15	—	81.5	—	30.4	—	37	—	100
16	—	85.9	—	40.9	—	48	—	70

\* Desnutrición moderada.

Absorción = Nitrogeno ingerido — nitrogeno fecal x 100.

Retención = Nitrogeno ingerido — (nitrogeno fecal + nitrogeno urinario) x 100.

Valor biológico aparente =  $\frac{\text{Retención}}{\text{Absorción}} \times 100$ .

**TABLA 8**  
**ANALISIS ESTADISTICO DE LA LECHE DE SOYA (PS)**  
**Y DE LA LECHE SIN LACTOSA (LSL)**

(Prueba de "t" no apareada)

	Absorción, %			Retención, %			Valor biológico aparente		
	LSL	vs	PS	LSL	vs	PS	LSL	vs	PS
$\bar{X}$	80.41	—	80.15	26.97	—	23.72	33.4	—	29.0
	3.22	—	4.78	11.09	—	10.7	14.07	—	12.72
t =	—	0.155	—	—	0.728	—	—	0.806	—
	—	NS	—	—	NS	—	—	NS	—
gl =	22	—	—	22	—	—	22	—	—

DE = Desviación estándar.

NS = No significativo.

gl = Grados de libertad.

ácidos azufrados de que adolece (20-22). Además, es posible que ambas proteínas hayan sufrido cierto daño durante el proceso a que se sometieron para su obtención, lo que ocasionó una reducción del PER (sobre todo en la proteína de soya). A pesar de ello y según demostró el estudio de balance de nitrógeno, se puede afirmar que tanto la proteína de soya, como de la leche sin lactosa, constituyen dos productos factibles de utilizar para sustituir a la leche corriente en niños con diarrea severa o con desnutrición, cuando exista intolerancia a la lactosa. Hay que tener presente, sin embargo, que debe volverse a una alimentación láctea natural en cuanto los problemas causados por la desnutrición sean superados.

### SUMMARY

#### BIOLOGICAL EVALUATION, IN RATS AND HUMANS, OF A MILK PRODUCT WITHOUT LACTOSE, AND OF A SOYBEAN PROTEIN ISOLATE FOR USE IN PROTEIN-ENERGY MALNUTRITION

Protein quality of a lactose-free milk (LFM) was compared with a soy-protein isolate (SPI) by means of the PER and 24-hour nitrogen balance methods performed with 16 infants with protein-energy malnutrition. PER was 1.19 for the SPI, value which is significantly lower than that of 2.28 obtained for LFM, and 2.71 for casein. Nitrogen absorption of LFM and SPI was 80%. The biological value of both formulas did not differ significantly; however, in six month-old babies or younger with severe malnutrition, nitrogen retention was higher with LFM than with SPI. On the other hand, nitrogen retention was higher in infants 11 and 12 months old with moderate malnutrition fed the SPI formula. The results suggest that both formulas are good alternatives for the treatment of infants with protein-energy malnutrition and lactose intolerance.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al personal médico y a las enfermeras del Hospital de Pediatría (CMN-IMSS) su colaboración en la realización de este trabajo. La labor secretarial fue realizada por la Sra. Rosa Ma. Hernández Arellano.

### BIBLIOGRAFIA

1. Garza, C. & N. S. Scrimshaw. Relationship of lactose intolerance to milk intolerance in young children. *Am. J. Clin. Nutr.*, **29**:192-196, 1976.
2. Nasrallah, S. M. Lactose intolerance in the Lebanese population and in "Mediterranean lymphoma". *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**:1994-1996, 1979.
3. Torún, B., N. W. Solomons & F. E. Viteri. Lactose malabsorption and lactose intolerance: Implications for general milk consumption. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **29**:445-494, 1979.
4. Bowie, M. D., G. L. Brinkman & J. D. L. Hansen. Acquired disaccharide intolerance in malnutrition. *J. Pediatr.*, **66**:1083, 1091, 1965.
5. Cuéllar, A., J. Luengas, I. Alejandre, J. M. García-Castro & S. Frenk. Intolerancia a la lactosa en niños desnutridos. *Rev. Mex. Pediatr.*, **37**:151-155, 1968.

6. Kaplowitz, P. & R. B. Isely. Marasmic-kwashiorkor in an 8-week-old infant treated with prolonged clear liquids for diarrhea. *Clin. Ped.*, 18:575-576, 1979.
7. Dutra de Oliveira, J. E., L. Scatena & N. de Oliveira. Clinical picture and nitrogen retention in malnourished children. *Am. J. Clin. Nutr.*, 19:352-356, 1966.
8. Liener, I. E. Nutritional aspects of soy protein products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 54:454A-472A, 1977.
9. Steinke, F. H., E. E. Prescher & D. T. Hopkins. Nutritional evaluation (PER) of isolated soybean protein and combinations of food proteins. *J. Food Sci.*, 45: 323-327, 1980.
10. Johnson, K. W. & H. E. Snyder. Soymilk: A comparison of processing method on yields and composition. *J. Food Sci.*, 43:349-353, 1978.
11. Johnson, L. A., C. W. Deyee & W. J. Hoover. Yield and quality of soy milk processed by steam infusion cooking. *J. Food Sci.*, 46:239-243, 1981.
12. Khaleque, A., N. R. Bonnatyne & G. M. Wallace. Studies on the processing and properties of soymilk. I. Effect of preprocessing conditions on the flavour and compositions of soymilks. *J. Sci. Food Agr.*, 21:579-583, 1970.
13. Graham, G. G., R. B. Placko, E. Morales, G. Acevedo & A. Cordano. Dietary protein quality in infants and children. VI. Isolated soy protein milk. *Am. J. Dis. Child.*, 120:419-423, 1970.
14. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970.
15. Steel, R. G. D. & J. H. Torrie. *Principles and Procedures of Statistics*. New York, N. Y., Mc Graw-Hill, Book Co., 1960.
16. Jenkins, M. & G. V. Mitchell. Biological and biochemical evaluation of commercial powdered protein products. *Nut. Repts., Internat.*, 24:499-511, 1981.
17. Graham, G. G., J. M. Baertl, R. P. Placko & E. Morales. Dietary protein quality in infants and children. IX. Instant sweetened corn-soy-milk blend. *Am. J. Clin. Nutr.*, 26:491-496, 1973.
18. Shenai, J. P., B. M. Jhavery, J. W. Reynolds, R. K. Huston & S. C. Babson. Nutritional balance studies in very low-birth weight infants: Role of soy formula. *Pediatrics*, 67: 631-637, 1981.
19. Leake, R. D., K. C. Schroeder, D. A. Benton & W. Oh. Soy-based formula in the treatment of infantile diarrhea. *Am. J. Dis. Child.*, 127:374-376, 1974.
20. Fomon, S. J., L. N. Thomas, L. J. Filer Jr., T. A. Anderson & K. E. Bergmann. Requirements for protein and essential amino acids in early infancy-studies with a soy-isolated formula. *Acta Paediat. Scand.*, 62:33-45, 1973.
21. Rindsig, R. B. & J. G. Velu. Protein nutritive value of drum dried soy, soy-cereal and soy-banana blends. *Nutr. Repts. Internat.*, 17:537-549, 1978.
22. Schneider, O. L. & H. P. Sanett. Growth of baby pigs fed infant soybean formulas. *J. Nutr.*, 98:279-287, 1969.
23. Rogers, Q. R. & H. E. Harper. Amino acid diets and maximal growth in the rat. *J. Nutr.*, 87:267-273, 1965.
24. Ramos-Galván, R. Somatometría pediátrica. Estudio semilongitudinal en niños de la ciudad de México. *Arch. Invest. Med.*, 6 (Supl 1):83-396, 1975.

# PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE RADIOIMUNOENSAIO COM DUPLO ANTICORPO PARA DETERMINAÇÃO DO HORMONIO DE CRESCIMENTO EN PLASMA E HIPÓFISE DE RATO

*Pedro Achilles<sup>1</sup>, Antonio Carlos de Carvalho Carneiro<sup>2</sup>,  
Celso Guimarães Júnior<sup>3</sup> e Roberto Carlos Burini<sup>4</sup>*

Laboratório de Pesquisas Bioquímicas do  
Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Botucatu, São Paulo, Brasil

## RESUMO

Foram descritas as etapas envolvidas na padronização do método de radioimunoensaio para determinação dos níveis de hormônio de crescimento no plasma e na hipófise de ratos, mediante técnica do duplo anticorpo. O método baseia-se no deslocamento, pelo hormônio presente na amostra, do hormônio marcado radioativamente com  $I^{125}$  conjugado com o primeiro anticorpo (soro de macaco anti GH de rato); o complexo hormônio primeiro anticorpo é precipitado pelo segundo anticorpo (soro de coelho anti-gama globulina de macaco). O precipitado insolúvel é submetido à contagem radiativa a qual é comparada com uma curva padrão do hormônio para verificação da concentração desta substância. Foram descritos os processos de obtenção do segundo anticorpo, radioiodinação do hormônio e purificação do hormônio iodinado. Os testes efetuados, apresentaram valores de 70% no rendimento da radioiodinação e 88.7% de pureza no hormônio iodinado. A precipitabilidade máxima do sistema foi de 84.6%, sendo que com diluições de 1:250 do hormônio marcado e de  $1:4 \times 10^4$  do primeiro anticorpo obteve-se índice de precipitabilidade de 26.9%. Estes valores são bastante satisfatórios em comparação aos dados apresentados pela literatura. A aplicação do método na análise do GH de plasma e hipófise de ratos Wistar adulto-jovens normais forneceu os seguintes valores:  $82 \pm 28$  ng/ml e  $63 \pm 15$  ng/mg, respectivamente.

---

Manuscrito modificado recebido: 7-5-84.

1 Professor Assistente Doutor do Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, UNESP, Botucatu, SP 18610, Brasil.

2 Professor Assistente Doutor do mesmo Departamento.

3 Bolsista da FAPESP.

4 Professor Adjunto, Livre Docente do Departamento de Clínica Médica.

## INTRODUÇÃO

O interesse pelo conhecimento dos níveis de hormônio de crescimento sofreu impulso renovado após a divulgação clássica de Yalow e Berson (1, 2) referente à dosagem de hormônios peptídeos mediante técnica de radioimunoensaio. As técnicas de bioensaio até então utilizadas, foram demonstradas como não totalmente específicas para a molécula do hormônio e, também, de sensibilidade insuficiente para a detecção dos níveis sanguíneos do hormônio de crescimento. Por isso, quando comparado às técnicas de bioensaio e imunoeletroforese o radioimunoensaio apresenta maior sensibilidade e melhor reprodutibilidade de resultados.

O desenvolvimento satisfatório da técnica de radioimunoensaio do hormônio de crescimento é dependente da qualidade química dos reagentes protéicos utilizados e do rendimento dos processos de marcação e purificação do hormônio radioactivo e, escolha da quantidades adequadas dos anticorpos participantes da reação.

Este trabalho congrega dados referentes às diversas fases envolvidas na padronização do método de radioimunoensaio para determinação dos níveis de hormônio de crescimento em plasma e hipófise de ratos, mediante técnica do duplo anticorpo. O método baseia-se na separação da forma livre do antígeno da outra forma conjugada com o primeiro anticorpo (soro de macaco contendo anti-GH de rato). Esta separação é realizada pelo segundo anticorpo (soro de coelho antigamaglobulina de macaco). O precipitado resultante é formado pelo complexo antígeno-anticorpo, o qual é submetido à contagem radiativa. Este método constitui adaptação daquele proposto por Greenwood, Hunter e Glover (3) utilizando-se hormônio marcado com  $\text{Na I}^{131}$ . A participação quantitativa dos componentes da reação foi estabelecida de modo a proporcionar maior sensibilidade do método associadamente ao menor consumo de cada um dos reagentes.

## MATERIAL E METODOS

1. *Plasma e Hipófise*

Foram utilizados sangue e hipófise de 30 ratos machos da linhagem Wistar. Os animais foram sacrificados por decapitação, sem anestesia. O sangue, proveniente do pescoço foi recolhido em tubo contendo anticoagulante (liquêmine Roche) e, a seguir, centrifugado 10 minutos a 1,500 rpm. O plasma decantado foi congelado até o momento da análise.

Após a decapitação, o crânio foi aberto e a hipófise posterior separada da hipófise anterior "in situ". Imediatamente após a remoção, a adenohipófise foi pesada em balança analítica (Mettler modelo H<sub>15</sub> - Zürich, Swiss).

O tempo foi cronometrado a partir do momento do descolamento da hipófise anterior da sela túrcica. O peso da glândula foi registrado aos dois, três, quatro e cinco minutos, para avaliar a perda de peso devida à evaporação de água do tecido. Aplicando-se a equação da reta aos valores das pesagens sucessivas foi possível a obtenção do peso da adenohipófise no momento da ressecção (tempo zero).

A extração do hormônio hipofisário foi feita de acordo com a técnica

de Birge *et al.* (4), com ligeiras modificações. Imediatamente após a pesagem, a hipófise foi homogeneizada em 0.5 ml de solução NaOH 0.01 N, a 0 - 4°C. O homogeinato foi centrifugado 30 min a 2,500 rpm a 0 - 4°C. Retirou-se alíquota de 0.2 ml do sobrenadante a qual foi diluída 1:10 com solução de albumina tamponada, constituindo o extrato hipofisário, o qual foi estocado em congelador (-15°C) até o momento da análise. A análise foi realizada em 6 grupos de extrato (5 hipófises/grupo os quais foram diluídos 1:2 x 10<sup>4</sup> e dosados de acordo com o protocolo final (Tabela 1).

## 2. *Hormônio Padrão e Primeiro Anticorpo*

Estas substâncias foram gentilmente cedidas pelo NIAMDD (National Institute of Arthritis, Metabolism and Digestive Diseases) Bethesda, MD, EUA. As diluições dos reagentes foram feitas de acordo com as recomendações contidas no protocolo enviado (Rat Pituitary Hormone Distribution Program).

## 3. *Segundo Anticorpo*

O segundo anticorpo foi obtido a partir do sangue de coelhos imunizados por injeções subcutâneas, de solução contendo 20 mg de gama-globulina de *Maccacus rhesus*, em solução de NaCl 0.90/o, formando mistura em partes iguais com o adjuvante de Freund completo. A mistura foi acrescida de uma gota de penicilina e uma gota de estreptomicina. O controle de sensibilização dos coelhos foi feito pela análise periódica dos anticorpos existentes no soro mediante técnica de imunodifusão após precipitação protéica pelo sulfato de amônio. As imunizações foram realizadas inicialmente, a cada 15 dias até o obtenção de títulos de anticorpos em níveis satisfatórios e, a seguir, a frequência de imunização passou a ser mensal, com injeção de 8 mg de gamaglobulina. Após o estabelecimento de níveis adequados de anticorpos, a sangria dos coelhos era realizada em intervalos de 7 - 10 dias após a última imunização.

## 4. *Radioiodinação do Hormônio*

Após sucessivas iodinações estabeleceram-se as seguintes proporções entre os reagentes: 1 mCi I<sup>125</sup> (≥ 150 mCi/mg), 100 µl tampão fosfato 0.05 M, 25 µl solução de GH (200 ng/ml), 20 µl solução cloramina T (2.6 mg/ml) em tampão fosfato 0.05 M, 50 µl solução metabissulfito de sodio (4.85 mg/ml) em tampão fosfato 0.05 M, 100 µl solução KI (10 mg/ml) em tampão fosfato 0.05 M e uma gota de plasma humano misturado com azul de bromofenol (plasma azul).

## 5. *Purificação do Hormônio Iodinado*

Em tempo não superior a quatro minutos a partir da iodinação, a solução contendo o hormônio iodinado foi aplicada em una coluna de Sephadex G-100 (pharmacia - Uppsala - Sweden), 23 x 0.8 cm previamente saturada com 2 ml da solução de albumina sérica bovina 20/o seguida pela passagem de 1 ml de KI, 10 mg/ml. Após aplicação do hormônio a coluna

TABELA 1

PROTOCOLO FINAL PARA DOSAGEM DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO EM AMOSTRAS DE PLASMA  
E EXTRATO HIPOFISÁRIO DE RATOS

	Tubo No.	Tampão $\mu\text{l}$	Horm. padrão ou amostra $\mu\text{l}$	Ac <sub>1</sub> (1:10 <sup>3</sup> ) $\mu\text{l}$	Horm. iodinado $\mu\text{l}$	Ac <sub>1</sub> (1:4x10 <sup>4</sup> ) $\mu\text{l}$	Heparina (1,000 USP/ml)	"Carrier" (1:500)	Ac <sub>2</sub> $\mu\text{l}$
CT	1 - 2	—	—	—	50	—	—	—	—
LNE	3 - 4	350	—	—	50	—	25	50	150
	5 - 6	200	—	100	50	50	25	50	150
	7 - 8	300	—	—	50	50	25	50	150
	9 - 10	200	100 (0.125)*	—	50	50	25	50	150
	11 - 12	200	100 (0.25)	—	—	—	—	—	—
	13 - 14	200	100 (0.50)	—	—	—	—	—	—
	15 - 16	200	100 (1.0)	—	—	—	—	—	—
	17 - 18	200	100 (2.0)	—	—	—	—	—	—
	19 - 20	200	100 (4.0)	—	—	—	—	—	—
Plasma	21 - 22	290	10	—	—	—	—	—	—
Extrato hipófise	23 - 24	200	100	—	—	—	—	—	—

CT = Contagem total.

LNE = Ligação não específica.

Tampão = Tampão fosfossilino pH= 7,6 contendo EDTA 0.025 M e albumina sérica bovina 1%.

Ac<sub>1</sub> = Primeiro anticorpo.

Ac<sub>2</sub> = Segundo anticorpo.

"Carrier" = Soro de *M. rhesus*.

\* = Quantidade de hormônio (ng) contendo em 100  $\mu\text{l}$ .

\*\* = Previamente diluído 1:2 x 10<sup>4</sup>.

foi eluída com tampão barbital 0.05 M concomitantemente com a coleta de frações de 0.5 ml em tubos contendo uma gota de solução de albumina sérica bovina 15% diluída em tampão barbital 0.05 M.

As frações foram submetidas ao contador de radiação gama tipo poço (Siemens do Brasil). De um modo geral, obtém-se três picos radioativos: o primeiro corresponde ao agregado polipeptídico, material de pouca imunoreatividade; o segundo, corresponde ao hormônio de crescimento radioiodinado, a ser usado no radioimunoensaio, e, o terceiro, contém as moléculas menores. O material correspondente ao primeiro e ao terceiro picos foram desprezados.

#### 6. *Testes do Rendimento da Iodinação e da Pureza do Hormônio Iodinado*

Em tubos de ensaio separados contendo alíquota do hormônio iodinado não purificado ou amostras das frações purificadas de maior contagem radioativa (2o. pico) diluídas 1/250 com tampão fosfato 0.05 M, foram adicionados (a cada um dos tubos): 2.4 ml de tampão fosfossilina e 0.5 ml de solução de carvão Norit A, 100 mg/ml em tampão barbital 0.05 M. As soluções foram imediatamente agitadas durante um minuto e centrifugadas 15 minutos a 1,000 rpm. Os sobrenadantes e precipitados foram submetidos à contagem radioativa.

A percentagem do rendimento da iodinação foi calculada a partir da relação entre as contagens do precipitado e as do precipitado + sobrenadante, obtidas da amostra não purificada. A percentagem da pureza das frações coletadas foi obtida pela relação acima aplicada nas amostras purificadas, isto é, que passaram pela coluna de Sephadex.

#### 7. *Teste da Precipitabilidade do Hormônio Iodinado e Escolha da Diluição do Primeiro Anticorpo*

Para este teste faz-se reagir hormônio de crescimento iodinado em diluições diferentes (1:100; 1:250 e 1:500) com o primeiro anticorpo em várias diluições (1:10<sup>3</sup>; 1:10<sup>4</sup>; 1:2x10<sup>4</sup>; 1:4x10<sup>4</sup> e 1:8x10<sup>4</sup>) na presença de quantidades fixas de heparina (25 µl de solução 1,000 USP/ml), "carrier" (50 µl de solução 1:500) e, excesso de segundo anticorpo não diluído (200 µl). A adição dos reagentes é feita na ordem descrita completando-se o volume final para 725 µl com tampão fosfato pH 7.6 contendo EDTA. Após a adição do primeiro anticorpo os tubos são mantidos a 4°C durante 3 dias sendo a seguir acrescentados os demais reagentes; o ensaio é então incubado durante 24 horas (a 4°C). Encerrada esta fase, os tubos são centrifugado 30 min a 2,500 rpm, 4°C. O precipitado é ressuspenso em 0.5 ml de tampão fosfossilino contendo EDTA e novamente centrifugado nas mesmas condições anteriores. O precipitado contém o hormônio iodinado precipitado na reação, cuja detecção é feita mediante contagem radiativa.

No protocolo proposto foram incluídos ainda tubos contendo apenas o hormônio iodinado (em diferentes diluições) e, também, tubos contendo um dos pontos da curva-padrão de GH (0.25 mg/ml) associadamente a diluições diferentes do hormônio iodinado e do primeiro anticorpo. No primeiro caso as contagens ilustram a radiação de cada uma das diluições utilizadas e no segundo caso as contagens possibilitam avaliar antecipadamente o decaimento a ser mostrado pela curva padrão completa.

A observação de percentagem elevadas de precipitabilidade do sistema com a inclusão do primeiro anticorpo concentrado ( $1.10^3$ ) oferece a segurança da imunoreatividade dos reagentes. A diluição do primeiro anticorpo recomendada para uso futuro é aquela correspondente à precipitabilidade de 20 - 40% do hormônio radioiodinado presente na reação.

### 8. Escolha da Quantidade do Segundo Anticorpo

Para a escolha do volume adequado do segundo anticorpo faz-se reagir quantidades crescentes do mesmo com concentrações fixas, anteriormente definidas do hormônio iodinado (1:250) e primeiro anticorpo ( $1:4 \times 10^4$ ) até a obtenção da precipitabilidade máxima do sistema.

### 9. Protocolo de Dosagem

O método de dosagem dos níveis de hormônio de crescimento de plasma e hipófise de ratos obedeceu o protocolo contido na Tabela 1. Os tubos 1 e 2 contêm apenas o hormônio radioiodinado fornecendo, portanto, apenas a radiação total do sistema. Os tubos 3 e 4 não contêm 1.º anticorpo, portanto medem a ligação não imunológica servindo com "background" da reação. Os tubos 5 e 6 contêm excesso do 1.º anticorpo servindo para avaliar a precipitabilidade máxima do sistema. Os tubos 7 e 8 constituem o zero da curva padrão, isto é, não contêm hormônio padrão nem amostra. Os tubos de Nos. 9 a 20 contêm hormônio padrão nas concentrações 0.125; 0.25; 0.50; 1.0; 2.0 e 4.0 ng/ml. Os tubos seguintes contêm plasma ou extrato hipofisário ( $1:2 \times 10^4$ ) correspondente ao agrupamento de cinco hipófises. A sequência da adição dos reagentes obedeceu à disposição mencionada na Tabela 1.

Após a adição do primeiro anticorpo o sistema foi incubado a 4°C durante 3 dias e mantido nestas condições por mais 24 horas após o acréscimo do segundo anticorpo. A seguir, os tubos sofreram o seguinte processamento:

- centrifugação a 2,000 rpm durante 30 minutos a 4°C;
- decantação do sobrenadante e ressuspensão do precipitado com 0.5 ml de tampão fosfossilina contendo EDTA e albumina bovina;
- repetição da centrifugação;
- decantação do sobrenadante e contagem radioativa do precipitado.

