

ARCHIVOS
LATINOAMERICANOS
DE
NUTRICION



CONTINUACION DE
ARCHIVOS VENEZOLANOS DE NUTRICION



ORGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD
LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XIX

DICIEMBRE 1969

Nº 4

Archivos Latinoamericanos de Nutrición es editado como órgano oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, para la divulgación de conocimientos en el campo de la alimentación y de la nutrición pura y aplicada, en toda el área geográfica de la América Latina. En sus páginas se acogerán manuscritos en español, inglés, portugués y francés, tanto de miembros como de aquellos que no sean miembros de la Sociedad, y de cualquiera de las siguientes categorías: 1. Artículos de investigación original; 2. Artículos de revisión bibliográfica; 3. Artículos de nutrición aplicada; 4. Cartas al Editor (discusión y aclaración de conceptos científicos con base en hechos experimentales u observaciones, máximo 3 páginas).

El precio de la suscripción es de U.S. \$ 6.00 por volumen, incluyendo correo.

Publicado con la ayuda económica del Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela y de la Research Corporation, New York.

Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Apartado 2049, Caracas, Venezuela.

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA

SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

Vol. XIX

DICIEMBRE 1969

Nº 4

SUMARIO

Pág.

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Effect of pH on the free and total gossypol and nutritive value of cottonseed and protein concentrate.— <i>Ricardo Bressani, Luiz G. Elías and Américo Porras</i>	367
Utilización de la harina de tubérculo de yuca (<i>Manihot sculenta</i>) en raciones iniciadoras para pollos de engorde.— <i>Juan de J. Montilla S., Carmen Rosa Méndez y Herman Wiedenhofer</i>	381
Desnutrición experimental en la rata.— <i>Julia Araya, Gonzalo Donoso y María Angélica Tagle</i>	389
Estudio sobre conservación y aceptabilidad de galletas de leche completa.— <i>Franz Pardo Téllez y Obdulio Mora Parra</i>	405
Dilution of proteins with nonessential amino acids and inorganic nitrogen.— <i>J. Edgar Braham and Ricardo Bressani</i>	421
The effect of malnutrition on the inflammatory response. As exhibited by the development of the granuloma pouch of the rat after the inoculation of bacteria.— <i>Patricia E. Taylor, Carlos Tejada and Margarita Sánchez</i>	433
BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA	463
LIBROS NUEVOS	469
NOTAS	475
<i>Indice general del Vol. XIX</i>	477
<i>Indice por autores</i>	479
<i>Indice por materias</i>	483

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

Vol. XIX

DICIEMBRE 1969

Nº 4

CONTENTS

Pág.

RESEARCH PAPERS:

Effect of pH on the free and total Gossypol and nutritive value of cottonseed and protein concentrate.— <i>Ricardo Bressani, Luiz G. Elías and Américo Porras</i>	367
Cassava root meal in starting ration for broilers.— <i>Juan J. Montilla, Carmen Rosa Méndez y Herman Wiedenhofer</i>	381
Experimental malnutrition in the rat.— <i>Julia Araya, Gonzalo Donoso y María Angélica Tagle</i>	389
Acceptability and shelf life tests of whole milk biscuits.— <i>Franz Pardo Téllez y José Obdulio Mora Parra</i>	405
Dilution of proteins with nonessential amino acids and inorganic nitrogen.— <i>J. Edgar Braham and Ricardo Bressani</i>	421
The effect of malnutrition on the inflammatory response. As exhibited by the development of the granuloma pouch of the rat after the inoculation of bacteria.— <i>Patricia E. Taylor, Carlos Tejada and Margarita Sánchez</i>	433
LATIN AMERICAN BIBLIOGRAPHY	463
NEW BOOKS	469
NOTES	475
<i>General Index of Volume XIX</i>	477
<i>Author Index</i>	479
<i>Subject Index</i>	483

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Effect of pH on the free and total Gossypol and nutritive value of cottonseed and protein concentrate *

RICARDO BRESSANI², LUIZ G. ELÍAS³ AND AMÉRICO PORRAS⁴
Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP),
Guatemala, C. A.