Todas as determinações foram feitas em duplicata e o valor apresentado corresponde à média aritmética das duplicatas.

### 10. Cálculo dos Resultados

As contagens obtidas nos tubos 3 - 4 (Tabela 1) são consideradas "background" e são subtraídas das contagens dos demais tubos. Uma curva-padrão é constituída a partir dos valores obtidos dos tubos 7 - 20 (Figura 1). O conteúdo de GH da amostra é determinado diretamente a partir da curva padrão pela aplicação do fator de correção correspondente à diluição sofrida pela amostra.

### 11. Soluções Tampões

Tampão fosfato 0.5 M, pH 7.6 — para volume final de 1,000 ml dissol-

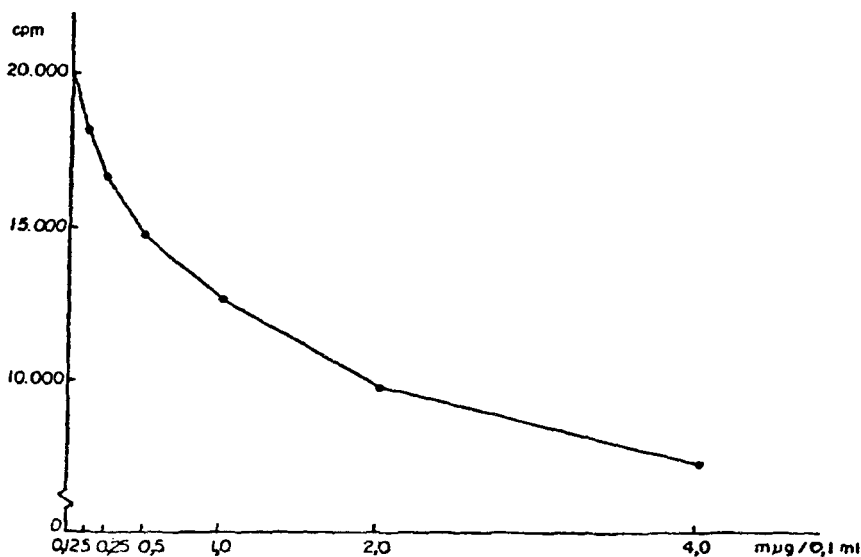


FIGURA 1

Curva padrão para determinação de hormônio de crescimento de rato

ver em água destilada 9,44 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e 61,36 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  anidro, adicionar 0,1% de mertiolate e acertar pH com  $\text{NaOH}$  10 N.

Tampão fosfato 0,05 M pH 7,6 – Diluir 1:10 a solução anterior e acertar pH se necessário, com  $\text{NaOH}$  10 N.

Tampão fosfato 0,01 M pH 7,6 – Idem anterior diluindo a solução 0,05 M 1:50.

Tampão fosfossilina contendo albumina (fosfato 0,01 M,  $\text{NaCl}$  0,15 M, albumina bovina 1%, pH 7,6) – Para volume final de 3,000 ml dissolver em água destilada 0,564 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 3,678 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  anidro, 26,301 g  $\text{NaCl}$  e 30 g albumina sérica bovina, adicionar 0,1% de mertiolate e acertar pH com  $\text{NaOH}$  10 N.

Tampão fosfossilina contendo EDTA (Fosfato 0,01 M,  $\text{NaCl}$  0,15 M, albumina bovina 1%, EDTA 0,025 M, pH 7,6) – Idem tampão anterior adicionando 9,5 g de EDTA/litro. Acertar o pH com  $\text{NaOH}$  10 N.

Tampão barbital 0,05 M, pH 8,6 – Para volume final de 1,000 ml dissolver em água destilada 9,21 g barbital e 1,65 g  $\text{NaOH}$ . Acertar o pH com  $\text{NaOH}$  10 N.

Todos os reagentes utilizados foram preparados a partir de substâncias puras, pró-análise (P. A.).

## RESULTADOS

1. *Testes de Rendimiento da Iodinação e da Pureza do Hormônio Iodinado*

Os resultados observados encontram-se na Tabela 2, notando-se a obtenção de 700/o no rendimento da radioiodinação e 88.70/o de pureza no hormônio iodinado.

2. *Teste da Precipitabilidade do Hormônio Iodinado, Escolha da Diluição do Primeiro Anticorpo e da Quantidade do Segundo Anticorpo*

Durante os experimentos verificou-se que a precipitabilidade máxima do sistema (excesso de primeiro anticorpo) foi de 84.60/o sendo que as diluições adequadas para os reagentes foi de 1:250 para o hormônio marcado e de 1:  $4 \times 10^4$  para o primeiro anticorpo, que corresponderam a uma precipitabilidade de 26.90/o para o sistema completo. O volume adequado do segundo anticorpo foi 150  $\mu$ l além do que a precipitabilidade do sistema manteve-se inalterada.

3. *Valores Obtidos em Animais Normais*

O protocolo final de dosagem apresentou curva padrão do tipo mostrado na Figura 1. Mediante a aplicação desta técnica foram determinados os teores de hormônio de crescimento na hipófise e no plasma de 30 ratos machos adultos Wistar (233 – 364 g) alimentados *ad libitum* com dieta controle (200/o caseína). Os valores de GH obtidos foram  $82 \pm 28$  (média  $\pm$  desvio padrão) ng/ml para o plasma e  $63 \pm 15$  ng/mg para a hipófise.

TABELA 2

VALORES DOS TESTES DE RENDIMENTO DA IODINAÇÃO E PUREZA DO HORMÔNIO IODINADO

Frações	Contagens (cpm/10 min)			
	Antes da purificação	Após a purificação		
		Fração 1	Fração 2	Fração 3
Sobrenadante (S)	22,812	3,333	3,592	4,265
Precipitado (P)	53,858	23,237	28,411	27,790
Relação $\frac{P}{S + P}$	700/o*	87.40/o	88.70/o**	86.70/o

\* Rendimento da iodinação.

\*\* Pureza do hormônio iodinado.

## DISCUSSÃO

A extração do hormônio de crescimento da hipófise, para fins de bioensaio, tem sido realizada por homogeneização em solução salina com pH alcalino (5-11). Birge *et al.* (4), ao estudar as condições ótimas para extração do hormônio, compararam a homogeneização de hipófises em hidróxido de sódio, ácido acético e tampão fosfossilino pH 7,6 e verificaram melhor extração com solução de hidróxido de sódio.

A iodinação do hormônio foi realizada pela técnica de Hunter e Greenwood (12), e Greenwood, Hunter e Glover (3) com as seguintes modificações: diminuição da quantidade de cloramina T e emprego de  $I^{125}$  em substituição ao  $I^{131}$ . A substituição do isótopo radioativo foi processada em função do  $I^{131}$  apresentar vida média relativamente curta, criando inconvenientes para sua utilização em métodos de radioimunoensaio. Por outro lado, o isótopo a ser utilizado deve apresentar elevada atividade específica uma vez que a quantidade da substância marcada isotopicamente deve ser pequena em relação a proporção com o hormônio não marcado e, além disso, a diluição do hormônio iodinado deve ser suficientemente grande (1).

A purificação do hormônio iodinado foi feita em coluna de Sephadex G 100 (tamanho da partícula = 40 – 120  $\mu$ ) por permitir o fracionamento de peptídeos e proteínas de peso molecular 4,000 – 100,000. Esta faixa inclui a fração imunologicamente ativa do hormônio de crescimento de rato ao mesmo tempo que o tamanho da partícula do Sephadex permite velocidade de escoamento das frações hormonais dentro do tempo de 20 minutos preconizado por Greenwood, Hunter e Glover (3).

A literatura refere que a precipitabilidade máxima do hormônio iodinado (o que ocorre em presença de excesso de primeiro anticorpo) deve ser entre 50 a 60% (16) ou superior (17) e que, para o ensaio final, o anticorpo deve ser diluído até concentração suficiente para precipitar 35 a 55%, 15 a 30% (14) ou cerca de 25% (18) da atividade total presente no sistema. No presente trabalho a precipitabilidade máxima chegou a atingir 88,7% e diluição de  $1:4 \times 10^4$  do primeiro anticorpo foi capaz de precipitar 26,9% da radioatividade total do sistema.

O tampão fosfossilino contendo albumina sérica bovina e EDTA acrescido de azida sódica foi utilizado no sistema seguindo-se recomendações do NIAMDD. Apesar do EDTA reduzir a radioatividade do precipitado e diminuir a inclinação inicial da curva padrão (14), é aconselhado o seu uso, com a finalidade de inativar o “inibidor” presente no plasma que interfere com a precipitação do sistema de duplo anticorpo (19, 20).

Segundo alguns autores os antígenos padrão e amostras a serem dosados devem ser preparados em plasma, desprovido de antígeno contendo os mesmos componentes, no mesmo tipo de diluente, para se evitar variação de resultados devida a fatores inespecíficos como composição iônica, pH, concentração de proteínas e outros. Entretanto, tem sido referido que, desde que a sensibilidade do método é adequada para medidas hormonais em pequenos volumes de plasma, ou então, em diluições plasmáticas superiores a 1:10, os efeitos não específicos apresentam-se usualmente ausentes; nestas condições, preparações dos padrões do hormônio em tampão contendo albumina sérica, geralmente, fornecem curvas-padrão semelhantes àquelas correspondentes a padrões preparados em plasma desprovido

de hormônio (2, 21). Assim, optou-se por utilizar no presente experimento: a) padrões dissolvidos em solução tampão contendo albumina sérica bovina e b) volume pequeno de amostras de plasma (10  $\mu$ l) e diluição elevada do extrato hipofisário, ajustados de modo adequado para que o decaimento obtido fornecesse leituras em pontos mais sensíveis da curva-padrão.

Os níveis plasmáticos do hormônio de crescimento de ratos referidos pela literatura, quando dosados por radioimunoensaio, pela técnica do duplo anti-corpo, são variáveis, dependendo de uma série de fatores. Assim, são mencionados os efeitos do sexo (22), da temperatura (9, 23, 24), manipulação dos animais (25), horário da colheita do sangue (11), stress (23, 26-28), sistema de colheita do sangue (22, 25) e do emprego de anestésicos (23, 25) sobre o nível do hormônio circulante. Os níveis médios do hormônio plasmático citados nos trabalhos acima variam de  $20,0 \pm 6,0$  a  $94,3 \pm 17,3$  ng/ml. Entretanto, os dados individuais variaram desde concentrações insignificantes até cerca de 260 ng/ml. Os valores obtidos no presente experimento para ratos normais se aproximam dos citados por Schalh e Reichlin (22), verificados em condições experimentais semelhantes.

Os níveis do hormônio de crescimento, na hipófise de ratos, relatados pela literatura, também são variáveis (4, 9, 11, 29, 30). São assinalados como causas de variação, a idade e o sexo dos animais (4, 29) e o horário da retirada da hipófise (11). Os teores de hormônio de crescimento hipofisário verificados no presente trabalho são similares aos resultados observados por Birge *et al.* (4) e Burek e Frohman (29) ao se considerarem animais de pesos semelhantes.

#### SUMMARY

##### RAT PITUITARY AND PLASMA GROWTH HORMONE LEVELS. STANDARDIZATION OF DOUBLE ANTIBODY RADIOIMMUNOASSAY (USING $^{125}$ I-LABELLING).

Bioassay techniques are not sufficiently sensitive to measure plasma growth hormone nor are they entirely specific for the growth hormone molecule. All these requirements are fulfilled by the radioimmunoassay technique. Successful performance of the GH radioimmunoassay technique is dependent upon the good quality of the protein reagents (antibodies) used and the great care taken in handling both the reagents and the labelled hormone. The described method is based on displacement of the radioiodinated ( $^{125}$ I) hormone bound to the first antibody ( $Ab_1$  = monkey serum anti-rat's GH) by the sample hormone. The hormone  $Ab_1$  complex is precipitated by the  $Ab_2$  (rabbit serum anti-monkey gammaglobulin). The radiation of the insoluble precipitate is then counted and the hormone quantitated through a standard curve. In the present paper we dealt with  $Ab_2$  obtention, hormone radiolabelling, and the purification of the radioiodinated hormone. The accomplished specific tests showed values of 70% for the hormonal radioiodination efficiency, with 88.7% of the processed hormone being recovered in the pure state. The highest precipitability value of the system was 84.6% whereas using optimal dilutions of the labelled-hormone (1:250) and  $Ab_1$  ( $1:4 \times 10^4$ ) this value achieved 26.9%. These results are very much in agreement with those notified in the literature. Applying the present protocol to the analysis of plasma-and anterior-pituitary-gland-GH content

from young-adult Wistar male rats kept on normal feeding schedule and rest conditions the values obtained were  $82 \pm 28$  ng/ml (plasma) and  $63 \pm 15$  ng/mg (pituitary), respectively.

### BIBLIOGRAFIA

1. Yalow, R. S. & S. A. Berson. Introduction and general considerations. In: **Principles of Competitive Protein-Binding Assays**. (Chapter I). W. D. Odell and W. H. Daughaday. (Eds.). Philadelphia, Pa., J. B. Lippincott Co., 1971, p. 8.
2. Yalow, R. S. & S. A. Berson. Problems of validation of radioimmunoassays. In: **Principles of Competitive Protein-Binding Assays**. (Chapter XV). W. D. Odell and W. H. Daughaday (Eds.). Philadelphia, Pa., J. B. Lippincott Co., 1971, p. 375-377.
3. Greenwood, F. C., W. M. Hunter & J. S. Glover. The preparation of  $^{131}\text{I}$ -labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem. J.*, **89**: 114-123, 1963.
4. Birge, C. A., G. T. Peake, I. K. Mariz & W. H. Daughaday. Radioimmunoassayable growth hormone in the rat pituitary gland: Effects of age, sex and hormonal state. *Endocrinology*, **81**: 195-204, 1967.
5. Srebnik, H. H., M. M. Nelson & M. E. Simpson. Reduced growth hormone content in anterior pituitaries of rats on protein-free diets. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **101**: 97-99, 1959.
6. Srebnik, H. H. & M. M. Nelson. Anterior pituitary function in male rats deprived of dietary protein. *Endocrinology*, **70**: 723-730, 1962.
7. Mosier, H. D. Jr. & R. A. Jansons. Pituitary content of somatotropin, gonadotropin and thyrotropin in rats with stunted linear growth following head X-irradiation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **128**: 23-28, 1968.
8. Dickerman, E., A. Negro-Vilar & J. Meites. Effects of starvation on plasma GH activity, pituitary GH and GH-RF levels in the rat. *Endocrinology*, **84**: 814-819, 1969.
9. Müller, E. E., D. Miedico, G. Giustina & A. Pecile. Growth hormone immunological and biological assays in pituitary of rat under different experimental conditions. *Experientia (Basel)*, **25**: 1146-1147, 1969.
10. Pecile, A., G. Ferrario, G. Falconi & E. E. Müller. Pituitary growth hormone content and hypothalamic growth hormone releasing activity in neonatal rats after stress. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **130**: 425-427, 1969.
11. Müller, E. E., G. Giustina, D. Miedico, A. Pecile, D. Cocchi & F. W. King. Circadian pattern of bioassayable and radioimmunoassayable growth hormone in the pituitary of female rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **135**: 934-939, 1970.
12. Hunter, W. M. & F. C. Greenwood. Preparation of iodine- $^{131}\text{I}$  labelled human growth hormone of high specific activity. *Nature*, **194**: 495-496, 1962.
13. Schalch, D. S. Use of  $^{125}\text{I}$ -labelling in radioimmunoassays. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **121**: 1279-1280, 1966.
14. Lambert, A. E., A. Luycky, & G. R. Zahnd. Improvement of human growth hormone immunoassay using  $^{125}\text{I}$ . *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **126**: 405-409, 1967.
15. Youton, R., I. Riesco, J. Litvak & N. Zlatar. Análisis de algunos problemas del método radioinmunológico para la medición de hormona de crecimiento. *Rev. Med. Chil.*, **99**: 572-576, 1971.
16. Greenwood, F. C. Radioimmunoassay techniques. *Clin. Sci.*, **37**: 571, 1971.
17. Nakazone, A. K. Radioimmunoensaio para Dosagem de Hormônio de Crescimento. Tese de Mestrado. Fac. Med. Vet. e Zootec. Univ. S. Paulo, 1970.

18. Schalch, D. S. & M. L. Parker. A sensitive double antibody immunoassay for human growth hormone in plasma. *Nature*, **203**: 1141-1142, 1964.
19. Morgan, G. R., R. L. Sorenson & A. Lazarow. Further studies of an inhibitor of the two antibody immunoassay systems. *Diabetes*, **13**: 579-584, 1964.
20. Schally, A. V., A. Arimura & A. J. Kastin. Hypothalamic regulatory hormones. *Science*, **179**: 341-350, 1970.
21. Midgley, A. R. Jr., G. D. Niswender & R. M. Rebar. Principles for the assessment of the reliability of radioimmunoassay methods (precision, accuracy, sensitivity, specificity). *Acta Endocrinol. (Kbh) (Suppl)* **142**: 163-184, 1969.
22. Schalch, D. S. & S. Reichlin. Plasma growth hormone concentration in the rat determined by radioimmunoassay: Influence of sex, pregnancy, lactation, anesthesia, hypophysectomy and extrasellar pituitary transplants. *Endocrinology*, **79**: 275-280, 1966.
23. Kokka, N., J. F. García, R. George & H. W. Elliott. Growth hormone and ACTH secretion: Evidence for an inverse relationship in rats. *Endocrinology*, **90**: 735-743, 1972.
24. Parkhie, M. R. & H. D. Johnson. Hypothalamic growth hormone releasing factor: Release and synthesis after exposure to a high ambient temperature. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **142**: 311-315, 1973.
25. Takahashi, K., W. H. Daughaday & D. M. Kipnis. Regulation of immunoreactive growth hormone secretion in male rats. *Endocrinology*, **88**: 909-917, 1971.
26. Montes, A., F. Hervás & T. Jolin. Effects of thyroidectomy and thyroxine on plasma growth hormone and insulin levels in rats. *Hormone Res.*, **8**: 148-158, 1977.
27. Reeves, R. D., L. Dickinson, J. Lee, B. Kilgore, B. Branham & M. J. Elders. Effects of dietary composition on somatomedin activity in growing rats. *J. Nutr.*, **109**: 613-620, 1979.
28. Achilles, P., R. C. Burini, A. Y. O. Angeleli & A. O. Campana. Effect of protein-free diet on pituitary and plasma growth hormone in young rats. *Nutr. Repts. Internat.*, **26**: 945-954, 1982.
29. Burek, C. L. & L. A. Frohman. Growth hormone synthesis by rat pituitaries *in vitro*: Effect of age and sex. *Endocrinology*, **86**: 1361-1367, 1970.
30. Trenkle, A. Effect of starvation on pituitary and plasma growth hormone in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **135**: 77-80, 1970.

## CALIDAD PROTEINICA DE PRODUCTOS COMERCIALES DE PROTEINA TEXTURIZADA DE SOYA Y DE MEZCLAS CON CARNE

*Luiz G. Elías<sup>1</sup>, J. Edgar Brabam<sup>2</sup>, Delia A. Navarrete<sup>1</sup> y  
Ricardo Bressani<sup>3</sup>*

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),  
Guatemala, Guatemala, C. A.

### RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objeto evaluar la calidad de la proteína de ocho productos texturizados de soya que circulan en el mercado de varios países de América Latina. A través de este estudio también se establecieron los aminoácidos limitantes en esos productos, y se evaluó el proceso de texturización. Por último, se evaluó un texturizado de proteína de soya (TPS) como sustituto de proteína de carne y como suplemento proteínico del maíz. Se analizaron los ocho TPS a fin de determinar algunas características funcionales y de calidad proteínica. Los resultados indicaron claramente que todas las muestras eran diferentes en densidad, absorción de agua y solubilidad del nitrógeno; también revelaron diferencias en su contenido de metionina, lisina y treonina, variando los valores de PER entre 1.75 y 2.31. Los estándares de calidad proteínica reconocidos son del orden de un PER de 2.3. Los estudios de suplementación con lisina, metionina y treonina indicaron una respuesta positiva a la metionina, principalmente en los productos de peor calidad proteínica. La adición conjunta de lisina y treonina al producto con metionina mejoró aún más la calidad proteínica del mismo.

Por otro lado, los datos también demostraron que una sustitución de 25% de la carne por TPS no menoscaba la calidad proteínica de la mezcla cuando se utiliza un TPS de calidad proteínica normal. Este producto también suplementó eficientemente a la proteína del maíz. Se encontró finalmente, que el proceso de texturización no reduce la calidad proteínica de la soya. Con base en estos resultados, se llegó a la conclusión de que la variabilidad en la calidad proteínica observada en las ocho muestras comerciales, se debió a la calidad inadecuada de la materia prima. Por esta razón, se recomienda que los países latinoamericanos normen el uso de TPS como sustituto de la carne, y establezcan a la vez, sistemas adecuados de control de calidad del producto.

---

Manuscrito modificado recibido: 5-4-84.

1. Científicos de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Apartado Postal 1188, Guatemala, Guatemala, C. A.
2. Jefe Asociado de la citada División.
3. Jefe, División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.

Publicación INCAP E-1127.

## INTRODUCCION

En América Latina, uno de los productos que más se está impulsando en los mercados es el texturizado de proteína de soya (TPS), la cual se anuncia al consumidor principalmente como un sustituto o como un extensor de la carne. El concepto de extensor implica la dilución de un alimento tradicional con otro producto, con miras a incrementar la disponibilidad del primero (1, 2). Desde el punto de vista nutricional, sin embargo, además de la disponibilidad física, es importante también que el alimento original conserve sus características organolépticas nutritivas, las cuales reclama el consumidor. Esto asume aún más importancia en el caso de dietas basadas en cereales y pequeñas cantidades de leguminosas. En muchos casos, se espera que el extensor sea nutricionalmente igual al producto que extiende; no obstante, esto depende de la calidad individual de los dos productos y del nivel de sustitución del uno por el otro. Por consiguiente, es importante conocer la calidad proteínica de estos extensores. Se ha informado que la calidad de la proteína de los texturizados de proteína de soya, medida como PER, varía de 2.2 a 2.4 (1, 2) o sea que es similar a la de la materia prima, harina de soya (1). A pesar de ello, existen varios informes (2-5) indicativos de que las mezclas de TPS con carne dan productos de calidad proteínica inferior a la de la proteína de la carne. Si bien es cierto que esto podría atribuirse a la calidad de la carne —que contiene mayor cantidad de tejido conectivo— también es cierto que ello podría deberse a la calidad proteínica del extensor. Pero si la calidad proteínica de los dos componentes es alta, la sustitución parcial de carne por TPS da productos de alta calidad proteínica (6, 7).

Debido a estas posibilidades y con el propósito de formarse una idea de la calidad de los TPS que se comercializan en algunos países de América Latina, se llevó a cabo el estudio objeto de esta publicación, para así poder normar la calidad de tales productos. Para estos fines, se recolectaron muestras de TPS de mercados de países latinoamericanos, y se sometieron a una evaluación nutricional. Se presentan, asimismo, los resultados de otros estudios por cuyo medio se evalúa la calidad proteínica de mezclas de TPS con carne.