SUMMARY

Studies were carried out to determine the effect of pH treatment on the free and total gossypol, epsilon amino lysine and nutritive value of cottonseed flour in chick and rats. Acid pH increased free gossypol and decreased total gossypol from the value found in cottonseed flour at pH 7. Alkaline pH, on the other hand, tended to decrease free and total gossypol in cottonseed flour and kernels. The increase in free gossypol at acid pH was not due to hydrolysis of bound gossypol or to pigments extracted by acetone-water extracts of the flour. The increase was only observed when flour or meal was treated. The decrease at basic pH value was due to destruction of gossypol. Biological tests with rats and chicks indicated lower weight gains which were due not to the increased gossypol detected but to a decrease in feed intake, conclusion reached from pair feeding studies and studies in which neutral flours were fed with added free gossypol. The above findings were discussed in terms of the pH changes in the gastro intestinal tract.

INTRODUCTION

The main factor limiting the more extensive use of cottonseed protein as flour or as a meal in human and animal feeding

* INCAP Publication I-504

1 This investigation was supported by a grant from the W. K. Kellogg Foundation.

2 Head, Division of Agricultural and Food Science, Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP).

3 Scientist, same Division.

4 Mr. Porras worked at INCAP as a research student with a fellowship granted by the National School of Agriculture in Bárcenas, Guatemala.

Recibido: 12-5-69

is gossypol (1-4). In spite of this, protein-rich foods containing 38% cottonseed flour have been developed and are being manufactured commercially to fight protein malnutrition (5-7). This mixture has been tested extensively (8, 9) and adverse physiological effects have never been observed in animals or humans. However, more knowledge of the behavior and fate of gossypol is needed in order that the utilization of this protein source may be increased to feed larger segments of undernourished populations.

Previous studies indicated that the addition of calcium ions as calcium hydroxide decreased free gossypol (10). Furthermore, iron addition as ferrous sulfate also decreased free gossypol (10). The simultaneous addition of both had a synergistically decreasing effect, shown both in *in vitro* (10) and *in vivo* studies with swine (11). With respect to the effect of calcium hydroxide addition on gossypol content, it was found that alkaline pH would also decrease free gossypol levels (10). In this study, therefore, the behavior of gossypol in cottonseed flour treated with solutions of different hydrogen ion concentration was investigated. Furthermore, the effect of this treatment on its nutritive value and toxicity was evaluated in biological trials with rats and baby chicks.

MATERIALS AND METHODS

Different samples of cottonseed protein, as kernel, flour and meal were used. Decorticated cottonseed kernels were obtained from local oil meals. The material was ground to pass 60 mesh in a micro Wiley mill before treatment. The flour and meal were obtained from a pre-press solvent extraction and press mill, respectively.

For the pH treatment studies, 20 grams of each sample were suspended and mixed in 100 cc of distilled water and the pH adjusted from 1 to 12 with standard hydrochloric acid or sodium hydroxide solutions. After adjusting the pH of the suspension to the desired value, the material was freeze-dried. The dried sample was again ground and analyzed for free and total gossypol by the AOCS Official Methods (12). Some of the extracts were placed in a DK4 Beckman recording spectrophotometric for the determination of maximum absorption curves. The samples were also analyzed for their free epsilon

amino lysine content by the method of Conkerton and Frampton (13).

For the biological tests in chicks and rats, 4 Kg batches of cottonseed flour (50% protein) were treated at pH 1, 5 and 7. After treatment the flours were freeze-dried and used to prepare diets made of 20% cottonseed flour, 4% mineral mixture (14), 1% cod liver oil, 5% vegetable oil and corn starch to adjust to 100%. All diets were supplemented with 5 ml of a complete vitamin mixture (15) per 100 g of diet, for the studies in weanling rats. In the studies with chicks, diets containing 40% cottonseed flour, 3% mineral mixture⁵, 0.5% cod liver oil, corn starch to 100% and 1 ml of a complete vitamin mixture for 100 g of diet were used (16).

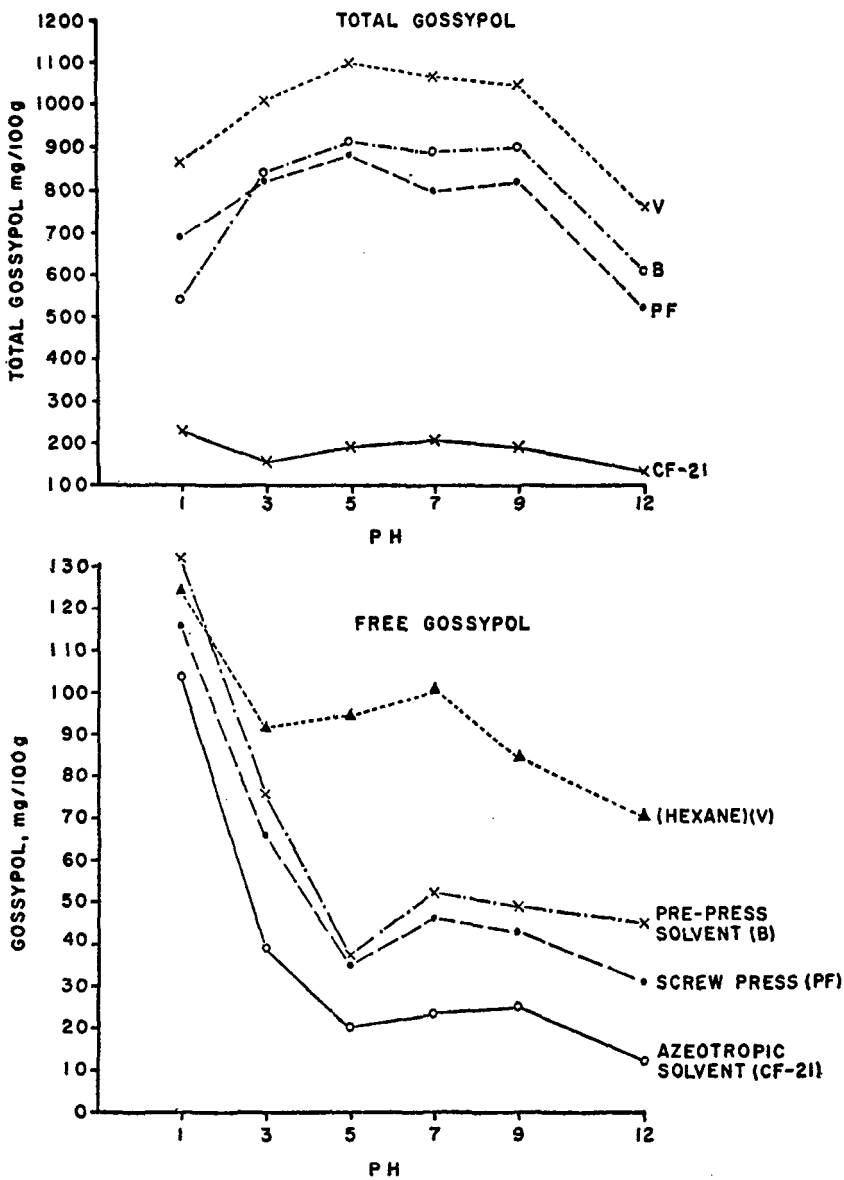
In the rat studies, 6 animals per treatment were used and placed in individual all-wire screen cages with raised screen bottoms. The changes in weight and food consumption were measured every week for 28 days. A pair-feeding experiment including similar diets, was also carried out. The food intake of the control cottonseed flour was adjusted to the food intake of the control cottonseed flour (50% protein pre-press solvent extracted) was adjusted to the food intake of the group eating the least diet.

In the chick experiments, eight one-day-old chicks were used per group and each treatment was replicated twice. They were placed in battery brooders with controlled heat. The birds were fed *ad libitum* and changes in weight and feed consumed were recorded weekly for a total of 28 days.