## MATERIALES Y METODOS

Se recolectó un total de ocho muestras comerciales de TPS de mercados de alimentos en cuatro países latinoamericanos. Cabe señalar que no todas las muestras se utilizaron en todos los experimentos de que se informa en este trabajo. Para los estudios de extensión de carne de res, se adquirió en el mercado carne magra de cortes con poco cartílago y se llevó al laboratorio, donde se cortó en pequeños trozos, y luego se deshidrató por liofilización.

En las muestras de TPS se determinó su densidad, absorción de agua y solubilidad de su proteína en hidróxido de sodio 0.1 N. También fueron analizadas por el método Kjeldahl para establecer su contenido de proteína (8); por métodos microbiológicos, por su contenido de metionina y treonina (9); y por el método de DNFB (10), para lisina disponible.

Se realizaron varios estudios en ratas para evaluar la calidad de la

proteína por el método del PER. Las dietas se prepararon de modo que contuvieran 10% de proteína, y se ajustaron a 5% de grasa en la dieta mediante el agregado de aceite de semilla de algodón. Además, contenían 4% de sales minerales (11), 1% de aceite de hígado de bacalao, y almidón de maíz hasta ajustar 100%. Todas las dietas se suplementaron con 5 ml de una solución completa de vitaminas del complejo B (12).

En los ensayos en que se investigó el efecto de la suplementación con aminoácidos, éstos fueron agregados a las dietas sustituyendo un peso igual de almidón de maíz. Los aminoácidos sometidos a estudio fueron metionina (0.2%), treonina y lisina (0.1%).

El efecto de la sustitución de carne de res por TPS se llevó a cabo reemplazando 0, 25, 50, 75 y 100% de proteína de la carne por proteína de TPS. Luego, la mezcla se incorporó a la dieta basal para que las dietas experimentales contuviesen 10% de proteína.

Con el propósito de establecer el efecto del proceso de texturizado, realizado con un extrusor Wenger X-25 se solicitó a una firma comercial la preparación del TPS, obteniéndose muestras antes y después del proceso. Los materiales se incluyeron al 10% en la ración basal para evaluarlos nutricionalmente. Además, el texturizado se adicionó a la harina de maíz a un nivel de 8% para determinar su efecto suplementario.

Cada dieta fue ofrecida *ad libitum* a grupos de ocho ratas de 21 a 22 días de edad por un período experimental de 28 días, durante el cual el agua estaba disponible constantemente; asimismo, cada siete días se midieron los cambios en el peso y el consumo de la dieta. Todas ellas fueron analizadas para determinar su contenido de proteína, aplicando el método de Kjeldahl (8).

## RESULTADOS

Algunas de las características físicas de las muestras evaluadas se señalan en la Tabla 1. La densidad del producto varió de 0.192 a 0.476 g/cc, y la capacidad de absorción de agua, de 223 a 556 ml/100 g. Se muestra

TABLA 1

### DENSIDAD, ABSORCIÓN DE AGUA Y SOLUBILIDAD DE NITRÓGENO EN MUESTRAS COMERCIALES DE SOYA TEXTURIZADA

Muestra No.	Densidad g	Absorción de agua* ml/100g	Solubilidad de N en solución NaOH, 0.1%
1	0.476	223	65.7
2	0.270	363	50.2
3	0.192	556	44.7
5	0.374	290	65.8
7	0.429	346	60.6
8	0.304	250	41.5

\* % absorción agua =  $\frac{\text{ml agua absorbida}}{\text{peso muestra}} \times 100$

así una amplia variación en estos parámetros de funcionalidad, los cuales están relacionados con la capacidad del producto de ser utilizado como sustituto o como extensor de carne. También se estima de interés mencionar que los análisis indicaron una relación negativa de significancia estadística, con una correlación de 0.75 entre la densidad y la capacidad de absorción de agua del producto.

La Tabla 2 muestra algunos datos de orden químico-nutricional. Como se observa, el contenido de proteína osciló entre 47 y 50 g/o, y los valores de metionina fueron de 0.38 a 0.85 g/16 g N. La treonina acusó valores de 1.85 a 2.90 g y la lisina disponible, de 4.4 a 5.3 g/16 g N. Debido a que la metionina es el aminoácido más limitante en la proteína de soya, y considerando el hecho de que el contenido de lisina disponible refleja las condiciones de procesamiento, es lógico suponer que la calidad de la proteína podría verse afectada por la variación en el contenido de estos aminoácidos. De hecho, la utilización biológica de la proteína, evaluada por el método de eficiencia proteínica (PER), confirmó los análisis químicos, según se muestra en la Tabla 3. El índice de eficiencia proteínica varió de 1.7 en la muestra No. 1 a un valor de 2.3 para las muestras Nos. 7 y 8, respectivamente. El PER de la carne molida y la caseína usadas como control fue de 2.8 y 2.4, respectivamente. De ello se deduce, por consiguiente, que si el PER de la carne es de 2.8 y el del TPS de 1.7, este último no puede mantener la calidad de la proteína de la carne al haber una sustitución completa de carne por TPS. Por lo tanto, la variación en el contenido de aminoácidos afectó la calidad proteínica, lo que indica que la suplementación con aminoácidos podría aumentar la utilización del producto. El efecto de la adición de metionina, treonina y lisina, según se ilustra en la Tabla 4, se tradujo en una mejor utilización de la proteína de las muestras de TPS. Como era de esperar, el agregado de metionina mejoró significativamente el PER, pero la respuesta no fue similar para todos los productos. El incremento neto en el PER debido a la suplementación con metionina fue de 1.08 para la muestra No. 1, y de solamente 0.25 para la

TABLA 2

CONTENIDO DE PROTEINA, TREONINA, METIONINA Y LISINA  
DISPONIBLE DE DIFERENTES PRODUCTOS COMERCIALES  
DE PROTEINA TEXTURIZADA DE SOYA

Muestra comercial No.	Proteína	Treonina	Metionina	Lisina*
		g/16 g N		
1	48.4	2.12	0.58	4.98
2	49.8	1.85	0.44	4.40
3	49.6	2.60	0.62	4.84
5	48.6	2.12	0.62	4.95
7	48.2	2.90	0.85	5.27
8	47.1	2.65	0.38	5.12

\* Epsilon-amino lisina.

TABLA 3

**CALIDAD PROTEINICA DE DIFERENTES MUESTRAS COMERCIALES  
DE PROTEINA TEXTURIZADA DE SOYA**

Muestra No.	Proteína en dieta, %	Peso ganado g/28 días	Indice de eficiencia proteínica
1	10.2	64 ± 5.9*	1.75 ± 0.11
2	10.9	84 ± 3.6	1.89 ± 0.19
3	10.0	72 ± 3.8	1.84 ± 0.14
4	9.2	67 ± 8.4	2.00 ± 0.21
5	11.0	89 ± 5.5	2.10 ± 0.07
6	10.3	89 ± 5.8	2.21 ± 0.10
7	9.7	86 ± 7.7	2.31 ± 0.13
8	9.9	92 ± 4.8	2.30 ± 0.10
-----			
Carne	10.2	110 ± 8.2	2.82 ± 0.15
Caseína	10.5	96 ± 6.3	2.40 ± 0.07

\* Promedio ± EE.

TABLA 4

**CALIDAD PROTEINICA (PER)\* DE DIFERENTES MUESTRAS COMERCIALES  
DE PROTEINA TEXTURIZADA DE SOYA SUPLEMENTADAS  
CON AMINOACIDOS**

Aminoácido agregado	Muestra Comercial No.				
	1	2	3	6	7
Ninguno	1.75 ± 0.11**	1.89 ± 0.19	1.84 ± 0.14	2.21 ± 0.10	2.31 ± 0.13
Metionina	2.83 ± 0.10	2.72 ± 0.11	2.61 ± 0.12	2.68 ± 0.08	2.56 ± 0.13
Metionina + treonina	2.44 ± 0.07	2.87 ± 0.15	2.73 ± 0.07	2.72 ± 0.13	2.35 ± 0.08
Metionina + treonina + lisina	3.07 ± 0.09	2.87 ± 0.11	2.71 ± 0.09	2.74 ± 0.11	2.71 ± 0.18

\* Indice de eficiencia proteínica = Peso ganado/proteína consumida.

\*\* Promedio ± EE.

Metionina: 0.2%, treonina y lisina: 0.1%.

muestra No. 7. La adición de treonina no tuvo ningún efecto significativo, pero el agregado concomitante de lisina incrementó el PER a valores más altos que los obtenidos con el agregado de sólo metionina. Los análisis estadísticos de estos resultados revelan que la adición de todos los aminoácidos bajo estudio (metionina, treonina y lisina), resultó en un mejoramiento altamente significativo ( $P < 0.001$ ) en la calidad de la proteína, comparado con las muestras sin suplementación. El aumento del PER más allá del valor obtenido con la adición de metionina, solamente demostró ser significativo al agregar al mismo tiempo lisina y metionina. Sin embargo, debido a que no fue posible separar el efecto de la adición de sólo lisina en la dieta ya suplementada con metionina, se llevó a cabo otro experimento para esclarecer este punto, con los resultados que se muestran en la Tabla 5. En este caso se seleccionaron solamente dos muestras de TPS: la No. 1 y la No. 7. Según se nota, la calidad de la proteína de nuevo mejoró con el agregado de metionina; no obstante, el agregado posterior de treonina o lisina no indujo un PER más alto que el obtenido con la adición de sólo metionina. La suplementación con los tres aminoácidos acusó un mejoramiento adicional, indicando que la lisina y la treonina son igualmente limitantes, una vez adicionada la metionina. El análisis estadístico de estos resultados de nuevo reveló que existe una significancia estadística solamente cuando los tres aminoácidos se agregan simultáneamente. Por otro lado, también es de interés señalar que los valores de F fueron más altos al agregar treonina sola o con lisina; esto sugiere que la treonina y la lisina son el segundo y tercer aminoácido limitante, respectivamente. En la Tabla 6 se aprecian diferencias en algunas de las características nutricionales de estas dos muestras de TPS, lo que indica que la calidad proteínica inferior de la muestra No. 1 se debe a su menor contenido de metionina, treonina y lisina.

Las relaciones entre los principales parámetros investigados en los diferentes productos se exponen en la Tabla 7. Como se indicara en el párrafo anterior, se nota una correlación negativa entre la densidad y la capacidad de absorción de agua, y una correlación positiva entre el PER y el contenido de lisina; asimismo, entre el PER y el contenido de treonina.

TABLA 5

**CALIDAD PROTEINICA (PER)\* DE MUESTRAS COMERCIALES  
DE PROTEINA TEXTURIZADA DE SOYA SUPLEMENTADA  
CON AMINOACIDOS**

Aminoácido agregado	Muestra comercial	
	1	7
Ninguno	1.78	2.00
Metionina	2.51	2.42
Metionina + treonina	2.54	2.50
Metionina + lisina	2.42	2.49
Metionina + treonina + lisina	2.63	2.71

\* Índice de eficiencia proteínica = Peso ganado/proteína consumida.

TABLA 6

**COMPARACION ENTRE EL CONTENIDO DE AMINOACIDOS  
Y LA CALIDAD PROTEINICA DE MUESTRAS COMERCIALES  
DE PROTEINA TEXTURIZADA DE SOYA**

Evaluación	Muestra comercial No.	
	1	7
Metionina, g/16 g N	0.58	0.85
Treonina, g/16 g N	2.12	2.90
Lisina disponible, g/16 g N	4.98	5.27
Indice de eficiencia proteínica	1.75	2.31

TABLA 7

**CORRELACIONES ENTRE LOS PARAMETROS DETERMINADOS EN  
LAS MUESTRAS DE PROTEINA TEXTURIZADA DE SOYA<sup>a</sup>**

Densidad vrs capacidad de absorción de agua	$r = 0.75^*$
Indice de eficiencia proteínica, lisina disponible	$r = 0.63^*$
Indice de eficiencia proteínica, treonina	$r = 0.63^*$

\* Significativo al 5%.

a Ocho muestras.

Según se indicó al inicio de este trabajo, una de las principales formas de consumo del TPS es utilizándolo como sustituto o extensor de la carne. Por lo tanto, debe asegurarse la calidad nutricional de los productos de TPS, ya que, como se demostró con las diferentes muestras analizadas, su calidad es muy variable. Es de prever que a menor calidad del TPS, ocurra un mayor descenso de la calidad proteínica de la carne, al ser reemplazada por el producto de soya.

La Tabla 8 resume los datos de sustitución de la carne por TPS medidos por el PER. Como se observa, el valor de la calidad proteínica se mantuvo hasta una sustitución del 25%, para luego disminuir a 2.30 cuando toda la proteína provenía del TPS. Estos datos obviamente indican que la calidad del TPS, aunque dentro del rango establecido (1, 2), es inferior a la calidad de la proteína de la carne.

Los datos sobre el efecto de texturización se detallan en la Tabla 9 y, según revelan, la calidad proteínica (PER) de la harina de soya fue de 2.4 a 2.6, similar al valor observado en el texturizado que fue de 2.4. El agregado de 8% de TPS al maíz, como suplemento, aumentó la calidad proteínica del producto de 1.4 a 2.3, incremento similar al señalado en otros estudios (1, 2, 7).

TABLA 8

## VALOR PROTEINICO DE MEZCLAS ISOPROTEICAS DE TPS Y CARNE

Distribución proteínica de ingredientes, %		Promedio de aumento en peso g	PER
TPS	Carne		
0	100	126	3.11
25	75	108	3.04
50	50	109	2.79
75	25	84	2.47
100	0	82	2.30
Caseína		119	3.03

TABLA 9

## EFECTO DE LA TEXTURIZACION DE LA HARINA DE SOYA SOBRE SU VALOR PROTEINICO

Material	Proteína en dieta %	Promedio de ganancia en peso, g	PER
Harina de soya cruda	10.1	106	2.6
Harina de soya fina	9.8	81	2.4
Soya texturizada	10.1	81	2.4
Harina de maíz	7.4	28	1.4
Harina de maíz + 8% de soya texturizada	10.1	96	2.3

## DISCUSION

Los resultados de la investigación aquí descrita indican que la calidad proteínica de algunos de los productos comerciales de TPS que se encuentran en el mercado de América Latina es inferior a la que, tanto en teoría como en la práctica, se ha determinado en otras partes del mundo (1, 2, 7). Se demostró que el principal factor que incide en la calidad inferior de estos productos se debe a deficiencias en los aminoácidos metionina, lisina y treonina. Es posible que estas deficiencias existan en la materia prima, o sea en la harina de soya, y éstas se acentúan a causa del proceso empleado para convertirla en TPS. Hasta la fecha no se ha informado que el proceso de extrusión destruya la calidad del producto extruido, ya que se ha manifestado que los TPS tienen un PER que varía de 2.1 a 2.3, valores que son prácticamente los señalados para la harina de soya (1, 2). Los resultados del presente trabajo confirman lo expuesto, ya que el proceso de texturización no redujo la calidad proteínica del producto, ni su capacidad suple-

mentaria. Por consiguiente, se puede inferir que la calidad proteínica de la materia prima ya estaba dañada antes de ser extruida, en los texturizados que dieron valores de PER inferiores a 2.00 (que en nuestra investigación fueron cuatro de los ocho sometidos a estudio).

Las implicaciones de estos hallazgos son de gran importancia, ya que la propaganda comercial indica que el TPS puede reemplazar a la carne sin que ésta sufra en su valor proteínico. Si bien esto ha sido comprobado hasta cierto porcentaje de reemplazo —como lo demuestra el estudio que nos ocupa— el uso de un TPS de calidad inferior reducirá la calidad de la carne, aun cuando el nivel de reemplazo sea adecuado, y mucho más si el reemplazo es mayor. La implicación va aún más lejos, ya que en dietas de bajo contenido proteínico, tanto en términos de cantidad como de calidad, un producto sustituido podría reducir significativamente la calidad de la dieta. Se ha convertido en costumbre que muchos jóvenes prácticamente se alimenten con mezclas de carne sustituida y pan en la bien conocida hamburguesa. Convendría evaluar el significado nutricional de esta costumbre, ya que el pan ha sido horneado y, por lo tanto, su lisina disponible se ha reducido. Por otro lado, la carne usada en la hamburguesa —una mezcla no controlada de carne y TPS—, también será deficiente en lisina, metionina y treonina, lo cual podría tener implicaciones nutricionales importantes, más todavía si la carne utilizada es rica en cartílago. Hay información reciente acerca de esto último (7), sobre todo cuando la sustitución de carne por TPS es del orden de 40%.

No cabe ninguna duda de que es factible producir un TPS de buena calidad proteínica si se parte de una materia prima adecuada; no obstante, por razones económicas bien puede ocurrir que los productores de TPS empleen mezclas de harina de soya para uso tanto humano como animal, de manera que pueda ser extruida. Este aspecto debe normarse en nuestros países mediante el establecimiento de sistemas de control de calidad, puesto que debemos tener en mente que en las áreas urbanas es la población de escasos recursos la que compra esos productos. Evidentemente, esa compra la hacen a fin de tener así algunos de los alimentos de alto precio, como es la carne de res. Para tales propósitos, se considera importante la utilización de metodologías aceptables pero iguales entre países, para poder así controlar productos importados de un país a otro.

Con base en los hallazgos de nuestro estudio aquí notificados, se puede concluir que las características físicas de los productos TPS comercializados en América Latina son diferentes. Este hecho sugiere, por consiguiente, que la materia prima también era diferente o bien que los procesos de extrusión utilizados aunque similares, no fueron uniformes. Esto se hizo más notorio en la capacidad de absorción de agua, propiedad funcional de gran importancia. Asimismo, es de interés establecer si las variaciones en el proceso de extrusión son los factores responsables de las variaciones en la calidad y el contenido de proteína final. Por último, también es recomendable que los laboratorios de control de calidad de alimentos en nuestros países establezcan normas y control para estos materiales, ya que su uso puede tener implicaciones nutricionales de importancia para la población.

## SUMMARY

## PROTEIN QUALITY OF COMMERCIAL TEXTURIZED SOYBEAN PROTEIN AND OF MEAT MIXTURES

The purpose of the present study was to evaluate the protein quality of eight commercial samples of texturized soybean protein (TSP) collected in the food markets of various Latin American countries. The study also included experiments designed to establish the limiting amino acids in those products, and studies to evaluate the process of texturization by extrusion cooking. Finally, experiments were also carried out to evaluate the effect of replacement of meat by TSP as well as the supplementary value of the latter to tortilla flour.

The eight samples were characterized for their functional properties and protein quality. The results obtained indicate that all samples were different in density, water absorption, and nitrogen solubility. Likewise, all samples were different in their lysine, methionine and threonine content, with PER values ranging from 1.75 to 2.31. Protein quality standard value is 2.3. The amino acid supplementation studies showed a positive significant response to methionine addition, particularly in those products exhibiting low PER values. The addition of both lysine and threonine to the methionine-supplemented product, increased PER significantly.

The data also demonstrated that replacement of more than 25% of meat protein by TSP protein decreased protein quality of the product, even when a TSP with an accepted protein quality value was used. This product was also found to supplement the quality of tortilla protein. Finally, it was established that the texturization process did not reduce the protein quality of soybean protein.

Based on these results, it is concluded that the variability in the protein quality measured in the eight TSP samples was due to the initial quality of the soy flour texturized, which was already damaged before texturization. For this reason, it is recommended that Latin American countries establish TSP quality standards when this product is used as a protein extender for meat, and that appropriate systems be implemented for the quality control of such products.

## BIBLIOGRAFIA

1. Rakosky, Jr., J. Soy grits, flour, concentrates, and isolates in meat products. *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **51**: 123A-127A, 1974.
2. Wilding, M. D. Textured proteins in meats and meat-like products. *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **51**: 128A-130A, 1974.
3. Kies, C. & H. M. Fox. Comparison of the protein nutritional value of TVP, methionine-enriched TVP and beef at two levels of intake for human adults. *J. Food Sci.*, **36**: 841-845, 1971.
4. Kies, C. & H. M. Fox. Effect of varying the ratio of beef and textured vegetable protein nitrogen on protein nutritive value for humans. *J. Food Sci.*, **38**: 1211-1213, 1973.
5. Korslund, M., C. Kies & H. M. Fox. Comparison of the protein nutritional value of TVP, methionine-enriched TVP and beef for adolescent boys. *J. Food Sci.*, **38**: 637-638, 1973.
6. Navarrete, D. A., L. G. Elías, J. E. Braham & R. Bressani. The evaluation of the protein quality of soybean products by short-term bioassay in adult human subjects. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **29**: 386-401, 1979.

7. Cichon, R., K. Elkowicz, H. Kozłowska, A. Rutkowski & W. C. Sauer. Nutritional evaluation of meat-soya bean protein product blends. *J. Sci. Food. Agric.*, **31**: 677-684, 1980.
8. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970.
9. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Métodos microbiológicos. En: *Manual de Laboratorio de Análisis de Alimentos*. Rev. Guatemala, INCAP, 1976.
10. Conkerton, E. J. & V. L. Frampton. Reaction of gossypol with free  $\epsilon$ -amino groups of lysine in proteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, **81**: 130-134, 1959.
11. Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.*, **138**: 459-466, 1941.
12. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B<sub>13</sub> to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, **202**: 91-96, 1953.

**THE COMPLEMENTATION EFFECTS ON DIETARY PROTEIN  
OF UNGERMINATED AND GERMINATED MUNG BEAN  
(*Phaseolus aureus*) WITH RICE<sup>1</sup>**

*Mohd Ismail Noor<sup>2</sup>, Roberto Gómez Brenes<sup>3</sup>, Ricardo Bressani<sup>4</sup>  
and Luiz G. Elías<sup>3</sup>*

**Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP),  
Guatemala, C. A.**

**SUMMARY**

Biological evaluations using rats were carried out to determine the complementation effects on dietary protein of cooked mung bean/rice and cooked germinated mung bean/rice mixtures. On an isoproteic basis, mung bean protein was found to be of a lower quality than rice protein. Upon complementation with rice, however, the protein quality of the ungerminated and germinated mung bean/rice mixtures steadily increased when rice was incorporated to provide 25, 50 and 75% of the protein in the diet. A comparison study between germinated and ungerminated mung bean/rice mixtures indicated that the latter mixture was of a better protein quality. Nevertheless, replacement of 75% of the dietary protein of mung bean by rice showed no difference between the germinated and ungerminated mung bean.

**INTRODUCTION**

The complementary role of the proteins of food legumes and cereals has long been recognized. Food legumes, when combined with cereal foods, provide an almost ideal level of dietary proteins for humans and are therefore vitally important for the population of the less developed countries (1, 2). As is well known, the first limiting amino acids in legumes and cereals are methionine and lysine, respectively. Mixtures of legumes and cereals are better balanced in amino acid composition and biological value

---

Manuscrito modificado recibido: 8-2-84.

- 1 This work was carried out with the financial support of the United Nations University.
- 2 INCAP/UNU fellow, Food Science and Nutrition Unit, National University of Malaysia, Sangi, Malaysia.
- 3 Scientist, Division of Agriculture and Food Sciences of INCAP.
- 4 Head of the same Division.

Publication INCAP/UNU-31.

than either of the two components alone (1-3). Germinated mung bean has found its place in the day-to-day diet mainly consumed in the Orient, where it is served as a vegetable or mixed with cereals and cereal products. An earlier work on mung beans indicated that a significant decrease in protein quality does occur as a result of germination and cooking (4). Numerous investigators (1-3, 5, 6) have carried out studies on common bean/rice mixtures but as far as germinated bean/rice mixtures are concerned, studies are scarce. This study was performed to determine the optimum combination of the mixtures, in terms of protein quality, and to compare ungerminated and germinated mung bean/rice mixtures.

### MATERIALS AND METHODS

The mung bean (*Phaseolus aureus*) and polished rice used in this study were obtained from the local market. The mung bean was treated and germinated as described in our earlier investigations (4), with the exception that germinated mung bean was harvested at three days of germination, for purposes of the biological trials. The polished rice was cooked by the routine home-steaming process, ground, and the Kjeldahl N (7) was multiplied by 5.95.

The essential amino acid composition of germinated mung bean, at different days of germination, raw and cooked, and of cooked polished rice were determined in a Technicon TSM autoanalyzer, on 6 N HCl protein hydrolysates.

The study involved maintaining the protein content of the diet at 7.2% (Kjeldahl N (7) x 6.25) by mixing germinated and ungerminated mung bean with polished rice in proportionate amounts, in such a way that the nitrogen content of mung bean was progressively replaced by a compensating amount of polished rice nitrogen. These mixtures were then supplemented with calories, vitamins (8), and minerals (9) to make up the test diets as shown in Table 1.

The biological assays, net protein ratio (NPR) and true digestibility (TD) were carried out as described previously (4), with the following changes: NPU determinations were carried out at the end of the PER trial (28 days) while the TD was obtained in the last week of the PER studies.

### RESULTS AND DISCUSSION

The essential amino acid composition of raw and cooked germinated mung bean, at different germination times, and also the pattern of cooked rice, are shown in Table 2.

There is no clear trend as to the levels of amino acids with germination time, although the tendency is for slightly lower values at four days of germination from the initial value, with the exception of aspartic acid. In general, the same seems to be true for the germinated cooked samples. The effects of hydrolysis of the samples for amino acid analysis probably play a more important role than germination in the values found, more evident in the case of methionine content, which is very low, as compared to other amino acids.

TABLE 1  
COMPOSITION OF EXPERIMENTAL DIETS (g/kg/diet)

Bean*	Rice	Bean*	Rice	Other ingredients**	Corn-starch	Casein
Ratio		g	g	g	g	
100	0	230	—	100	670	—
75	25	170	220	100	510	—
50	50	114	444	100	342	—
25	75	57	666	100	177	—
0	100	—	900	100	—	—
-----						
Casein control (7.1%o prot.)		—	—	100	821	79
Casein control (10.0%o prot.)		—	—	100	789	111

\* Ungerminated and germinated cooked mung beans.

\*\* 5%o cottonseed oil, 4%o mineral mixture (9), 1%o cod liver oil and 50 ml of vitamin mixture/kg diet (8).

TABLE 2  
AMINO ACID CONTENT OF GERMINATED MUNG BEAN, RAW AND COOKED,  
AND OF COOKED RICE (mg/16 g N)

	0 days		2 days		3 days	4 days		Rice cooked
	R	C	R	C	C	R	C	
Lysine	359	400	387	311	372	328	349	222
Histidine	183	142	178	165	—	139	154	141
Arginine	—	303	390	295	—	285	335	477
Asp. acid	834	757	965	—	920	922	897	548
Threonine	152	148	147	116	118	145	140	167
Serine	133	128	122	72	95	119	122	187
Glut. acid	1,008	940	687	467	591	819	798	913
Proline	272	245	269	200	184	219	218	313
Glycine	340	295	234	236	210	267	269	139
Alanine	231	215	213	200	181	224	227	319
Valine	394	366	379	410	351	385	383	184
Methionine	20	52	32	33	38	57	63	88
Isoleucine	435	420	398	421	402	436	434	465
Leucine	430	419	379	332	381	413	404	555
Tyrosine	—	114	125	114	125	137	124	177
Phenylalanine	349	310	312	290	362	344	316	332

Table 3 summarizes the lysine, methionine and threonine content of raw and cooked ungerminated and germinated samples. These three amino acids will determine the protein quality of blends between the two foods. As the data show, mung bean contains higher levels of lysine than rice; however, the levels are not as high as those found in other food legumes, and they are just slightly higher than those of the FAO pattern. On the other hand, as already established (10,11), rice is deficient in its content. Because of partial destruction of methionine during acid hydrolysis, and because of the fact that cystine content is not shown, not much can be said about total sulfur amino acid values. Nevertheless, it is well established that food legumes are deficient in sulfur amino acids (2). On the other hand, rice protein contains around 190 mg sulfur amino acids per gram of nitrogen, a value which is lower than that of the FAO pattern. Finally, threonine values are low in both mung bean and rice protein. It has been demonstrated that threonine supplementation of rice in the presence of lysine improves its protein quality.

The biological evaluation of ungerminated mung bean/rice mixtures, using rats, is presented in Table 4. In this case, significant differences were observed in the values of NPR (3.71 – 3.99), PER (1.65 – 1.92), NPU (43.0 – 46.0 and TD (82 – 83.0) of the mixtures when rice was added to provide 25, 50 and 75% of the protein in the diet, respectively. Values obtained for mung bean revealed that the protein was of a poorer quality, while rice protein was superior when compared with the other treatments.

The biological evaluation of germinated mung bean/rice mixtures using rats is detailed in Table 5. Findings showed the same tendency, higher value in rice, and an expected low value from germinated mung bean. In the mixtures, with the exception of TD (79.0 – 80.0), however, a significant increase in protein quality was observed in NPR (2.58 – 3.81), PER (1.07 – 2.05) and NPU (32.0 – 44.0) when rice was added to provide 25, 50 and 75% of the dietary protein of the test diets.

Results of NPR and PER studies are illustrated in Figure 1. The poor amino acid pattern in the mung bean protein (Table 3) was reflected in the low NPR and PER values as compared to rice protein. When measured

TABLE 3

LYSINE, METHIONINE AND THREONINE CONTENT IN GERMINATED  
MUNG BEANS AND RICE (g/16 g N)

Germination days	Lysine		Methionine		Threonine	
	Raw	Cooked	Raw	Cooked	Raw	Cooked
0	0.359	0.400	0.020	0.052	0.152	0.148
2	0.387	0.311	0.032	0.033	0.147	0.116
3	—	0.372	—	0.038	—	0.118
4	0.328	0.349	0.057	0.063	0.145	0.140
Rice	—	0.222	—	0.088	—	0.167
FAO/OMS	0.340		0.220		0.250	

TABLE 4

**BIOLOGICAL EVALUATION OF GERMINATED MUNG BEAN\*:  
RICE MIXTURES IN RATS\*\***

Diet	Treatment bean:rice	Net protein ratio	Protein efficiency ratio	Net protein utilization***	True digestibility
1	100: 0	1.72 <sup>e</sup>	0.61 <sup>e</sup>	26.0 <sup>d</sup>	85.0 <sup>b</sup>
2	75: 25	2.58	1.07 <sup>d</sup>	32.0 <sup>d</sup>	79.0 <sup>c</sup>
3	50: 50	3.20 <sup>c</sup>	1.58 <sup>c</sup>	38.0 <sup>cd</sup>	79.0 <sup>c</sup>
4	25: 75	3.81 <sup>b</sup>	2.05 <sup>b</sup>	44.0 <sup>bc</sup>	80.0 <sup>c</sup>
5	0:100	4.02 <sup>b</sup>	2.20 <sup>b</sup>	45.0 <sup>bc</sup>	80.0 <sup>c</sup>
6	Casein control	4.82 <sup>a</sup>	2.75 <sup>a</sup>	56.0 <sup>a</sup>	89.0 <sup>a</sup>

\* Cooked germinated mung bean (3 days).

\*\* Mean values for 8 rats (4 ♂ + 4 ♀) per diet.

All means without a common superscript differ significantly ( $P < 0.05$ ).

\*\*\* NPU — 28 days duration.

TABLE 5

**BIOLOGICAL EVALUATION OF UNGERMINATED MUNG BEAN\*:  
RICE MIXTURES IN RATS\*\***

Diet	Treatment bean:rice	Net protein ratio	Protein efficiency ratio	Net protein utilization***	True digestibility
1	100: 0	3.06 <sup>c</sup>	0.71 <sup>d</sup>	28.0 <sup>c</sup>	83.0 <sup>b</sup>
2	75: 25	3.71 <sup>bc</sup>	1.65 <sup>c</sup>	43.0 <sup>b</sup>	82.0 <sup>b</sup>
3	50: 50	3.69 <sup>bc</sup>	1.85 <sup>bc</sup>	45.0 <sup>b</sup>	82.0 <sup>b</sup>
4	25: 75	3.99 <sup>b</sup>	1.92 <sup>bc</sup>	46.0 <sup>b</sup>	83.0 <sup>b</sup>
5	0:100	4.02 <sup>b</sup>	2.20 <sup>b</sup>	45.0 <sup>b</sup>	80.0 <sup>b</sup>
6	Casein control	4.82 <sup>a</sup>	2.75 <sup>a</sup>	56.0 <sup>a</sup>	89.0 <sup>a</sup>

\* Cooked ungerminated mung bean.

\*\* Mean values for 8 rats (4 ♂ + 4 ♀) per diet.

All means without a common superscript differ significantly ( $P < 0.05$ ).

\*\*\* NPU — 28 days duration.

on an isoproteic basis, the protein of rice was superior to that of bean protein. Similar findings were reported by Bressani (1) and by Bressani, Elías and Gómez Brenes (3). In both studies, the maximum combination achieved, in terms of protein quality, occurred when rice provided 75% of the protein, and bean 25%. However, a significant increase in protein quality was observed in favor of the ungerminated mung bean/rice mixture when rice replaced 25% of the bean protein.

Figure 2 presents the results of the NPU and TD studies. In the case of NPU, the maximum combination was observed at a similar protein re-

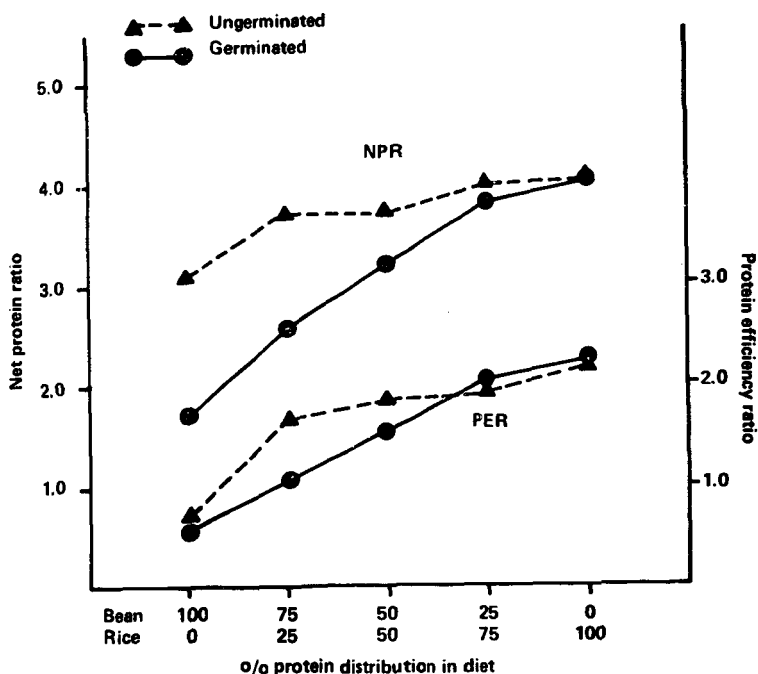


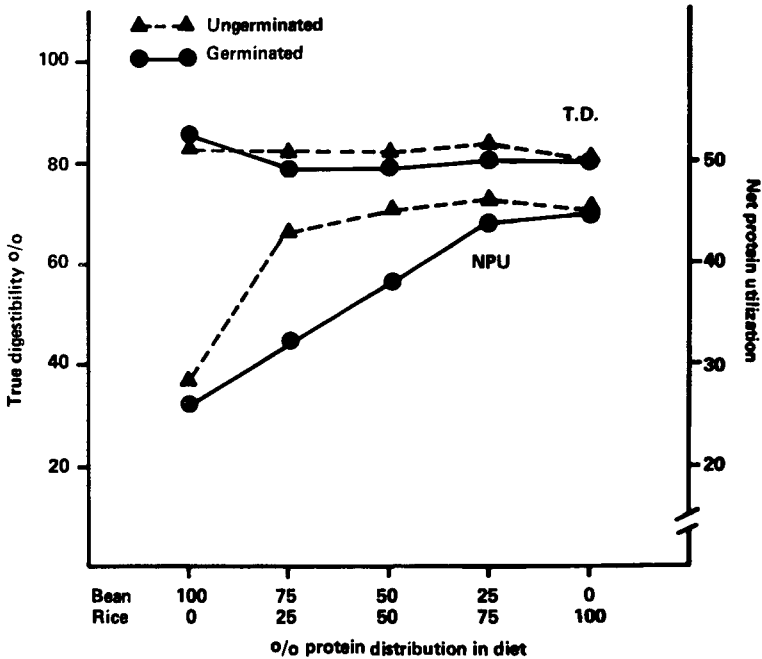
FIGURE 1

Incap 84-2

Net protein ratio and protein efficiency ratio of mung bean  
(*Phaseolus aureus*):rice mixtures

placement level by rice (75%) as found in the NPR and PER studies. A significant increase in NPU value, from 28.0 to 43.0 also occurred when rice replaced 25% of the bean protein. These results, however, may differ from similar studies, since the NPU was calculated over a period of 28 days. The TD studies indicated a very small difference in values in both of the mixtures. Nevertheless, the effect of sprouting, coupled with heat treatment, may influence the higher value recorded in the cooked germinated bean diet (4, 12, 13); this result was in agreement with the findings of Venkataraman, Jaya and Krishnamurthy (14). Bressani (15) found that the true protein digestibility tends to increase with a decrease in protein intake, especially with proteins of vegetable origin. Bressani and Elfas (2, 16) further suggested that an additional increase in protein digestibility probably results from the destruction of the tertiary structure of certain proteins which offer resistance to enzymatic hydrolysis.

The necessity of a heat treatment of legume seeds and their products in order to destroy toxic and antigrwth factors, has been stressed by Liener (17). Our earlier work (4) indicated that mung bean has a low inhibitor activity, and no mortality was recorded in rats fed on a raw mung bean diet. Evans and Bauer (18) reported that growing rats fed on raw autoclaved bean did not absorb 50% of the methionine and 41% of the bean cystine. This may suggest that such effect may be more severe in



Incap 84-1

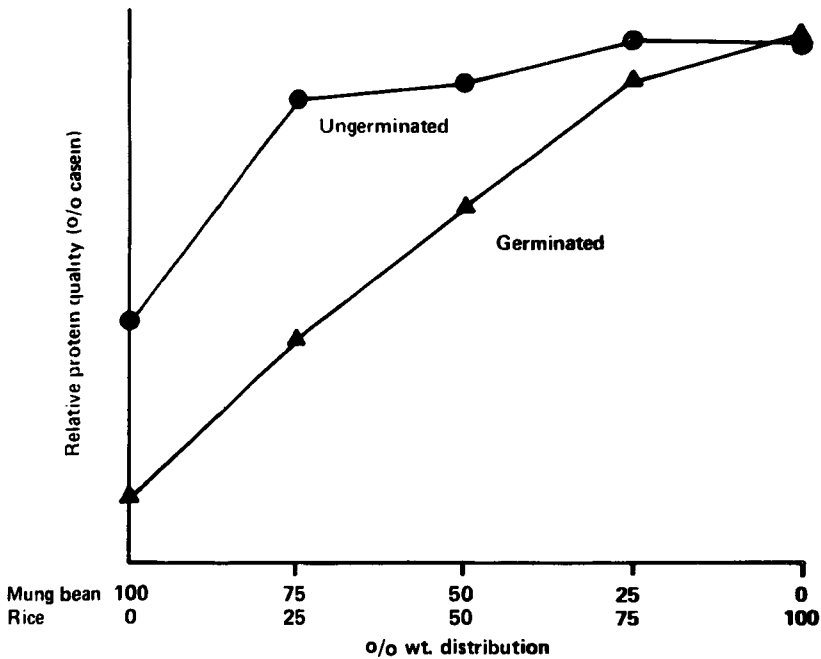
FIGURE 2

Net protein utilization and true digestibility of mung bean:rice mixtures

the case of germinated mung bean (4) as found in both our studies.

This study may be considered partially complementary in nature. Bean protein is a rich source of lysine, while its methionine content is highly deficient. On the other hand, rice protein has lower concentrations of lysine but is adequate in its sulfur amino acids content (1, 3, 10). Once the best combination is reached, the protein value of the mixture remains relatively constant when compared with rice. Although protein complementation increases the efficiency of utilization by improving the overall amino acid composition, in some cases it is still far from being ideal in meeting the amino acid requirement of the rats.

The average protein quality values relative to casein of all the assay results have been plotted in Figure 3; this figure shows that the protein quality lines responding to the different combination of mung beans and rice, are not alike between mixtures using ungerminated and germinated mung beans. The difference is more obvious in the area of 100 to 50% distribution of mung beans and 0 to 50% rice. For ungerminated mung beans, a plateau value is reached with a mixture 75/25 bean/rice, while there is a continuous increase for the germinated bean/rice mixtures. Obviously, the difference is due to the different amino acid content of ungerminated and germinated beans, in particular, lysine, sulfur amino acids,



Incap 84-3

FIGURE 3

Relative protein quality to casein of mixtures of germinated and ungerminated mung beans and of rice

and threonine. As indicated previously (4), germination reduces the values of these and other essential amino acids as well. This aspect is evident when observing the protein quality at 100% mung beans, which is lower in germinated as compared to ungerminated beans. The effects of processing should not be ignored, since it has been proved that it reduces protein quality when not well controlled (12, 14).

Since the dietary protein of rice was superior at the levels provided, as found in both studies, the results obtained indicated that the mixture of ungerminated mung bean/rice was superior to that of germinated mung bean/rice. Perhaps the most significant aspect of this work was the ability of mung bean to complement rice adequately at a relatively low intake of 5.7% bean to 66.6 g rice, an approximate ratio of 1:12 by weight. Therefore, these findings may serve as a useful indicator in areas where mung bean sprouts and rice are widely consumed.

## RESUMEN

**EFFECTOS DE LA COMPLEMENTACION ENTRE LA PROTEINA  
DEL FRIJOL MUNGO (*Phaseolus aureus*) GERMINADO  
Y NO GERMINADO Y LA DE ARROZ**

Se realizaron estudios de evaluación biológica en ratas para determinar el efecto complementario de la proteína del frijol mungo cocido y arroz, y del frijol mungo germinado y cocido con arroz. En bases isoproteínicas, se encontró que la proteína del frijol mungo es de calidad inferior a la de la proteína del arroz. Sin embargo, en la complementación con arroz, la calidad proteínica de frijol mungo no germinado o germinado en mezclas con arroz, aumentó continuamente cuando el arroz se incorporó en las proporciones de 25, 50 y 75% de la proteína de la dieta. Un estudio comparativo entre mezclas de frijol mungo y arroz, con el frijol mungo no germinado o germinado, reveló que las mezclas con frijol mungo no germinado eran de calidad proteínica superior. No obstante, la sustitución del 75% de la proteína dietética del frijol mungo por proteína de arroz demostró no ser diferente entre el frijol mungo no germinado y el germinado.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The senior author is indebted to the National University of Malaysia for the study leave granted, and to the United Nations University for its financial support in connection with this study.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bressani, R. Protein supplementation and complementation. In: **Evaluation of Proteins for Humans**. C. E. Bodwell (Ed.). Westport, Connecticut, The AVI Publishing Company, Inc., 1976, p. 204-232.
2. Bressani, R. & L. G. Elías. Legume foods. In: **New Protein Foods**. A. M. Altschul (Ed.). New York, N. Y., Academic Press, 1974, p. 230-297.
3. Bressani, R., L. G. Elías & R. Gómez Brenes. Improvement of protein quality by amino acid and protein supplementation. In: **Protein and Amino Acid Functions**. E. J. Bigwood (Ed.). New York, N. Y., Pergamon Press, 1972, p. 475-540.
4. Noor, Mohd I., R. Bressani & L. G. Elías. Changes in chemical and selected biochemical components, protein quality and digestibility of mung bean (*Vigna radiata*) during germination and cooking. **Qual. Plant. Plant. Foods Human Nutr.**, **30**: 135-144, 1980.
5. Bressani, R. & A. T. Valiente. All-vegetable protein mixtures for human feeding. VII. Protein complementation between polished rice and cooked black beans. **J. Food Sci.**, **27**: 401-406, 1962.
6. Chavan, J. K. & S. K. Duggal. Synergistic effect of different pulses on the protein quality of rice. **J. Sci., Food Agr.**, **29**: 230-233, 1978.
7. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970.
8. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B<sub>13</sub> to orotic acid. **J. Biol. Chem.**, **202**: 91-96, 1953.
9. Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. **J. Biol. Chem.**, **138**: 459-466, 1941.

10. Bressani, R., L. G. Elías & B. O. Juliano. Evaluation of the protein quality and milled rices differing in protein content. *J. Agr. Food Chem.*, **19**: 1028-1034, 1971.
11. Rosenberg, H. R., R. Culik & R. E. Eckert. Lysine and threonine supplementation of rice. *J. Nutrition*, **69**: 217-228, 1959.
12. Khan, M. A. & A. Ghafoor. The effect of soaking, germination and cooking on the protein quality of mash beans (*Phaseolus mungo*). *J. Sci. Food Agr.*, **29**: 461-464, 1978.
13. Siegal, A. & B. Fawcett. **Food Legumes Processing and Utilization with Special Emphasis on Application in Developing Countries**. Ottawa, Canada, International Development Research Centre, 1976. (IDRC-TSI).
14. Venkataraman, L. V., T. V. Jaya & K. S. Krishnamurthy. Effect of germination on the biological value, digestibility coefficient and net protein utilization of some legume proteins. *Nutr. Repts. Internat.*, **13**: 197-205, 1976.
15. Bressani, R. The quality of various animal and vegetable proteins with a note on the endogenous and fecal nitrogen excretion of children. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **22**: 227-241, 1972.
16. Bressani, R. & L. G. Elías. The problem of legume protein digestibility. In: **Nutritional Standards and Methods of Evaluation for Food Legume Breeders**. Ottawa, Canada, International Development Research Centre, 1977, p. 61-72 (IDRC-7S7e).
17. Liener, I. E. (Ed.). **Toxic Constituents of Plants Foodstuffs**. New York, N. Y., Academic Press, 1980.
18. Evans, R. J. & D. H. Bauer. Studies of the poor utilization by the rat of methionine and cystine in heated dry bean seed (*Phaseolus vulgaris*). *J. Agr. Food Chem.*, **26**: 779-784, 1978.