RESULTS

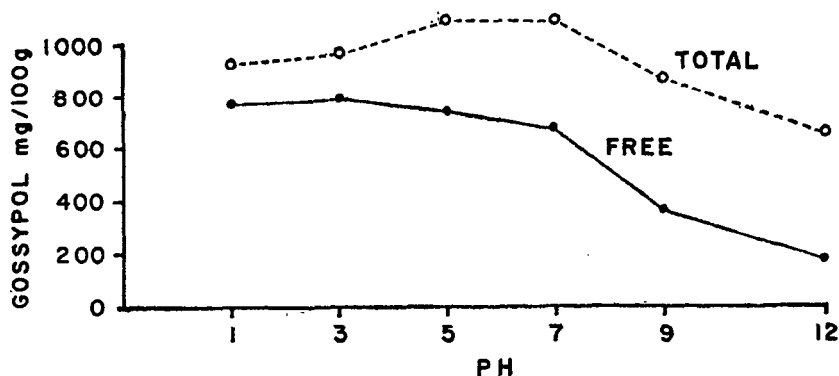
Figure 1 shows the results for free gossypol in several samples treated at different pH values. It can be seen that, at pH 1, free gossypol content is significantly higher than the value at pH 6, which is close to the pH of the control suspension. As the pH shifts to the alkaline side, a minimum value is found at pH 5, which increases at pH 7, to decrease again at pH 12. The decrease at pH 12 is, however, not as pronounced as that found in previous experiments with calcium hydroxide. The affect of changing the pH was similar for all cottonseed

⁵ 33% Calcium carbonate, 33% bone meal, 33% iodized salt, 1% micro element mixture.



INCAP 69-256

Fig. 1: Effect of pH treatment on free and total gossypol content of several cottonseed flours.



INCAP 69-255

Fig. 2: Effect of pH treatment on gossypol content of cottonseed kernels.

products and for cottonseed materials containing from 1.1 g to 0.021 g/100 g of free gossypol.

Figure 1 also shows the effect of the pH treatment on total gossypol in the same samples. In this case, acid pH gave lower total gossypol content than neutral pH, while the alkaline pH treatment yielded total gossypol concentrations slightly lower than those on the acid side of the pH scale. Maximum absorption curves of extracts of the samples treated at different pH values were identical, except with respect to concentration, which is to be expected in view of the increase in free gossypol. However, none of the extracts showed more than one maximum, which for free gossypol was 360 m μ and for the aniline derivative 440 m μ . If it is a precursor substance of gossypol, it does not absorb between 350 and 600 m μ . Figure 2 shows the changes in free and total gossypol with respect to pH in cottonseed kernels. In this case both free and total gossypol decreased as pH became alkaline.

Table I shows the results of experiments designed to test the possibility of hydrolysis on bound gossypol. Samples were treated at pH 1 and 12 and held for 1, 5, 10, 15, 20 and 30 minutes at room temperature. They were then freeze-dried and analyzed for free gossypol. As can be seen, acid pH increased free gossypol, but longer periods did not cause an increase in free and total gossypol. At pH 12, there is a slight decrease

TABLE I

EFFECT OF HOLDING TIME AT pH 1 OR 12 ON THE FREE AND TOTAL GOSSYPOL CONTENT OF COTTONSEED FLOUR

Treatment	Gossypol		Treatment	Gossypol			
	Free mg%	Total %		Free mg%	Total %		
None	54	1.15	None	50	0.89		
Moisted	40	1.07	Moisted	50	0.92		
Held at pH 1 for minutes	1	97	1.12	Held at pH 12 for minutes	1	43	0.83
	5	95	0.77		5	48	0.84
	10	90	0.90		10	46	0.85
	15	99	0.77		15	53	0.82
	20	100	0.95		20	42	0.82
	30	94	1.17		30	45	0.79

TABLE II

EFFECT OF pH OF THE AQUEOUS ACETONE EXTRACTS OF COTTONSEED FLOUR ON FREE GOSSYPOL CONTENT

EXPERIMENT No. 1		EXPERIMENT No. 2	
pH of 70% aqueous acetone extract	Free Gossypol mg%	pH of 70% aqueous acetone extract	Free Gossypol mg%
1	75	1	72
3.2	74	3	73
5.3	74	4.8	78
7.4	73	7.0	74
8.8	72	9.0	70
9.5	71	10.0	55
12.5	44	12.3	42
Control	75	Control	75