**ENSAYO ACELERADO DE ALMACENAMIENTO  
PARA EL ESTUDIO DE LA PERDIDA DE VALOR NUTRITIVO  
DE LAS PROTEINAS DE HARINA DE POROTOS  
(*Phaseolus vulgaris*)**

*M. P. Buera*<sup>1</sup>, *A. M. R. Pilosof*<sup>2</sup> y *G. B. Bartholomai*<sup>2</sup>

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de  
Buenos Aires, y Consejo Nacional de Investigaciones  
Científicas y Técnicas de la República Argentina**

**RESUMEN**

Se estudió la pérdida de valor nutritivo de las proteínas de harina de porotos a través de un ensayo cinético de la pérdida de lisina disponible de dicha harina, a altas temperaturas (70-110°C) y con distintos contenidos de humedad. La pérdida de lisina siguió una cinética de orden uno; las energías de activación calculadas según los distintos niveles de humedad estuvieron comprendidas entre 8 y 13 Kcal/mol. Por su parte, el contenido de humedad tuvo un efecto muy importante en la velocidad de pérdida de lisina.

Los parámetros cinéticos obtenidos a altas temperaturas fueron utilizados para predecir la retención de lisina disponible a 34°C. Estos valores coincidieron con los que se obtuvieron luego de almacenar la harina de porotos con distintos contenidos de humedad a 34°C.

**INTRODUCCION**

En vista de la necesidad que existe en todo el mundo de aumentar las proteínas de la dieta, particularmente en los países en desarrollo, desde el punto de vista científico se han propuesto distintas soluciones. Estas tienden hacia la utilización de nuevas fuentes proteínicas en reemplazo de las proteínas de origen animal, que son caras en términos de requerimiento de tierra, y precios en el mercado.

Las leguminosas son constituyentes de importancia en la dieta de muchos países del mundo, especialmente de los países en desarrollo, como los

---

Manuscrito modificado recibido: 13-12-83.

- 1 Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires, República Argentina.
- 2 Miembros del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina.

de América Latina. Aun cuando la producción de leguminosas es mucho menor que la de cereales, cumplen una función nutritiva importante a causa de su aporte proteínico. En efecto, son ricas en lisina, deficientes en aminoácidos azufrados y, desde el punto de vista nutricional, se complementan bien con las proteínas de cereales (1, 2). La mayoría de las leguminosas se consumen secas y en estas condiciones la humedad es suficientemente baja como para evitar su deterioro por acción de microorganismos e insectos si se almacenan adecuadamente. Los cambios de tipo bioquímico, químico y físico —si bien no son totalmente anulados a estos niveles de humedad— son lo suficientemente lentos como para permitir una conservación prolongada. Las altas temperaturas y humedades de almacenamiento son desfavorables, ya que conducen a la infestación, al crecimiento microbiano, al aumento de la actividad enzimática y al deterioro químico que producen pérdidas cuantitativas y cualitativas de proteínas. Inducen, asimismo, la destrucción de vitaminas, situación que se magnifica en productos tales como harinas y concentrados proteínicos.

El mayor inconveniente para predecir la pérdida de calidad durante el almacenamiento es el largo tiempo requerido para evaluar el cambio producido. Con miras a superar este inconveniente, se han desarrollado ensayos acelerados de almacenamiento (3) que se basan en el seguimiento de los cambios de calidad que sufre el alimento sometido a un deterioro rápido a altos niveles de humedad y temperatura.

Como se sabe, la lisina es uno de los aminoácidos esenciales más lábiles frente al tratamiento térmico, por lo que se le utiliza como índice de retención de calidad de la proteína.

El presente trabajo tuvo por objetivo estudiar la pérdida de valor nutritivo de harinas de porotos (*Phaseolus vulgaris*, variedad Alubia) durante su almacenamiento, a través de un ensayo cinético de retención de lisina disponible en condiciones aceleradas de almacenamiento.

## MATERIALES Y METODOS

### *Materiales*

Se utilizaron los porotos enteros (*Phaseolus vulgaris*, variedad Alubia), los que fueron molidos y tamizados a través de una malla No. 80.

La composición aproximada de la harina fue: humedad 12.30/o, proteína, 20.70/o, y almidón, 440/o.

### *Métodos*

Para estos propósitos se realizaron las siguientes pruebas:

El *contenido de humedad* se determinó gravimétricamente en estufa, a 110°C., y el *contenido de nitrógeno*, por el método de Kjeldahl.

La *lisina disponible* se determinó por el método D.B.D. de Hurrell y Carpenter (1975) dada su simplicidad y buena correlación con los métodos que utilizan el fluordinitrobenzeno.

*Tratamientos térmicos.* Se prepararon muestras de harina de distintas humedades (20/o a 520/o) que se envasaron en ampollas de vidrio, colocándose en una estufa a temperatura controlada ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ); ahí fueron calen-

tadas por distintos períodos de tiempo al cabo de los cuales se sometieron a enfriamiento rápido para luego analizar su contenido de lisina disponible. Las temperaturas estudiadas fueron 70, 90 y 110°C, respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### *Ensayo Acelerado de Almacenamiento*

Según se indicó, los ensayos acelerados de almacenamiento se llevaron a cabo a temperaturas comprendidas entre 70 y 110°C y revelaron que la pérdida de lisina disponible en harina de porotos se puede describir adecuadamente por una cinética de orden uno durante un primer período al cabo del cual se llegó aparentemente a un nivel estacionario, tal como se observa en la Figura 1, a modo de ejemplo.

Un comportamiento análogo se observó aplicando los otros niveles de humedad (20/o, 30/o, 42/o y 52/o). Las pendientes de las rectas obtenidas al graficar en escala semilogarítmica, la retención porcentual de lisina disponible en función del tiempo representó la constante específica de velocidad de orden uno.

Aplicando la ecuación de Arrhenius con las constantes de velocidad específicas obtenidas a distintas temperaturas se pudo calcular la energía de activación correspondiente a la pérdida de lisina para los distintos niveles de humedad. Los valores obtenidos oscilaron entre 8 y 13 Kcal/mol, dependiendo del nivel de humedad.

La Figura 2 muestra claramente la enorme influencia que la humedad ejerce sobre la velocidad de pérdida de lisina. A título de ejemplo, es de notar que cuando el contenido de humedad aumentó de 14/o a 30/o la velocidad de pérdida de lisina aumentó aproximadamente el triple.

### *Predicción de la Retención de Lisina Disponible durante el Almacenamiento*

Como se ha visto, la pérdida de lisina disponible siguió una cinética de orden uno por lo que

$$\frac{dc}{dt} = -K c \quad (1)$$

donde  $c$  = concentración de lisina,  $t$  = tiempo y  $K$  = constante de velocidad.

Introduciendo el término RTN (porcentaje de retención) definido como:

$$RTN = \frac{c}{c_0} \cdot 100 \quad (2)$$

La integración de la ecuación (1) da:

$$RTN = \exp(4,6051 - K t) \quad (3)$$

que describe la retención de lisina en función del tiempo a temperatura y humedad constantes.

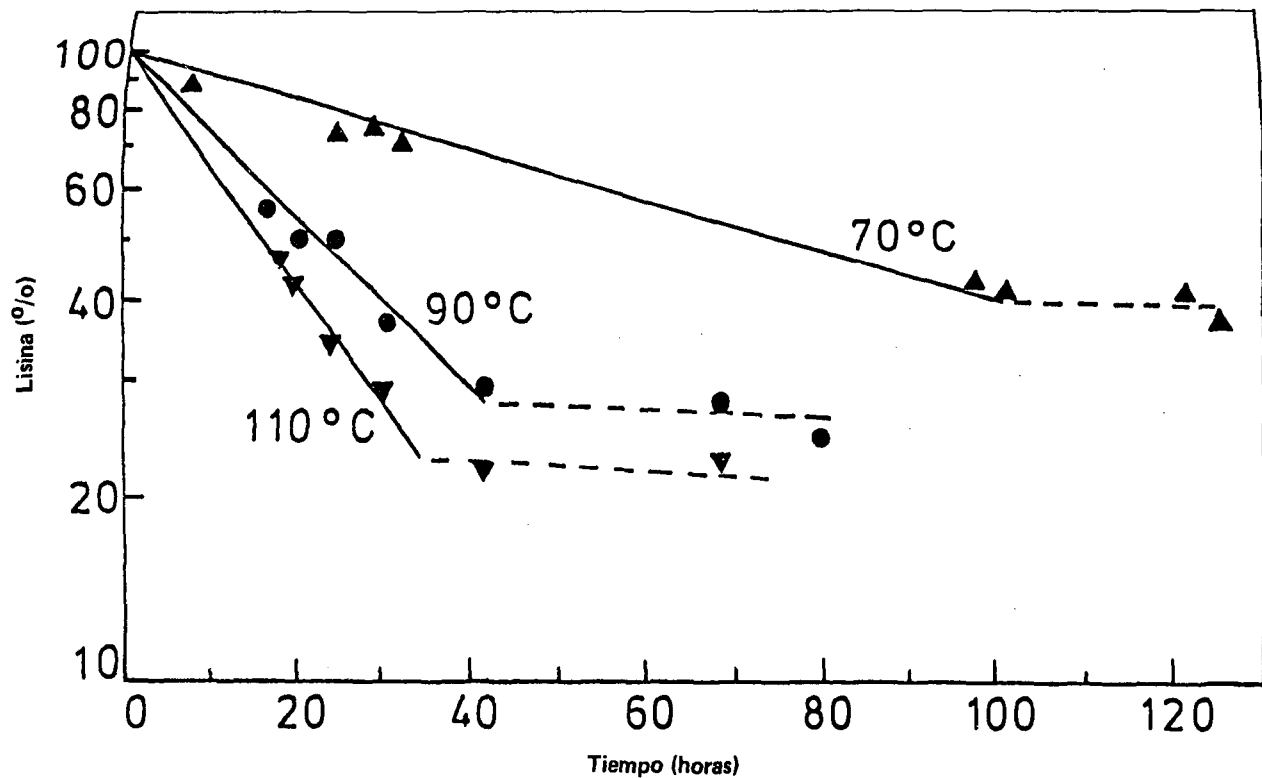


FIGURA 1

Pérdida de lisina disponible en harina de porotos de 14% de humedad, calentada a distintas temperaturas

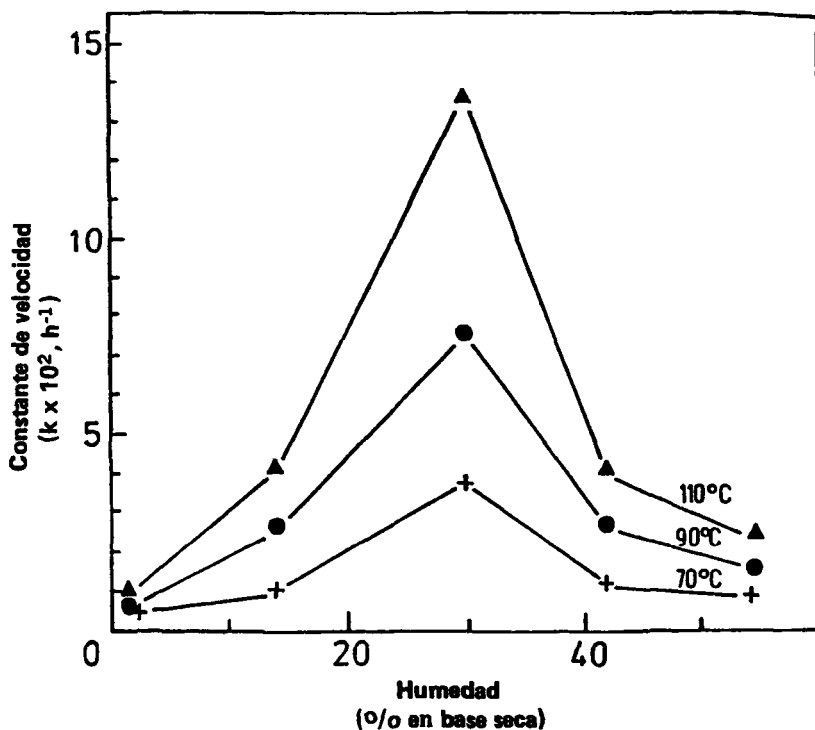


FIGURA 2

Influencia de la humedad en la velocidad de pérdida de lisina disponible en harina de porotos calentada a distintas temperaturas

El efecto de la temperatura en la constante de velocidad  $K$  se puede describir a través de la ecuación de Arrhenius:

$$K = K_0 \exp(-E_a/RT) \quad (4)$$

donde:  $K$  = Constante de velocidad  
 $K_0$  = Factor de frecuencia  
 $E_a$  = Energía de activación  
 $R$  = Constante universal de los gases, y  
 $T$  = Temperatura

Introduciendo  $K$  en la ecuación (3), se obtiene

$$RTN = \exp 4,6051 - K_0 \exp(-E_a/RT) t \quad (5)$$

La ecuación (5) da la retención de lisina disponible en función del tiempo y de la temperatura, para un nivel de humedad constante. La retención de lisina para distintos tiempos de almacenamiento a 34°C y a distintas humedades se calculó mediante la ecuación (5) introduciendo los valores de  $K_0$  y  $E_a$  correspondientes al nivel de humedad estudiado, los que se obtuvieron del estudio cinético a altas temperaturas, según se describió anteriormente.

Dichos valores se denominaron "Retención de lisina calculada" y se presentan en la Tabla 1 junto con los valores de "Retención de lisina experimental" que fueron obtenidos almacenando muestras de harina de distintos niveles de humedad a 34°C por distintos períodos de tiempo, al cabo de los cuales se analizó el contenido de lisina disponible. Se muestran asimismo, los valores de humedades relativas de equilibrio que corresponden a las distintas humedades de la harina (4).

Los resultados indican que la extrapolación hecha para predecir la retención de lisina disponible a temperaturas de almacenamiento es válida,

TABLA 1

RETENCION DE LISINA DISPONIBLE EN HARINA DE POROTOS  
DE DISTINTOS CONTENIDOS DE HUMEDAD A 34°C

% Humedad (base seca)	Humedad relativa de equilibrio %	Tiempo (días)	Retención de	
			Lisina "calculada" %	Lisina "experimental" %
2	5	5	98	96
		10	92	89
		20	82	80
		30	70	75
		65	48	45
14	72.5	5	94	97
		10	85	87
		20	70	72
		30	52	55
		65	31	36
30	89.5	5	69	74
		10	40	43
42	92	5	72	76
		10	45	47
		20	26	24
55	95	5	79	76
		10	60	—

RTN = Porcentaje de retención.

ya que los valores experimentales coinciden aceptablemente con los calculados.

La pérdida de lisina disponible en la harina de porotos ocurrió rápidamente aun a temperaturas de almacenamiento (34°C) y a contenidos de humedad por debajo del que tiene normalmente (14%). Al ser almacenadas a 34°C y con un contenido de humedad de 14% por 30 días, se retuvo el 50% de la lisina disponible; al reducir su humedad a 2%, la retención fue de aproximadamente 70%.

Se puede observar, además, cuán importante es el control de la humedad relativa del ambiente donde dicha harina se almacena. Así, una variación de la humedad relativa de 72.5% a 89.5% conduce a un aumento de la humedad de la harina de 14% a 30% lo cual produce un incremento muy grande en la pérdida de lisina. En una harina con una humedad de 30%, por ejemplo, se pierde casi 50% más de lisina en el término de 10 días que en una harina cuya humedad es de 14%.

Los resultados de este trabajo señalan la validez de la metodología utilizada para determinar la retención de lisina disponible en harina de porotos. Desde un punto de vista general, esta metodología sería recomendable para estudiar otros factores de calidad con el objeto de predecir cuantitativamente la retención de los mismos en los alimentos, ya sea durante las fases de almacenamiento o de procesamiento.

#### SUMMARY

##### ACCELERATED TESTS FOR STUDYING THE LOSS OF THE NUTRITIVE VALUE OF BEAN FLOUR (*Phaseolus vulgaris*) PROTEIN

The loss of the nutritive value of bean flour protein was studied through a kinetic assay on the loss of available lysine of the flour at high temperatures (70-110°C) and at different moisture contents. Lysine loss followed a first-order reaction kinetics; the activation energies for the different moisture levels were calculated and ranged between 8-13 kcal/mole. The moisture content had a very important effect on the rate of loss of available lysine. Kinetic parameters at high temperatures were used to predict the retention of available lysine at 34°C; these values were in accordance with those obtained by storing bean flour with different moisture contents, at 34°C.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la ayuda económica brindada por la Subsecretaría de Estado de Ciencia y Tecnología de la República Argentina (Programa Nacional de Tecnología de Alimentos), y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Bressani, R., L. G. Elías & D. A. Navarrete. Nutritive value of Central American beans. IV. The essential amino acid content of samples of black beans, red beans, rice beans and cowpeas of Guatemala. *J. Food Sci.*, **26**: 525-528, 1961.

2. Bressani, R., A. T. Valiente & C. E. Tejada. All-vegetable protein mixtures for human feeding. VI. The value of combinations of lime-treated corn and cooked black beans. *J. Food Sci.*, **27**: 394-400, 1962.
3. Mizrahi, S., T. P. Lbuza, & M. Karel. Feasibility of accelerated tests for browning in dehydrated cabbage. *J. Food Sci.*, **35**: 804-1970.
4. Pilosof, A. M. R., G. B. Bartholomai & J. Chirife. Effect of heat treatment on sorption isotherms and solubility of flour and protein isolates from bean, *Phaseolus vulgaris*. *J. Food Sci.*, **47**: 1288, 1982.

# FLORA BACTERIANA DE PATÉ DE HIGADO EN TRES ETAPAS DE SU ELABORACION

*Erika Gesche<sup>1</sup> y Tamara Ordóñez<sup>1</sup>*

Universidad Astral de Chile,  
Valdivia, República de Chile

## RESUMEN

El paté de hígado corresponde a un embutido cocido que por su naturaleza y composición, constituye un ambiente apropiado para el desarrollo bacteriano.

A fin de determinar la variación que experimenta la flora bacteriana, tanto en términos de cantidad como de calidad a través del proceso de producción de esta cecina, se realizaron exámenes bacteriológicos en tres etapas de su elaboración. Estas correspondieron al producto recién embutido, luego de la cocción, y al sexto día de almacenamiento a 0°C, previo a su venta al público.

De los resultados de recuento bacteriano obtenidos, se deduce que el proceso de cocción provoca un notorio descenso del número de bacterias. Ello atañe especialmente a las Gram negativas, situación que se mantiene durante el período de almacenamiento considerado.

La relación existente entre el contenido bacteriano inicial y final del paté de hígado, demuestra la influencia que la contaminación de las materias primas empleadas tiene en la calidad microbiana del producto ofrecido al mercado

## INTRODUCCION

El paté de hígado corresponde a una cecina cocida, preparada en base a carne, tocino, lengua e hígado, a la cual se agregan condimentos y aditivos alimentarios (1, 2). Se utilizan materias primas precocidas que después se someten a molienda y se embuten en tripas naturales o artificiales (3). Posteriormente, el producto es sometido a cocción en agua a temperaturas de 80 a 85°C, durante 45 minutos. La aplicación excesiva de calor hace que estas cecinas disminuyan en cuanto a calidad por desnaturalización de proteínas, fusión de las grasas, y ruptura de las tripas (2, 4). Después de la cocción, los embutidos se someten a un ahumado frío a temperaturas de 15 a 25°C a fin de conferirle aroma, color y sabor a humo, además de contribuir a la detención del crecimiento bacteriano y de retardar la oxidación de las grasas (5).

---

Manuscrito modificado recibido: 30-11-83.

1 Miembros del Instituto de Medicina Preventiva Veterinaria, Universidad Astral de Chile, Casilla 567, Valdivia, República de Chile.

El contenido bacteriano inicial del paté de hígado depende de la cantidad de microorganismos presentes en las carnes empleadas como materia prima y en las especias utilizadas (6). Pese a que los condimentos se agregan en baja proporción a la masa, éstos pueden aportar una cantidad de gérmenes que varía entre log 3.0/g y log 8.0 bacterias/g, lo que hace aumentar considerablemente el recuento total del producto (7, 8). Las bacterias provocan alteraciones organolépticas en productos cárnicos, haciéndolos inaptos para consumo humano, cuando los recuentos totales alcanzan valores comprendidos entre log 7.0 y 8.0 microorganismos/g (9). Influye notoriamente en la velocidad y forma de alteración provocada, el tipo de bacterias presente en el alimento. Al respecto Chyr, Walker y Sebranek (10) señalan que entre la flora bacteriana predominante en embutidos cocidos, destacan las bacterias Gram positivas de los géneros *Bacillus* y *Micrococcus* seguidos de corineformes, enterococos, *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Leuconostoc*.

El paté de hígado es un producto alimenticio rico en nutrientes y otros elementos favorables que permiten la proliferación bacteriana. Además, está constituido por materias primas que corrientemente aportan bacterias. Por estos motivos, se acordó realizar este estudio que abarca diferentes etapas de la producción del paté, investigando el efecto que sobre ellas ejercen la cocción y el almacenamiento.

#### MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 20 muestras de paté de hígado elaboradas en una industria de cecinas de la ciudad de Valdivia, Chile, en cada una de las siguientes etapas:

- A: Masa recién embutida (1er día);
- B: Embutidos cocidos sometidos a 24 horas de oreo (2o día); y
- C: Embutidos ahumados y almacenados a 0°C (6o día).

De cada muestra se extrajeron 10 g de paté que se sometieron a diluciones de 1:9 a fin de hacer siembras, por duplicado, en placas con Agar Plate Count, que se incubaron a 32°C durante 48 horas. Al cabo de este tiempo se determinó el número de bacterias aerobias, mesófilas viables por gramo de paté. Luego se aislaron al azar 10 colonias que se re-picaron hasta obtener cepas puras, para clasificarlas de acuerdo a: forma, tinción de Gram, reacción de oxidasa, de catalasa, oxidación y fermentación de glucosa y presencia de esporas (11, 12).

Para la evaluación de los datos obtenidos, se transformaron los valores de recuento en el respectivo logaritmo de base 10, a fin de calcular promedios, desviaciones estándar y efectuar análisis de varianzas comparativos entre las diversas etapas de elaboración.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

El promedio de recuento total de la primera etapa de elaboración (A), o sea en la masa recién embutida, fue de  $6.54 \pm 0.84$  ( $\log_{10}$ ) bacterias/g. En la segunda etapa, es decir, en el embutido sometido a cocción y después de 24 horas de oreo (B) el recuento bacteriano promedio disminuyó

a  $5.22 \pm 0.48$  ( $\log_{10}$ ) bacterias/g, manteniéndose sin variación hasta el 60 día de almacenamiento (etapa C) en que el recuento bacteriano promedio fue de  $5.20 \pm 0.77$  ( $\log_{10}$ ) bacterias/g. Estos datos se ilustran en la Figura 1.

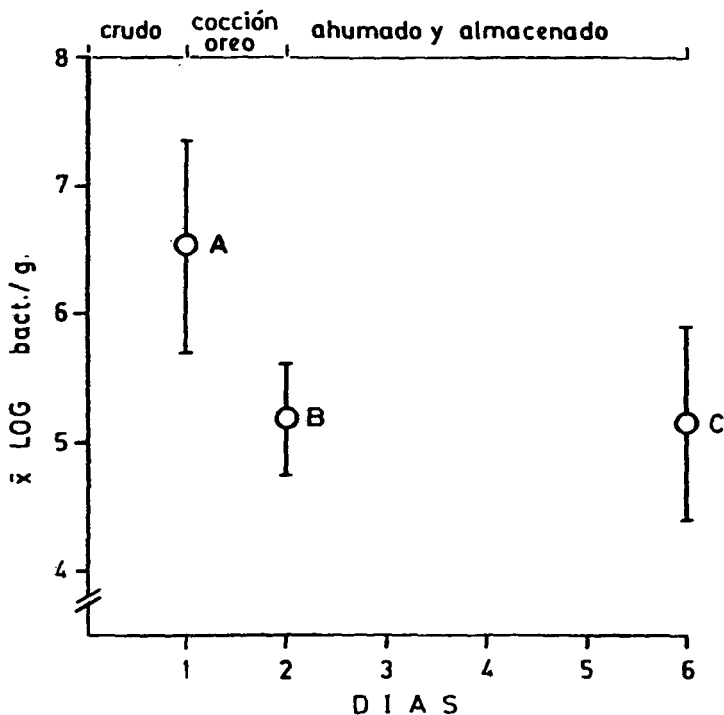


FIGURA 1

Recuentos promedio ( $\pm$  DE) de bacterias en las tres etapas de elaboración (A, B y C) del paté de hígado

Del análisis de varianza entre promedios se desprende que existe una diferencia significativa entre los recuentos encontrados en las etapas A-B y A-C ( $P < 0.05$ ), mientras que entre el recuento bacteriano determinado después de la cocción (etapa B) y el determinado al 60 día post elaboración (etapa C), no se constató ninguna diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

En la Tabla 1 se presenta el número de muestras de cada etapa analizada, las que, según se observa, ocupan diferentes rangos de recuento bacteriano.

El examen de los datos en la citada Tabla revela que un gran número de muestras de la etapa A ocupa los rangos de recuento bacterianos más altos, mientras que la mayor cantidad de muestras de las etapas B y C se acumula en los rangos inferiores de recuento bacteriano. En total, del paté recién embutido, se detectaron 13 muestras (65/100) con recuentos superiores a log 6 bacterias/g, mientras que de los embutidos cocidos y de

TABLA 1

NUMERO Y PORCENTAJE DE MUESTRAS DE PATE, CLASIFICADAS POR RANGO DE LOG EN TRES ETAPAS (A, B y C) DE SU ELABORACION

Rangos en log	Etapas					
	A		B		C	
	No.	/100	No.	/100	No.	/100
4.0 - 5.0	1	5	9	45	12	60
5.1 - 6.0	6	30	10	50	4	20
6.1 - 7.0	7	35	1	5	4	20
7.1 - 8.1 ó más	6	30	—	—	—	—

los almacenados, fueron 1 (5/100) y 4 (20/100) muestras, respectivamente, las que acusaron recuentos superiores a log 6. Es por ello que, evidentemente, cada país debe establecer las normas microbiológicas que exigirá a sus alimentos. El reglamento sanitario de alimentos de actual vigencia en Chile, señala como recuento máximo permisible en este tipo de cecinas, log 5.0 bacterias/g.

La fluctuación que presentaron los recuentos bacterianos en la etapa B en relación a la etapa A, se aprecia en la Figura 2, donde los valores se ordenaron de menor a mayor.

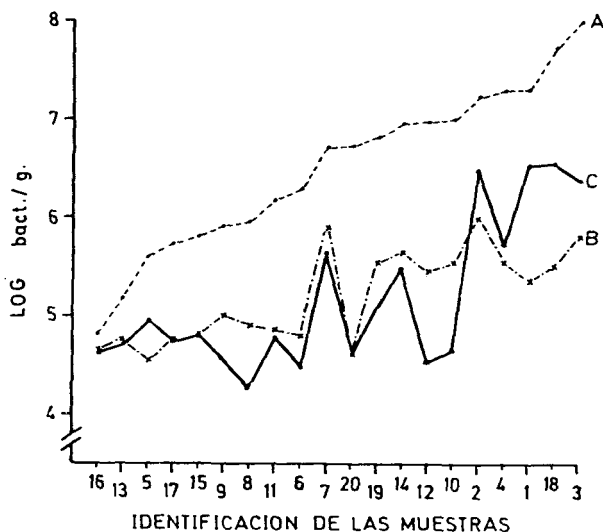


FIGURA 2

Distribución de los recuentos totales de las muestras en las tres etapas de elaboración (A, B y C) del paté de hígado

TABLA 2

DISTRIBUCION NUMERICA Y PORCENTUAL DE LOS MICROORGANISMOS PREDOMINANTES, EN LAS TRES ETAPAS DE ELABORACION DEL PATE DE HIGADO

Grupos bacterianos	Etapas					
	A		B		C	
	No.	/100	No.	/100	No.	/100
<i>Bacillus</i>	39	19.5	144	72.0	146	73.0
Corineformes	30	15.0	44	22.0	34	17.0
<i>Micrococcus</i>	61	30.5	7	3.5	12	6.0
<i>Staphylococcus</i>	11	5.5	1	0.5	3	1.5
<i>Pediococcus</i>	4	2.0	—	—	—	—
<i>Streptococcus</i>	1	0.5	—	—	—	—
<i>Lactobacillus</i>	1	0.5	—	—	—	—
<b>Total gram +</b>	<b>147</b>	<b>73.5</b>	<b>196</b>	<b>98.0</b>	<b>195</b>	<b>97.5</b>
<i>Enterobacteriaceae</i>	36	18.0	3	1.5	—	—
<i>Pseudomonas</i>	10	5.0	—	—	3	1.5
<i>Xanthomonas</i>	3	1.5	1	0.5	1	0.5
<i>Alcaligenes</i>	3	1.5	—	—	1	0.5
<i>Acinetobacter</i>	1	0.5	—	—	—	—
<b>Total gram —</b>	<b>53</b>	<b>26.5</b>	<b>4</b>	<b>2.0</b>	<b>5</b>	<b>2.5</b>
<b>Gran total</b>	<b>200</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>100</b>

Por otro lado, la misma Figura 2 indica que existe una tendencia a acusar mayor recuento bacteriano en el producto cocido-oreado (B) y en el almacenado (C), en la medida que el recuento en el producto recién embutido aumenta (A).

Con respecto a la composición de la microflora del paté, en la Tabla 2 se presenta el resultado de la clasificación de las bacterias predominantes en cada una de las tres etapas de producción estudiadas.

Los datos de la citada Tabla señalan que en las tres etapas de elaboración hubo predominio de bacterias Gram positivas, las cuales aumentaron proporcionalmente después de la cocción y se mantuvieron iguales durante los días de almacenamiento. Dentro de la amplia gama de flora Gram positiva aislada, en la masa recién embutida (A) destaca la gran cantidad de *Micrococcus* (30/100) seguida de *Bacillus* (19/100) y de corineformes (15/100). En la etapa B se pudo determinar que por efecto de la cocción se produce cierta variación en el tipo de bacterias predominantes, pasando a ocupar *Bacillus* el 72/100 del total aislado, seguido de corineformes (22/100) y reduciéndose a un mínimo la participación de *Micrococcus* (3.5/100). Después de la fase de ahumado y almacenamiento del paté, este cuadro permanece prácticamente invariable en lo que a bacterias Gram positivas se refiere.

En cuanto a la flora Gram negativa, se visualiza una interesante variedad de géneros dentro de los cuales destaca la alta proporción de *Enterobacteriaceae* (18/100) en la masa recién embutida. Por efecto de la cocción (etapa B), estas bacterias disminuyen a una expresión mínima y resultan indetectables otras como *Pseudomonas*, *Alcaligenes* y *Acinetobacter*. A raíz del almacenamiento a 0°C (etapa C), vuelven a aparecer *Pseudomonas* y *Alcaligenes*, debido a que tienen mayores facilidades que otras bacterias para proliferar a bajas temperaturas.

El presente estudio sugiere, pues, que la cocción aplicada al paté de hígado después de embutir la masa, ejerce un efecto significativo en la disminución de la carga bacteriana, manteniéndose esta condición mediante el ahumado y almacenamiento en frío hasta la venta, correspondiente en general al sexto día de producción (Figura 1 y Tabla 1). Sin embargo, tal como lo demuestra la Figura 2, el contenido bacteriano del paté al momento de su venta está influido por el número de bacterias presentes al inicio del proceso, motivo por el cual no se debe restar importancia a la contaminación microbiana de las materias primas empleadas. A su vez, juega un rol importante el tipo de bacterias presentes, puesto que en la medida que se encuentre un alto número de microorganismos Gram positivos y especialmente aquellos esporulados (*Bacillus*) —que se caracterizan por su mayor resistencia al calor— menor será la disminución de la carga bacteriana por efecto de la cocción. Por ende, habrán mayores posibilidades de alteración de los caracteres organolépticos del producto.

#### SUMMARY

##### BACTERIAL CONTENT OF LIVER PATE IN THREE STAGES OF ELABORATION

Liver paté is a boiled sausage that, due to its nature and composition, has an appropriate environment for bacterial development.

In order to determine the variation in the bacterial development during the processing of this sausage, bacteriological examinations were carried out in three stages of preparation. This involved, first, the fresh product, then, after boiling it, and finally on the 6th day, after cold storage at 0°C.

Of the bacterial counts obtained it was determined that boiling greatly reduces the number of bacteria, especially the Gram negative ones, a situation which lasts through the storage period studied.

The relationship between initial and final bacterial content of liver paté, clearly shows the influence of contamination of the raw materials employed, on the microbiological quality of the marketed product.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Ashbrook, F. *Butchering, Processing and Preservation of Meat*. New York, N. Y., Van Nostrand Reinhold, 1955.
2. Farchmin, G. *Inspección Veterinaria de los Alimentos*. Zaragoza, Editorial Acribia, 1967.
3. Libermann, S.G., V.M. Morozov, G.E. Limonov, K.F. Shevkunov, O.A. Vasyagina

- & A. I. Snitsar. Manufacturing liver sausage products. USSR Patent 262. 648, 1970 (Original, no consultado, compendiado en: *Food Sci. Technol.*, Abs. 2 (10):S910, 1970).
4. Shahedi, M. & M. R. Okos. Effects of cooking on the thermal conductivity of whole and ground lean beef. *J. Food Sci.*, 46:1302-1305, 1981.
  5. Kramlich, W. E. & A. Pearson. *Processed Meats*. Westport, Connecticut, The AVI Publishing Co., 1976.
  6. Hammer, G. F. Liver sausage technology: suitability for processing of pork fatty tissue and liver; temperatures applied. *Fleischwirtschaft*, 60(2):251-257, 1980.
  7. Scenappa, M. & A. G. Kempton. A note on the occurrence of *Bacillus cereus* and other species of *Bacillus* in Indian spices of export quality. *J. Applied Bacteriol.*, 50(2):225-228, 1981.
  8. Coretti, K. Esterilización de especias. *Fleischwirtschaft* (en español), No. 1, 48-52, 1981.
  9. Werner, B., J. Méndez, J. Rosello & L. Teira. Estudio microbiológico de productos cárnicos y derivados. I. Estudio microbiológico de productos cárnicos manufacturados. *Rev. Lat. Am. Microbiol. Parasitol.*, 9(2-4):77-82, 1967.
  10. Chyr, C., H. W. Walker & J. C. Sebranek. Influence of raw ingredients, nitrite levels, and cooking temperatures on the microbiological quality of Braunschweiger. *J. Food Sci.*, 45:1732-1735, 1980.
  11. Cowan, S. T. & K. J. Steel. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. 2nd ed. Cambridge, Cambridge University Press, 1965.
  12. Buchanan, R. E. & N. E. Gibbons. *Bergey's Manual of determinative Bacteriology*. 8th ed. Baltimore, Maryland, Williams and Wilkins, 1975.

# RELACION ENTRE INGRESO FAMILIAR, GASTO Y CONSUMO DE ALIMENTOS EN ZONAS URBANAS MARGINADAS DE SONORA, MEXICO<sup>1</sup>

*Pablo Wong<sup>2</sup>, Inocencio Higuera<sup>3</sup> y Mauro E. Valencia<sup>4</sup>*

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

## RESUMEN

Se realizó un estudio en zonas urbanas marginadas de la ciudad de Hermosillo, Sonora, México, donde se analizaron algunos factores socioeconómicos, tomando como base la relación entre ingreso familiar, gasto y consumo de alimentos. En el estudio alimentario familiar se utilizaron las técnicas de recordatorio de un día y frecuencia de consumo de alimentos, a lo que se aunó un estudio de índole socioeconómica. Para el análisis del gasto y consumo de alimentos se dividió a la población en cinco grupos de ingresos, y los alimentos fueron divididos en tres tipos: alimentos básicos, alimentos de alto valor proteínico y carne fresca.

Los resultados revelaron que existe una relación directa entre el nivel de ingreso de las familias y el gasto en consumo de alimentos. La elasticidad-ingreso de la demanda de alimentos básicos fue menor que la estimada para alimentos de alto valor proteínico, encontrándose una mayor propensión al consumo de estos últimos a medida que el ingreso familiar aumentaba. A pesar de que las familias destinaron un mayor porcentaje de su gasto en alimentos para los de alto valor proteínico, más del 50% de calorías y proteínas consumido provenía del grupo de alimentos básicos.

Por otra parte, se consideró necesario ampliar el marco de análisis de los problemas nutricionales a un contexto macroeconómico más amplio, a fin de encontrar las causas básicas de dicha situación.

---

Manuscrito modificado recibido: 13-12-83.

- 1 Este trabajo fue patrocinado por la Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica de la Secretaría de Educación Pública y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
- 2 Investigador Asociado del Departamento de Desarrollo del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD), Apartado Postal 1735, Hermosillo, Sonora, México.
3. Investigador Asociado del Departamento de Alimentos del CIAD, A. C. y actualmente en la Universidad de Cornell, Ithaca, N. Y., EUA.
4. Investigador Titular del Departamento de Alimentos del CIAD, A. C.

## INTRODUCCION

El estado de Sonora y en general el noroeste de México, se caracteriza por ser una de las regiones de mayor importancia en la producción de alimentos del país, donde la agricultura es comercial, moderna y de alta productividad (1-3). En términos de los efectos en la sociedad, sin embargo, estudios realizados en años anteriores (4, 5) e investigaciones recientes llevadas a cabo en este Centro (CIAD), han demostrado la existencia de deficiencias nutricionales en ciertos estratos de la población.

Los hallazgos a que se alude indican que el "progreso" agropecuario no ha sido compatible con el nivel de desarrollo socioeconómico alcanzado en su conjunto, siendo sus resultados la polarización social y la apropiación desigual del producto y del ingreso (6, 7). Cabe también agregar que —dentro de este proceso de desarrollo— en el estado que nos ocupa se ha observado un crecimiento urbano de considerable magnitud en las últimas décadas. Esta situación ha dado lugar a aglomeraciones que, a su vez, han influido en la conformación de problemas sociales, entre ellos los nutricionales.

Ciertos estudios efectuados mediante un análisis global del problema de la nutrición, han señalado que éste se relaciona mucho más con los aspectos socioeconómicos que con los de tipo geográfico o cultural y bajo este esquema, la demanda y el consumo real de alimentos de las familias están básicamente determinados por el nivel y la distribución del ingreso (8-12). Asimismo, se ha reconocido la importancia de las diferencias regionales en los aspectos alimentarios y nutricionales (13-15).

En México hay una gran escasez de datos económicos y sociales a nivel regional que podrían ser utilizados en el campo de la nutrición. Por este motivo se ha estimado necesario emprender estudios que generen información primaria sobre estos aspectos.

En función del contexto descrito se efectuó el presente trabajo, cuyo objetivo principal fue analizar la relación existente entre ingreso familiar, gasto y consumo de alimentos, así como también la composición de la dieta.

La investigación se llevó a cabo en 23 "colonias marginadas" de la ciudad de Hermosillo, Sonora, México. Debido a que la palabra marginación ha adquirido diversas conceptualizaciones (16-19), el criterio adoptado para los fines de este estudio fue el de investigar los barrios donde viven los sectores proletarios o más pobres de la población. Algunas de estas colonias son asentamientos humanos ilegales, que carecen de los servicios públicos básicos. Los pobladores del área sometida a estudio tienen ingresos bajos, encontrándose un índice considerable de desempleo y subempleo; los miembros del sector de la población ocupada, trabajan principalmente como empleados en el comercio o en servicios, son obreros de la construcción, o bien comerciantes en pequeño. En 1980, la ciudad de Hermosillo contaba con 281,697 habitantes (20), estimándose una población de 60, 412 para las colonias objeto de nuestra investigación.

## MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio de campo en el que se captó información a nivel

individual y familiar no sólo para este artículo investigativo sino también la necesaria para evaluar el estado nutricional de la población. El trabajo de campo se llevó a cabo en el período comprendido entre noviembre de 1980 y marzo de 1981.

Para el estudio alimentario se aplicó una encuesta siguiendo las técnicas de recordatorio de un día (21, 22) y la de frecuencia de consumo de alimentos (23). La utilidad del método de recordatorio de un día es muy controversial (24-27) y se considera de baja confiabilidad para estimar la ingesta individual; no obstante, es de utilidad cuando se aplica con objetivos bien definidos en estudios de grupos de población (28).

Para el análisis de la elasticidad-ingreso de la demanda de los distintos tipos de alimentos, se utilizó la información obtenida en los estudios de frecuencia. Con este método se obtuvieron también los valores del gasto en alimentos. La captación de los datos se realizó en términos monetarios (pesos mexicanos) y/o peso o volumen de las compras de alimentos para los períodos semanal, quincenal, mensual o anual. Con el objeto de estandarizar los resultados, los datos se transformaron a valor monetario mensual de gasto en alimentos, utilizando, en los casos necesarios, los índices de precios de la Compañía Nacional de Subsistencias Populares (CONASUPO), prevalecientes en marzo de 1981.

Para el cálculo de la distribución de nutrientes de cada dieta, se utilizó un programa de computadora, con datos basados en las tablas de composición de valor nutritivo de los alimentos mexicanos (29) y los del *Agricultural Handbook No. 8* (30).

El tamaño de la muestra se determinó en relación a un diseño aleatorio irrestricto —en base a los parámetros de gasto en alimentos e ingreso familiar— para estimar proporciones con 95% de confiabilidad y  $\pm 0.05$  de error (31). Debido a la no respuesta y respuesta incompleta se utilizaron 300 encuestas, en un total de 327 originales, por lo que la muestra final quedó por encima del 90% de confiabilidad.

## RESULTADOS

Se constató que las principales fuentes de abastecimiento de alimentos de las familias eran las “tiendas de abarrotes” (pequeños almacenes o despensas) y los vendedores ambulantes. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a precios y tipos de alimentos entre los distintos centros de abasto, por lo que se considera que la variable “fuente de abastecimiento” no tuvo influencia alguna en las decisiones de consumo. Por otro lado, por haberse establecido que la práctica de autoconsumo (crianza de animales y otros) era muy reducida, los mecanismos de mercado fueron prácticamente los únicos medios utilizados por las familias para la obtención de alimentos.

### *Ingreso Familiar y Gasto en Alimentos*

El nivel de ingreso familiar se encontró muy bajo para la mayor parte de la población. Más del 50% de las familias tenían un ingreso similar o menor al salario mínimo oficial; entre 20 y 30% de las familias no alcanzaron a cubrir este nivel de ingreso señalado (Tabla 1).

TABLA 1

## PORCENTAJE DEL INGRESO TOTAL DESTINADO A ALIMENTACION

Grupo de ingresos familiar mensual (pesos)	Media del ingreso mensual (pesos)	No. de familias	o/o	Media del gasto (pesos)	Media del o/o del ingreso total
I 1 - 2,500	1,950	6	2.0	1,494.5	74.05
II 2,501 - 5,000	4,337	61	20.3	3,027.1	64.97
III 5,001 - 7,500	6,171	103	34.4	3,857.4	58.13
IV 7,501 - 14,000	10,037	108	36.0	5,049.2	49.27
V 14,501 - 25,000	17,458	22	7.3	6,043.0	32.85
Total		300	100.0		

La Tabla 1 y la Gráfica 1 muestran la relación entre el nivel de ingreso familiar y el gasto en alimentos. Los resultados obtenidos corroboran la Ley de Consumo de Engels (32), encontrándose que a menor monto de ingreso familiar, mayor es el porcentaje del mismo destinado a la alimentación. En términos absolutos, al incrementarse el ingreso familiar aumenta también el gasto en alimentos, aunque en términos relativos se presenta la situación inversa. A nivel general, el 92% de las familias destina, cuando menos, el 50% de su ingreso a la compra de alimentos.

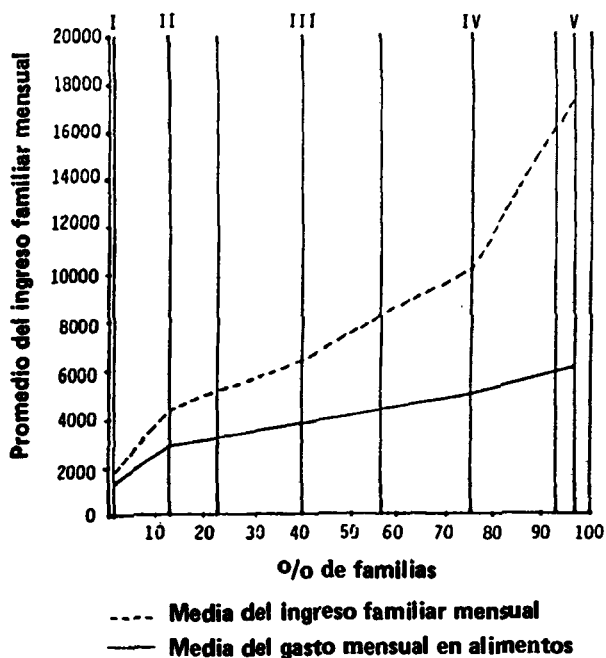
*Distribución del Gasto por Tipo de Alimentos*

Para los objetivos de este estudio los alimentos se clasificaron en alimentos básicos y alimentos de alto valor proteínico, y se analizó por separado el gasto en carne fresca. De igual forma, a pesar de que la mayor parte de las familias incluidas en la investigación era de ingresos bajos, con fines de comparación se optó por dividirlos en cinco estratos.

En la Tabla 2 y en la Gráfica 2 se aprecia la distribución del gasto familiar en alimentos básicos. La información obtenida pone de manifiesto que al aumentar el nivel de ingreso familiar, la fracción de ese ingreso destinado a la adquisición de alimentos básicos tiende a disminuir. La tendencia en el consumo de este tipo de alimentos queda demostrada por los números absolutos, pues no obstante que la diferencia entre los ingresos de los grupos I al V es aproximadamente de nueve veces, el índice de consumo alcanzado es de uno a 2.1, respectivamente.

Una explicación al hecho de que los estratos de menores ingresos destinen un mayor porcentaje de su ingreso al consumo de alimentos básicos que aquellos de ingresos más altos, puede ser que dichos alimentos son de precios más bajos. Otra razón podría ser la naturaleza misma del aporte nutricional, ya que contribuyen con una cantidad substancial de energía, el factor nutricional más limitante y necesario para el hombre.

El gasto en alimentos de alto valor proteínico se observa en la Tabla 3



GRAFICA 1

Gasto familiar en alimentos

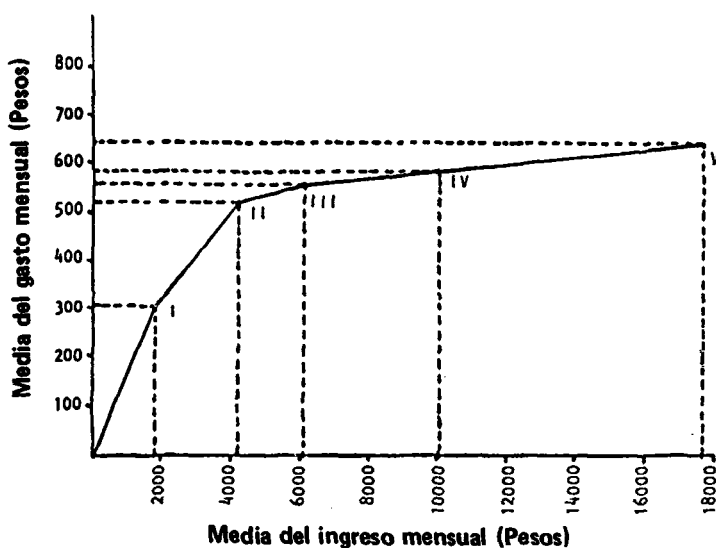
TABLA 2

GASTO EN ALMIDONES BASICOS<sup>a</sup>

Grupo de ingresos familiar mensual (pesos)	Media del %o del ingreso total	Media del %o del gasto en alimentos	Media del gasto absoluto (pesos)	Indice de consumo <sup>b</sup>
I 1 - 2,500	15.81	21.98	308	1.0
II 2,501 - 5,000	12.63	18.18	538	1.7
III 5,001 - 7,500	9.19	14.61	567	1.8
IV 7,501 - 14,500	5.83	11.58	570	1.9
V 14,501 - 25,000	3.72	11.04	648	2.1

<sup>a</sup> Incluye frijoles, tortillas de maíz, harina de trigo y sopas de pasta.

<sup>b</sup> Se toma como base a la media del gasto (absoluto) del grupo I:  $\frac{G_i}{G_o}$  donde  $G_i$  = gasto del grupo II al V y  $G_o$  = gasto del grupo I.



GRAFICA 2

Elasticidad-ingreso de la demanda en el rubro de alimentos básicos

TABLA 3

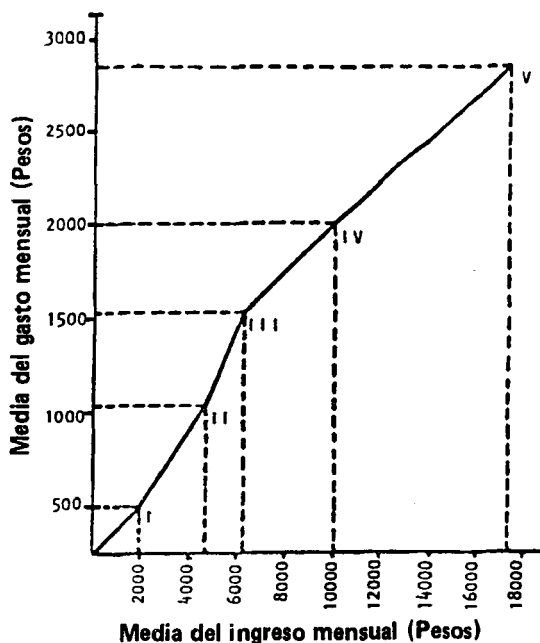
## GASTO EN CARNE FRESCA

Grupo de ingresos familiar mensual (pesos)	Media del o/o del ingreso total	Media del o/o del gasto en alimentos	Media del gasto absoluto (pesos)	Indice de consumo <sup>a</sup>
I 1 - 2,500	9.12	11.85	193	1.0
II 2,501 - 5,000	8.87	12.42	394	2.0
III 5,001 - 7,500	10.36	16.11	644	3.3
IV 7,501 - 14,500	9.50	18.20	940	4.9
V 14,501 - 25,000	8.82	24.62	1,514	7.8

a

Se toma como base a la media del gasto (absoluto) del grupo I:  $\frac{G_i}{G_o}$  donde  $G_i$  = gasto del grupo II al V y  $G_o$  = gasto del grupo I.

y en la Gráfica 3. La situación que reflejan estos datos es que el gasto en este tipo de alimentos aumenta, en términos absolutos y relativos, en relación directa al incremento en el ingreso. Al momento en que las familias obtienen un aumento substancial en su ingreso, tienden a consumir pro-



GRAFICA 3

#### Gasto en alimentos de alto valor proteínico por rangos de ingreso

ductos de mayor valor agregado, o de precios superiores, desplazando con ello cierto consumo de alimentos básicos; una vez satisfecha la necesidad de energía se trata de obtener más proteína y otros nutrientes a través de los alimentos mencionados.

El gasto familiar en carne fresca se presenta en la Tabla 4 y en la Gráfica 4, donde, al igual que la tendencia reflejada en el consumo de alimentos de alto valor proteínico, el índice de consumo se eleva fuertemente, a medida que se eleva el ingreso. Este producto es de alto precio, por lo que no está al alcance de la población de menores ingresos, al menos en la cantidad y con la frecuencia deseada. El índice de consumo exhibe enorme diferencia entre los distintos estratos.

#### *Elasticidad-Ingreso de la Demanda*

La elasticidad-ingreso de la demanda es útil en el análisis del gasto familiar, puesto que se puede calcular el cambio en la cantidad demandada de un tipo específico de alimento, resultado de un cambio en el ingreso. Por lo general, la elasticidad-ingreso de la demanda de alimentos es muy baja en comparación con otros tipos de productos (32).

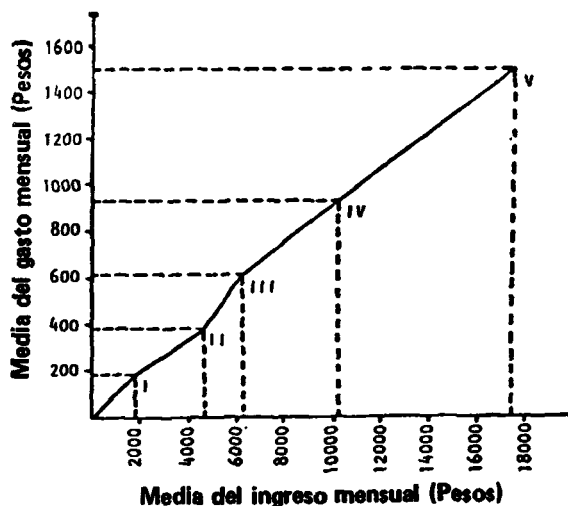
TABLA 4

GASTO EN ALIMENTOS DE ALTO VALOR PROTEINICO<sup>a</sup>

Grupo de ingresos familiar mensual (pesos)	Media del o/o del ingreso total	Media del o/o del gasto en alimentos	Media del gasto absoluto (pesos)	Indice de consumo <sup>b</sup>
I 1 - 2,500	26.75	32.87	524	1.0
II 2,501 - 5,000	24.28	33.46	1,046	2.0
III 5,001 - 7,500	24.40	38.96	1,516	2.9
IV 7,501 - 14,500	20.24	38.75	2,002	3.8
V 14,501 - 25,000	16.51	46.39	2,833	5.4

<sup>a</sup> Incluye carne fresca, carnes frías, huevo, leche y queso.

<sup>b</sup> Se toma como base a la media del gasto (absoluto) del grupo I:  $\frac{G_i}{G_o}$  donde  $G_i$  = gasto del grupo II al V y  $G_o$  = gasto del grupo I.



GRAFICA 4

Gasto en carne fresca por rango de ingreso

En la Tabla 5 se exponen las elasticidades para los diferentes tipos de alimentos, comprobándose la tendencia en el consumo explicada en el punto anterior. La elasticidad-ingreso de la demanda de carne fresca y de los alimentos de alto valor proteínico fue mucho mayor que la de alimen-

TABLA 5

## ELASTICIDAD—INGRESO DE LA DEMANDA POR TIPO DE ALIMENTOS

No. de grupo	Ingreso familiar mensual (pesos)	Media del ingreso mensual (pesos)	Elasticidad-ingreso de la demanda <sup>a</sup>		
			Almidones básicos <sup>b</sup>	Carne fresca	Alimentos de alto valor proteínico <sup>c</sup>
I	1 — 2,500	1,950	—	—	—
II	2,501 — 5,000	4,337	0.61	0.85	0.81
III	5,001 — 7,500	6,171	0.38	1.07	0.87
IV	7,501 — 14,500	10,037	0.20	0.93	0.68
V	14,501 — 25,000	17,458	0.13	0.86	0.55

<sup>a</sup>  $\frac{\Delta G_i}{G_o} \frac{\Delta Y_i}{Y_o} =$  donde  $\Delta G_i = \Delta$  de la media del gasto en alimentos de los grupos II al V con respecto al grupo I.  
 $\Delta Y_i = \Delta$  de la media del ingreso total de los grupos II al V con respecto al grupo I.  
 $G_o =$  Media del gasto en alimentos del grupo I.  
 $Y_o =$  Media del ingreso total del grupo I.

<sup>b</sup> Incluye frijoles, tortillas de maíz, harina de trigo y sopas de pasta.

<sup>c</sup> Incluye carne fresca, carnes frías, huevo, leche y queso.

tos básicos. Inclusive, es notorio que a medida que se incrementa el ingreso, el índice de elasticidad de los alimentos básicos disminuye, es decir, los cambios no ejercen ningún efecto sobre el consumo.

## DISCUSION

Con las características particulares del muestreo alimentario realizado, se logró determinar que los estratos de mayores ingresos dedican un porcentaje más alto de su gasto en alimentos, al consumo de aquéllos de alto valor proteínico y carne fresca, que lo destinado por los estratos de más bajos ingresos; sin embargo, la relación fue en el sentido inverso en lo que corresponde al porcentaje destinado al consumo de alimentos básicos. Un aspecto resultante de esta información, que puede ser la base para estudios más a fondo en el tipo de alimentación familiar, es que al analizar la distribución porcentual del gasto por tipos de alimentos al interior de cada uno de los grupos de ingresos, se encontró que la proporción del gasto en alimentos de alto valor proteínico siempre fue mayor que el destinado a alimentos básicos (Figura 1). Sin embargo, al revisar la Canasta de Consumo Familiar de esta población, de acuerdo a los estudios de recordatorio de un día y frecuencia de consumo, se observó que el grupo de alimentos básicos representaba el doble del consumo (g) del resto de los alimentos de la Canasta. Además, incluía la mayor parte de la energía y proteína de la dieta, con menor costo que lo destinado a alimentos de alto valor proteínico en función a su aportación nutricional (33).

En ese mismo aspecto, se ha encontrado que del total del aporte calórico de los alimentos de la dieta promedio de la población de estas zonas urbanas, un 43% proviene de cereales (trigo, maíz y sus derivados, principalmente tortillas) y que en lo referente al aporte proteínico, la contribución es del 30% (34). Si a esto se suma la contribución calórica y proteínica del frijol en la dieta, se rebasa el 50% del aporte calórico-proteínico proveniente del grupo de alimentos clasificados en este estudio como alimentos básicos. En referencia a este punto cabe hacer notar que tradicionalmente se consumen combinaciones de tortilla de maíz con frijol y tortilla de harina de trigo con frijol, que han sido notificados como de alto potencial en cuanto a calidad de su proteína, comparable con algunas fuentes de origen animal (34). Esta situación lleva al planteamiento de que el término "alto valor proteínico" puede ser relativo si se le aplica únicamente a los alimentos que tradicionalmente se les ha considerado como poseedores de dicha propiedad (carne, leche, huevos), más aún, si se cuestiona la idea convencional de que la dieta "ideal" debe estar conformada por este tipo de alimentos.

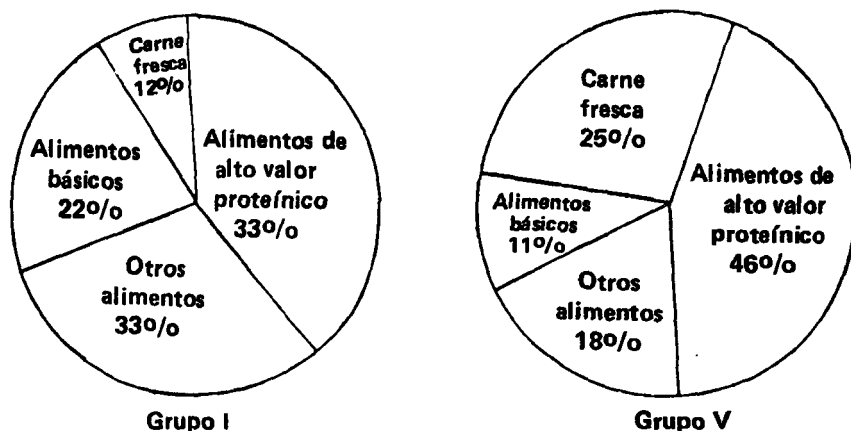


FIGURA 1

Distribución porcentual del gasto por tipo de alimentos

En relación a la distribución porcentual del gasto en los distintos tipos de alimentos, el hecho de que éste sea mayor para los alimentos de alto valor proteínico en comparación con los básicos refleja, por un lado, el mayor costo de los primeros en el mercado, así como la tendencia a imitar patrones de consumo, y la propensión a pagar precios comparables a los de los estratos de altos ingresos por el consumo de ciertos productos, por el otro. La diferencia en cuanto a cantidad y calidad en el gasto y consumo de alimentos sería más notoria si la situación de este grupo de población estudiada se comparara con la de los estratos medio y alto de la ciudad. No obstante, según los resultados obtenidos, la diferencia en la cantidad consumida de uno u otro tipo de alimentos estuvo determinada por la capacidad de compra de las familias.

Otro de los aspectos de importancia, resultado de la información preliminar del estudio alimentario, es que el trigo y los productos derivados de éste revisten gran importancia (primer lugar) en la canasta de consumo a diferencia de la mayoría de las regiones del país, donde el maíz continúa siendo la base de la dieta (34, 35). El consumo de productos derivados del trigo no sólo se realiza en forma de bienes industrializados, sino también en preparaciones domésticas (tortillas de harina). Como consecuencia de ello, las estimaciones que se hagan para la determinación de una canasta básica recomendable para esta región, deberá mostrar diferencias significativas a la nacional. De ello se desprende la necesidad de reconocer la importancia de las diferencias regionales en los aspectos de alimentación, ingreso y consumo, cuyos resultados pueden ser utilizados como una de las bases requeridas para la formulación de políticas alimentarias y nutricionales.

En conclusión, al considerar el contexto de la problemática en materia de alimentos y nutrición, es evidente que ésta debe incorporarse en forma definitiva a las políticas generales de desarrollo, entre ellas la distribución del ingreso, acciones que adopten un enfoque regional que, aparte de las particularidades en el consumo, tenga en cuenta todo tipo de relaciones económicas y sociales. En este sentido, a pesar de que algunas causas de la desnutrición se explican en términos individuales o dentro del medio familiar que los rodea, es necesario ampliar el marco de referencia del análisis de su dimensión macroeconómica, que comprenda los procesos biológicos y sociales, como una vía para encontrar las raíces de dicha problemática.

#### SUMMARY

##### RELATIONSHIP BETWEEN HOUSEHOLD INCOME, EXPENSE AND CONSUMPTION OF FOOD IN URBAN MARGINAL AREAS OF SONORA, MEXICO

This research project in urban marginal areas of the City of Hermosillo in Sonora, Mexico, analyzes certain socioeconomic factors taking into consideration the relationship between household income, expense and consumption of food. The study is based on information collected in a 24-hour recall survey carried out for all members of the family, frequency of consumption of foods, and a socioeconomic questionnaire. Expense and consumption of foods was divided into five different income groups and into three classes of foods: basic foods, fresh meat and high-protein foods. The results of the research study show a direct relationship between household income level and expense and consumption of the foods. The income-elasticity of the demand of basic foods was lower than that estimated for high-protein foods, and there was a marked tendency to increase consumption of high-protein foods as family income increased. More than 50% of the calories and proteins were obtained from the basic foods group, even though a large percentage of family food expense was destined for high-protein foods. The study concludes that more research is needed at a macroeconomic level to understand the basic underlying causes of the nutritional problems.

## AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a Reynaldo Cruz, María Luz Ramos, Isabel Grijalva y Patricia Jardines, por su participación en el presente trabajo, y a Carlos Peña, por sus valiosos comentarios y sugerencias. A Martha Espinoza, agradecemos, asimismo, la transcripción del manuscrito.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bassols Batalla, A. *El Noroeste de México. Un Estudio Geográfico-Económico*. México, Instituto de Investigaciones Económicas, Universidad Nacional Autónoma de México, 1972.
2. *Plan de Desarrollo Agropecuario y Forestal, 1982-1988*. Sonora. Tomo 1. México, 1982.
3. *Secretaría de Programación y Presupuesto del Estado. Sonora. Marco Global y Política de Desarrollo. Plan de Desarrollo Económico y Social, 1980-1985*. Hermosillo, Sonora, México.
4. Instituto Nacional de la Nutrición. *Encuestas Nutricionales en México. Estudios de 1958 a 1962*. 2a. ed. México, D. F., División de Nutrición del INN, 1974, p. 283-304. (Publicación L-1).
5. Instituto Nacional de la Nutrición. *Encuestas Nutricionales en México. (Encuestas Familiares). Estudios de 1963 y 1974*. Vol. 11. México, D. F., División de Nutrición del INN, 1975, p. 3-36. (Publicación L-21).
6. Hewitt de Alcántara, C. *La Modernización de la Agricultura Mexicana, 1940-1970*. México, D. F., Editorial Siglo XXI, 1982.
7. Aguilar Camín, H. *La Frontera Nómada: Sonora y la Revolución Mexicana*. México, D. F., Editorial Siglo XXI, 1981.
8. *La Desnutrición y la Salud en México, Recopilación de Investigaciones Epidemiológicas en el Medio Rural*. México, D. F., División de Nutrición del INN, 1976. (Publicación L-34).
9. Martínez de Navarrete, E. et al. *Alimentación Básica y Desarrollo Agroindustrial*. México, D. F., Editorial Fondo de Cultura Económica, 1977, p. 27.
10. Restrepo, I. & D. Phillips. *La Basura. Consumo y Desperdicio en el Distrito Federal*. México, D. F., Instituto Nacional del Consumidor, 1982.
11. Palmer, I. *La Alimentación y la Nueva Tecnología Agrícola*. México, SEP, 1976. (Sepsetentas No. 253).
12. Solimano, G. & L. Taylor. *Política y Alimentos en América Latina. Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo (CEESTEM)*. México, D. F., Editorial Nueva Imagen, 1981.
13. Bassols Batalla, A. *Geografía, Subdesarrollo y Regionalización*. 2a ed. México, D. F., Editorial Nuestro Tiempo, 1975, p. 195-198.
14. *Problemas del desarrollo. Revista Latinoamericana de Economía*, Instituto de Investigaciones Económicas, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., Año III, No. 31, agosto-octubre de 1977.
15. Recalde, F. *Política Alimentaria y Nutricional*. México, D. F., Fondo de Cultura Económica, 1970.
16. Stavenhagen, R. *Sociología y Subdesarrollo*. 4a ed. México, D. F., Editorial Nuestro Tiempo, 1977.
17. *Coordinación General del Plan Nacional de Zonas Deprimidas y Grupos Marginados COPLAMAR. Mínimos de Bienestar. 1. Resumen*. México, D. F., Presiden-

- cia de la República, 1979, p. 9-13.
18. Lomnitz, L. A. de. **Cómo Sobreviven los Marginados**. 5a. ed. México, D. F. Editorial Siglo XXI, 1981, p. 15-19.
  19. Esteva, G. Los "Tradifas" o el fin de la marginación. En: **El Trimestre Económico**, Vol. L (2). México, abril-junio de 1983, No. 198. México, D. F., Fondo de Cultura Económica.
  20. Secretaría de Programación y Presupuesto SPP. **Datos Preliminares del X Censo General de Población y Vivienda**. Hermosillo, Sonora, México, Unidad del Sistema Nacional de Estadística e Información de la Secretaría de Programación y Presupuesto, 1980.
  21. Brenes, H. & L. Mata. Consumo de alimentos en niños menores de 5 años en comunidades rurales de Costa Rica. **Rev. Biol. Trop.**, 26(2): 467, 1978.
  22. Christakis, G. Nutritional assessment in health programs. **Am. J. Pub. Health Assoc.**, 63:28-35, 1973.
  23. Burk, M. C. & E. C. E. M. Pao. **Methodology for Large-Scale Surveys of Household and Individual Diets**. Washington, D. C., United States Department of Agriculture, 1976. (Home Economics Research Report No. 40, p. 23-25).
  24. Young, C. M., G. C. Hagan, R. E. Tucker & W. D. Foster. Comparison of dietary study methods. II. Dietary history vs. seven-day record vs. 24-hour recall. **J. Am. Dietet. Assoc.**, 20:218, 1952.
  25. Flores, M. Dietary studies for assessment of the nutritional status of populations in nonmodernized societies. **Am. J. Clin. Nutr.**, 11:344, 1962.
  26. Madden, J. P., J. S. Goodman & H. A. Guthrie. Validity of the 24-hour recall. **J. Am. Dietet. Assoc.**, 68:143, 1976.
  27. Linusson, E. I., D. Sanjur & E. C. Erickson. Validating the 24-hour recall method as a dietary survey tool. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, 24:2, 1974.
  28. Lechtig, A., Ch. Yarbrough, R. Martorell, H. Delgado & R. E. Klein. The one-day recall dietary survey: A review of its usefulness to estimate protein and calorie intake. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, 26:243-271, 1976.
  29. Hernández, M., A. Chávez & H. Bourges. **Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. Tablas de Uso Práctico**. 8a ed. México, División de Nutrición del INN, 1980 (Publicación L-12).
  30. United Nations Department of Agriculture. **Composition of Foods**. Washington, D. C., Consumer and Food Economic Research Service, 1983 (Agriculture Handbook of the USDA No. 8).
  31. Cochran, W. G. **Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics-Applied**. New York, N. Y., John Wiley & Sons, Inc., 1977.
  32. Ferguson, C. E. **Teoría Microeconómica**. 4a reimpresión. México, D. F., Editorial Fondo de Cultura Económica, 1975, p. 42-44 y 87.
  33. Valencia, M. E., *et al.* The use of 24-hour recall data from nutrition surveys to determine food preference, availability and food consumption baskets in populations. **Nutr. Repts. Internat.**, 28(4):815-823, 1975.
  34. Yépez, G. M., *et al.* Mezcla de frijol-tortilla de maíz, frijol-tortilla de harina de trigo de la dieta sonorense. Valor nutritivo de las proteínas de las mezclas. **Rev. Tecnol. Alim. (México)**, 18(1):16-23, 1983.
  35. Ramírez Hernández, J., P. Arroyo y A. Chávez. Aspectos socioeconómicos de los alimentos y la alimentación en México. En: **Recopilación de Investigaciones Epidemiológicas en el Medio Rural**. México, D. F., División de Nutrición del INN, 1976 (Publicación L-34, p. 1-11 y 161).
  36. Warman, A., *et al.* **El Cultivo del Maíz en México**. (CECODES). México, D. F., Editorial Nueva Imagen, 1982.



## NUEVOS LIBROS

**Ambiente, Nutrición y Desarrollo Mental.** – Washington, D. C., Organización Panamericana de la Salud, 1983, 80 p. (Publicación Científica No. 45) (ISBN 92 75 31450 0). Precio: EUA \$7.00.

Este volumen recoge dos documentos de trabajo presentados en reuniones auspiciadas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), que ponen al día los conocimientos sobre la influencia del ambiente y especialmente la desnutrición en el desarrollo de las funciones intelectuales. El primero de ellos se intitula "Efectos de los factores ambientales y nutricionales adversos sobre el desarrollo mental", por el Dr. Henry N. Ricciuti, de la Universidad de Cornell, Ithaca, Nueva York, EUA, y el segundo, "Malnutrición, desarrollo mental, conducta y aprendizaje", por el Dr. Joaquín Cravioto, Profesor y Director Científico del Instituto Nacional de Ciencias y Tecnología de Salud del Niño, Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia, en México. El tercer trabajo recopilado por la Organización, corresponde al Dr. Ernesto Pollitt, y se intitula "Evaluación de la conducta en los estudios sobre consecuencias funcionales de la malnutrición: Descripción de métodos". El Dr. Pollitt es Profesor de Nutrición y Ciencias de la Conducta en la Universidad de Texas, Houston, Texas, EUA. Este trabajo fue recopilado por la Organización, y analiza los problemas de evaluación de la conducta en los estudios sobre la relación entre desnutrición y desarrollo.

Seguidamente, el Prefacio, escrito por el Director de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), Dr. Carlyle Guerra de Macedo, establece que "la diseminación de conocimientos en este campo cumple un doble propósito: por una parte, obedece a un mandato de los Cuerpos Directivos de la OPS que prescribe la preparación de un documento que ponga al día los conocimientos existentes sobre la influencia del medio ambiente en la capacidad intelectual". "Por otro lado, al hacer llegar a los trabajadores de salud un recuento ponderado de los avances y limitaciones presentes en este campo, abre el camino a intervenciones psicosociales y nutricionales, al alcance del administrador de salud pública".

Este libro, así como el que seguidamente se comenta, puede adquirirse de la Oficina Sanitaria Panamericana, 525 Twenty-third Street, N. W., Washington, D. C. 20037, EUA. En Sudamérica, diríjase a Biblioteca de Medicina y Ciencias de la Salud, OPS, Rua Botucatu 862, São Paulo, SP., Brasil.

**Diagnostico de la Salud Animal en las Américas.** Washington, D. C., Organización Panamericana de la Salud (OPS), 1983, 282 p. (Publicación Científica No. 452) (ISBN 92 75 31452 7). Precio: EUA \$8.00.

Este interesante libro incluye un breve Prefacio, escrito también por el Director de la Organización, Dr. Guerra de Macedo que, por su importancia, se cita textualmente:

“Al abordar el importante tema de la salud de los animales, que guarda estrecha relación con la salud humana, nos preocupan sus repercusiones en la producción de alimentos para la nutrición del hombre y en la prevención, control y erradicación de la zoonosis.

Asimismo, no podemos olvidar las grandes pérdidas causadas por las enfermedades de los animales, que ejercen marcada influencia en el abastecimiento interno y en los mercados externos proveedores de divisas. Todo esto tiene especial importancia para América Latina y el Caribe, donde existe una estrategia para el desarrollo basada en la integración de recursos.

La persistencia de estados de subalimentación y la alta prevalencia de desnutrición en grandes grupos de la población de las Américas son uno de los graves problemas que enfrentan los países, pese a los esfuerzos que hacen los Gobiernos. En nuestra Región se observa la demanda creciente de una mayor cantidad de alimentos, debido no solamente al crecimiento vegetativo de la población, que se mantiene con uno de los promedios de crecimiento anual más altos del mundo, sino también como resultado del mejoramiento del nivel de vida y desarrollo de los programas de educación y de salud.

Se afirma que América Latina posee inmensas posibilidades para el desarrollo de su ganadería, estimándose en más de 500 millones de hectáreas la superficie forrajera, cuya capacidad receptiva podría incrementarse notablemente mediante la aplicación de mejores prácticas de manejo. La producción pecuaria es, en realidad, una de las grandes riquezas del continente americano.

A pedido de los Gobiernos Miembros, la Organización Panamericana de la Salud preparó este libro sobre el diagnóstico de la salud animal en las Américas. La información reunida fue proporcionada por las autoridades nacionales y abarca los diversos aspectos relacionados con la producción animal. Estos datos son importantes para orientar una planificación más adecuada en los diferentes campos de salud animal”.

Consta de un total de 11 Capítulos intitulados como sigue: I. Panorama general de las Américas. II. El sector pecuario. III. Enfermedades de los animales. IV. Estaciones de cuarentena animal en las Américas. V. Directorio de bioterios. VI. Laboratorios de diagnóstico veterinario en las Américas. VII. Legislación en salud animal. VIII. Recursos humanos veterinarios. IX. Escuelas de Medicina Veterinaria en las Américas. X. Asociaciones profesionales de médicos veterinarios, y XI. Asociaciones ganaderas. En cada uno de ellos se abordan innumerables aspectos de interés para los profesionales en este campo, y, en fin, material que constituye una valiosa fuente de consulta. Los Capítulos, que cubren 150 páginas, se acompañan de VII Anexos. El primero de ellos se destina a la distribución e importancia económica de enfermedades de los animales, por especie y países, Región de las Américas, 1981. Los siete restantes constituyen Directorios en las Américas, de estaciones de cuarentena animal; de bioterios de países; de laboratorios de diagnóstico veterinario; de Escuelas de Medicina Veterinaria, y de asociaciones profesionales de médicos veterinarios y de asociaciones ganaderas, respectivamente.

**Controversial Nutrition Policy Issues.** Giorgio R. Solimano, M. D., and Sally A. Lederman, Ph. D. (Eds.). Springfield, Illinois, Charles C. Thomas, Publisher, 1983, 442 p. Price: US\$34.74 (ISBN 0-398-04904-1).

The diverse articles in this volume analyze current international issues in public health nutrition. Contributors consider determinants, synthesize information and, where possible, draw conclusions. The book is divided into three sections. *Food, Nutrition and Development* discusses such topics as self-reliant development cash cropping, the green revolution in Brazil and in India, malnutrition in peripheral countries, China's approach to food problems, U.S. food aid as a foreign policy instrument, and drought. *Regulatory Problems in Food and Nutrition* examines the issues of saccharin and polychlorinated biphenyls (PCBs), dietary goals for the US, and RDA's for pyridoxine. The final section, *Nutrition and Disease*, considers the dietary prevention of heart disease, the controversy over large doses of vitamin C, breast feeding versus formula, child nutrition, the role of iron in host-agent intercatations, "benign" parasitosis, and alcohol consumption of the American Indian.

All persons interested in obtaining it should address their request to Charles C. Thomas Publisher, 2600 South First Street, Springfield, Illinois 62717. This must include remittance (US currency) and be accompanied by your name, confirming signature, department, address, city, state and zip code.



# NOTAS

## **APERTURA, EN 1983, DE CURSO CONDUCENTE A MAESTRIA EN SALUD PUBLICA CON PARTICULAR ENFASIS EN NUTRICION** Escuela de Salud Pública, Universidad de Columbia, New York, N. Y., Estados Unidos de América

Este será auspiciado por la citada Escuela, División de Salud Poblacional y Familiar de la Universidad de Columbia, en colaboración con el Instituto de Nutrición Humana. Su propósito es contribuir al estudio de los problemas nutricionales y de salud pública que se enfrentan tanto en los Estados Unidos como en países extranjeros. En términos generales, el programa de estudios contempla la enseñanza, investigación y asistencia técnica en el campo de la nutrición en salud pública.

A partir de este año, el Programa ofrece el grado de M.P.H. con especialización en Nutrición, para la capacitación en nutrición de profesionales procedentes de países desarrollados y subdesarrollados.

Según establecen los requisitos de admisión, los candidatos deben tener una licenciatura cursada en una universidad reconocida, y enviar el puntaje del Graduate Record Examination o su equivalente. Todos los estudiantes cuyo idioma nativo no sea el inglés deberán tomar el examen TOEFL. Se estima altamente deseable también que cuenten con experiencia profesional en materia de nutrición o en un campo relacionado con la salud.

La concesión del título establece que el estudiante complete 45 créditos de estudios académicos, más uno de trabajo práctico. Es factible que un estudiante a tiempo completo se haga acreedor al título en el término de 12 a 15 meses, dependiendo del tipo de trabajo práctico cumplido. Este consiste de cuatro meses de experiencia de campo ajustado a las necesidades e intereses de los candidatos a obtener su M.P.H.

Los cursos requeridos son: Bioestadística, Ciencias Ambientales, Epidemiología, Administración en Salud, y Ciencias Médico-Sociales. Es posible que los estudiantes que no están familiarizados con la terminología médica necesiten cumplir también un curso básico de conocimientos médicos.

Para adquirir el título de M.P.H. en Nutrición, las asignaturas a cursar incluyen: Alimentos y Nutrición; Perspectiva de la Salud Pública; Perspectivas de Temas de Salud en Relación con la Familia y la Población; Nutrición Básica; Nutrición Clínica; Crecimiento y Desarrollo; Nutrición en la Entrega de Servicios de Salud; Programas Comunitarios en Nutrición, y Diseño de Investigación, Interpretación y Análisis.

Los interesados que requieran ayuda financiera deberán dirigirse al Financial Aid Office of the School of Public Health a fin de recabar información sobre becas y préstamos. A los estudiantes extranjeros se aconseja que los arreglos de fondos de estudio se tramiten en los respectivos países de origen, o bien a través de organismos internacionales.

Para mayor información sobre el particular, se recomienda dirigirse a: Giorgio Solimano, M. D., Center for Population and Family Health, Columbia University, 60 Haven Avenue, New York, N. Y. 10032, USA.

**SIMPOSIO SOBRE DIETA Y COMPORTAMIENTO: UNA EVALUACION  
MULTIDISCIPLINARIA**  
Sheraton National Hotel, Arlington, Virginia  
27 a 29 de noviembre de 1984

Este evento se llevará a cabo bajo el patrocinio conjunto de la American Medical Association (Unidad de Nutrición y Alimentos); el International Life Sciences Institute (ILSI), y The Nutrition Foundation, Inc.

Organizado a modo de un foro interdisciplinario, persigue como objetivos: 1. Examinar los datos existentes en cuanto a los efectos de la dieta en el comportamiento. 2. Discutir y evaluar metodologías para evaluar el comportamiento, la ingesta de nutrientes y sus interacciones, y 3. Recomendar estrategias orientadas a mejorar la investigación relacionada con la dieta y el comportamiento.

A grandes rasgos, el programa de actividades contempla los rubros siguientes: efectos de los alimentos y nutrientes en la función cerebral; efectos de los alimentos y nutrientes en el comportamiento; y estrategias a seguir para mejorar la investigación al respecto. Cada uno de estos renglones, por supuesto, ahonda en los temas contemplados.

Asistirán al Simposio médicos, nutricionistas, dietistas, científicos en alimentos, criminólogos, educadores, funcionarios públicos, sociólogos, dentistas, enfermeras, y psicólogos.

Los interesados pueden obtener mayor información al respecto, dirigiéndose a: Diane H. Morris, Ph.D., R. D., American Medical Association, 535 North Dearborn Street, Chicago, Illinois 60610, USA.

**XIII CONGRESO INTERNACIONAL DE NUTRICION**  
Brighton, Inglaterra, Reino Unido  
18 a 23 de agosto de 1985

Este importante Congreso ha sido auspiciado por la Unión Internacional de Ciencias de la Nutrición, y serán los anfitriones los siguientes: The Royal Society y The Nutrition Society del Reino Unido. Actuará como Presidente Sir Kenneth Blaxter

**FRS.** Asimismo, el Comité Ejecutivo lo presidirá el Dr. D. J. Naismith, y estará integrado por otras distinguidas personalidades.

El Brighton Centre es el lugar seleccionado para las sesiones plenarias, sesiones de poster y exhibiciones, y registro, mientras que las sesiones científicas se celebrarán en la Universidad de Sussex, situada a cuatro millas del centro de Brighton. El propio Comité Organizador del Congreso facilitará servicio de transporte a los participantes.

El programa científico hará énfasis en la investigación científica actual de principal significancia, y presentará resultados actualizados en campos de interés del tópico nutrición humana y animal, mediante discursos de fondo, que dictarán autoridades mundiales sobre temas de amplio interés. Además, se desarrollarán diversos simposios, coloquios, y también habrá presentación de comunicaciones originales en forma de posters. Se invita a los interesados el envío de tópicos para el desarrollo de los talleres de trabajo que integrarán grupos de discusiones designados para abordar un problema específico y emitir recomendaciones. Estas serán resumidas por el Presidente y es posible que se publiquen.

Para mayores datos al respecto, se sugiere a los lectores dirigirse a: Dr. M. I. Gurr, c/o Conference Clearway Ltd. Conference House, 9 Pavillion Parade, Brighton BN2 1 RA, U. K.





# TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

VOLUMEN 33

TRIMESTRE JULIO-SEPTIEMBRE 1983

NUMERO 3

Editor: ALFREDO ALVARADO H.  
Asistente Editorial: FLOR ARAYA S.

## CONTENIDO

	Página
<i>Una poliedrosis de Spodoptera frugiperda en Venezuela (en español)</i> . F. Agudelo, M. Romano H. Wassink, R. Cuello de Uzcátegui .....	219
<i>Disponibilidad y contenido de cobre, zinc y manganeso en un ultisol y un inceptisol bajo diferentes niveles de manejo (en español)</i> . R. Serpa, E. Bornemisza .....	223
<i>Utilización de yuca (Manihot esculenta Crantz) en la alimentación de rumiantes: Revisión. I. Composición química, valor alimenticio, toxicidad y acondicionamiento (en francés)</i> . F. Geoffroy, F. Barreto-Velez .....	231
<i>Utilización de yuca (Manihot esculenta Crantz) en la alimentación de rumiantes: Revisión II. Utilización por rumiantes (en francés)</i> . F. Geoffroy, F. Barreto-Velez .....	245
<i>Relaciones fósforo-zinc en tres suelos ácidos de Costa Rica. I. Comportamiento en el suelo (en español)</i> . E. Guzmán, E. Bornemisza .....	257
<i>Relaciones fósforo-zinc en tres suelos ácidos de Costa Rica. II. Absorción de los elementos por tomate en el invernadero (en español)</i> . E. Guzmán, E. Bornemisza .....	265
<i>Respuesta en crecimiento de Cecropia obtusifolia a la fertilización en invernadero (en inglés)</i> . D. L. Hazlett, S. P. Gessel, R. B. Walker .....	271
<i>Tablas de volumen para Pinus caribaea var. hondurensis en la Reserva Forestal La Yeguada, Panamá (en español)</i> . L. A. Ugalde .....	277
<i>Papel de la grasa epicuticular en la adaptación a condiciones de salinidad de Cajanus indicus y Sesamum indicum (en inglés)</i> . G. Gururaja Rao .....	287
<i>Efecto de diferentes poblaciones de maíz (Zea mays L.) en la producción de raíces de yuca (Manihot esculenta Crantz) al cultivarlos en asocio. II. Aspectos económicos (en español)</i> . R. Meneses, L. A. Navarro, R. A. Moreno .....	291
<i>Influencia de los portadores de nitrógeno, la luz y la temperatura sobre la composición de aminoácidos libre en plantas de arroz (en inglés)</i> . M. S. Fernandes .....	297
<i>Efecto de la inoculación de frijol en zonas de temporal en Durango (en español)</i> . M. J. Quintero, S. M. González, C. Calzada, M. A. Castillo, M. Peña .....	303
<i>Efecto de la fertilización nitrógeno-fosfatada sobre el crecimiento otoño-invernal y la absorción de fósforo en tepes de un pastizal natural (en español)</i> . R. Mendoza, D. H. Cogliatti, M. B. Collantes, M. Kade .....	311
<i>Efecto de la estructura del follaje sobre el crecimiento y desarrollo de la yuca (Manihot esculenta Crantz) (en inglés)</i> . T. Ramanujam, P. Indira .....	321
<i>Comunicaciones</i> .....	327
<i>Un nombre para el híbrido de Digitgrass de la Universidad de Florida (en inglés)</i> . D. W. Hall, S. C. Schank .....	327
<i>Determinación del período crítico de competencia de las malezas con el frijol (Phaseolus vulgaris L., 'Muy Finca' en el invierno (en español)</i> . L. Cerna Bazán .....	328
<i>Influencia del clima sobre el rendimiento de vainas y el crecimiento de mani (en inglés)</i> . R. Kurlandaivelu, Y. B. Morachan .....	332
<i>Efecto de las condiciones de almacenamiento y el tiempo de almacenamiento sobre la calidad de los huevos en Nigeria (en inglés)</i> . O. C. Onwudike, E. B. Sonaiya .....	335
<i>Notas y comentarios</i> .....	264-302-304
<i>Reseña de libros</i> .....	242-339



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

#### **ENTIDADES PATROCINANTES**

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

**Fundación CAVENDES (Caracas, Venezuela)**

**BRANCA (Caracas, Venezuela)**

**Fundación Polar (Caracas, Venezuela)**

**F. Hoffman — La Roche & Co. (Basilea, Suiza) (PRODUCTOS  
ROCHE)**

**Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutri-  
ción y Salud (INCIENSA) (Tres Rfos, Costa Rica)**

**Asociación Americana de Soya (México, D. F., México).**



## 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. Alfredo Lam-Sánchez – Presidente**  
**Dr. Sergio Valiente – Vicepresidente**  
**Dr. Helio Vannucchi – Secretario**  
**Dr. José Fernando Durigán – Tesorero**  
**Dr. Cecilio Morón – Vocal**  
**Dr. Alvaro Oscar Campana – Vocal**  
**Dr. Víctor Valverde – Vocal**  
**Dra. Elisa M. Quintana – Vocal**  
**Dra. Wanda I. Torres de Rivera – Vocal**  
**(Consejo Directivo 1983-1985)**

**Dirección actual hasta el 31 de diciembre de 1985**  
**Departamento de Fitotecnia**  
**Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias**  
**Universidade Estadual Paulista (UNESP)**  
**14. 870 – Jacoticabal – São Paulo, Brasil**

## **DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION**

**Integrado por miembros de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición**  
**Editor General: Dr. Ricardo Bressani**  
**Editor Asistente: Dr. J. Edgar Braham**  
**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 1984-1985**

<b>Dr. José Aranda-Pastor</b>	<b>Dr. Werner G. Jaffé</b>
<b>Dr. Héctor Araya</b>	<b>Dr. Miguel A. Guzmán</b>
<b>Dra. Julia Araya</b>	<b>Dr. Franco M. Lajolo</b>
<b>Dr. Guillermo Arroyave</b>	<b>Dr. Alfredo Lam-Sánchez</b>
<b>Dr. Antonio Bacigalupo</b>	<b>Dr. Reynaldo Martorell</b>
<b>Dr. José Belizán</b>	<b>Dr. Leonardo Mata</b>
<b>Dr. Héctor Bourges</b>	<b>Dr. Luis A. Mejía</b>
<b>Dr. J. Edgar Braham</b>	<b>Dra. Nelly Pak</b>
<b>Dr. Ricardo Bressani</b>	<b>Dr. Oscar Pineda</b>
<b>Dr. Adolfo Chávez</b>	<b>Dra. María E. Sambucetti</b>
<b>Dr. José Félix Chávez</b>	<b>Dr. Juan Claudio Sanahuja</b>
<b>Dra. Rebeca Carlota De Angelis</b>	<b>Dr. Nelson de Souza</b>
<b>Dr. Hernán Delgado</b>	<b>Dr. Víctor Valverde</b>
<b>Dr. J. E. Dutra de Oliveira</b>	<b>Dr. Emilio Vargas</b>
<b>Dr. Luiz G. Elfas</b>	<b>Dr. Enrique Yáñez</b>

# ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA  
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXXIV

JUNIO 1984

No. 2

## CONTENIDO

	Página
<b>EDITORIAL</b> .....	285
<b>ARTICULOS GENERALES</b>	
Comportamento das polifenoloxidases em alimentos. — <i>Maria Antonia Martins Galeazzi</i> .....	289
<b>TRABAJOS DE INVESTIGACION</b>	
<b>NUTRICION HUMANA</b>	
Zinco sérico em crianças brasileiras de famílias de baixa renda. — <i>Carmen Marino Donangelo e Carlos Eduardo Assenedo</i> .....	290
Influencia de la nutrición en el desarrollo óseo del niño. — <i>María Luisa Alcázar, Jorge Alvear y Santiago Musso</i> .....	298
Longitudinal study on head circumference of Pakistani infants in different socioeconomic groups. — <i>Saeed A. Nagra and Abrar H. Gilani</i> .....	308
<b>NUTRICION EXPERIMENTAL</b>	
Valor nutritivo de dietas elaboradas a base de tubérculos y leguminosas consumidas en tres proporciones diferentes. — <i>Walter da S. Jorge João, Luiz G. Elias y Ricardo Bressani</i> .....	315
Efectos del déficit de yodo durante la vida intrauterina y postnatal precoz en la síntesis de ADN en hígado, y encéfalo de ratas. — <i>Isabel Fábrega, María Múnquez, Laura Letta, Abraham Zvaighajt y Santiago Musso</i> ..	321
Ernutación biológica, en ratas y en humanos, de un producto lácteo sin lactosa, y de una fórmula proteínica de soya para uso en la desnutrición proteínico-energética. — <i>Angela Sotelo, Miguel Hernández y Silvestre Frenk</i> .....	334
<b>BIOQUIMICA NUTRICIONAL</b>	
Padronização da técnica de radioimunoensayo com duplo anticorpo para determinação de hormônio de crescimento em plasma e hipófise de rato. — <i>Pedro Achilles, Antonio Carlos de Carvalho Carneiro, Celso Guimarães Júnior, e Roberto Carlos Burini</i> .....	343
<b>CIENCIAS DE ALIMENTOS</b>	
Calidad proteínica de productos comerciales de proteína texturizada de soya y de mezclas con carne. — <i>Luiz G. Elias, J. Edgar Braham, Delia A. Navarrete y Ricardo Bressani</i> .....	355
The complementation effects on dietary protein of ungerminated and germinated mung bean ( <i>Phaseolus aureus</i> ) with rice. — <i>Mohd Ismail Noor, Roberto Gómez Brenes, Ricardo Bressani and Luiz G. Elias</i> .....	366
Ensayo acelerado de almacenamiento para el estudio de la pérdida de valor nutritivo de las proteínas de harina de porotos ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ). — <i>M. P. Buera, A. M. R. Pilosof y G. B. Bartholomai</i> .....	376
Flora bacteriana del paté de hígado en tres etapas de su elaboración. — <i>Erika Gesche y Tamara Ordóñez</i> .....	384
<b>ESTUDIOS DIETETICOS</b>	
Relación entre ingreso familiar, gasto y consumo de alimentos en zonas urbanas marginadas de Sonora, México. — <i>Pablo Wong, Inocencio Higuera y Mauro E. Valencia</i> .....	391
<b>NUEVOS LIBROS</b> .....	405
<b>NOTAS</b> .....	409
<b>CONTENIDO DE LA REVISTA TURRIALBA, Vol. 34, No. 3, 1983</b> .....	413
<b>INFORMACION PARA LOS AUTORES</b> .....	417