TABLE III

CHANGES IN FREE AND TOTAL GOSSYPOL AND IN EPSILON-AMINO LYSINE WITH RESPECT TO pH OF COTTONSEED FLOUR

pH Treatment	GOSSYPOL		ϵ -Amino Lysine %
	Free g%	Total g%	
1.5	0.080	0.663	1.614
3.5	0.038	0.717	1.604
5.0	0.021	0.728	1.590
6.0	0.027	0.765	1.690
6.3 (Control)	0.030	0.770	1.687
7.0	0.033	0.747	1.650
8.0	0.031	0.787	1.557
10.0	0.029	0.684	1.595
11.5	0.024	0.435	1.562

in both free and total gossypol although longer periods of time did not diminish the values any further.

Table II summarizes the results of studies carried out to find out if the effect of pH was effective when the 70% aqueous acetone extracts, rather than the cottonseed flour, were treated at various pH. Except for low values in free gossypol between pH values 10.0 - 12.5, other pH treated extracts contained similar concentrations of free gossypol as the control extract. To learn if available lysine of the treated cottonseed flour was being affected by the pH treatment, a sample of cottonseed flour was treated at various pH. The results of the study are shown in Table III. Free and total gossypol varied as before although the changes were not as marked. The epsilon amino-lysine values seem to follow a similar trend, with respect to pH, to the one followed by free gossypol, with higher values occurring with high free gossypol and low values occurring with low levels of free gossypol.

TABLE IV

EFFECT OF pH TREATED COTTONSEED FLOUR ON ITS UTILIZATION BY RATS AND BABY CHICKS
(AD LIBITUM)

TREATMENT	R A T S			C H I C K S	
	Avg. weight gain, g. ^c	F. E.	P.E.R.	Avg. weight gain, g ^d	F. E.
Cottonseed flour ^a	150	3.13	1.85	228	1.82
Cottonseed flour ^b	152	3.01	1.80	176	2.35
pH 1-2	126	3.22	1.94	88	2.68
3	140	3.16	1.88	182	2.08
5	153	3.01	2.04	233	1.93
7	144	3.23	1.83	199	2.42
11-12	133	3.55	1.62	176	2.36

^a Cottonseed flour without any treatment.

^b Cottonseed flour - wetted - dried.

^c Average initial weight: 49 g.

 % protein diets: 17.0.

^d Average initial weight: 63 g.

Table IV presents the results of rat and chick experiments carried out to learn if the higher free gossypol values found in acid treated samples would have an effect on the growth of the animals. As can be seen, lower weight gains were obtained in animal consuming samples treated at pH 1 than in those consuming sample treated at pH 7. The effect was more marked in chicks than in rats, reaching statistical significance. PER values in rats were similar regardless of pH. F. E. followed the trend of the weight gain in the baby chicks. Feed intake decreased in the acid treatment samples. Paired feeding studies in rats, presented in Table V showed, however, that the lower weight gain in the rat fed acid samples was due to a lower food intake. Table VI shows the results of an additional experiment in which neutral flours containing gossypol added to give values similar to flours treated at pH 1 were tested.

The results were essentially the same as previously shown, with flour treated at pH 1.5 giving the lower weight gain and with lower food intake, although with a PER essentially the same as that in other groups. Apparently, the added gossypol did not affect the quality of the samples or the feed intake.

TABLE V
EFFECT OF TREATED COTTONSEED FLOUR ON ITS UTILIZATION
BY RATS

pH Treatment	Protein in diet %	Avg. final utilization g	Avg. food intake g	P. E. R.
Control ^a	20.9	103	307	1.61
Control ^b	20.7	106	307	1.67
pH 1.5	21.4	100	296	1.58
pH 7	21.2	105	308	1.62
pH 12	19.5	102	309	1.69

^a Cottonseed flour not treated.

^b Cottonseed flour. Controlled feeding group.

^c Controlled feeding.

TABLE VI
EFFECT OF ADDING GOSSYPOL TO NEUTRAL COTTONSEED FLOURS

Treatment	Protein in diet %	Avg. weight gain ^c g	Avg. food consumed g	P.E.R.
Cottonseed flour + gossypol ^a	22.7	159	448	1.56
Cottonseed flour + gossypol ^b	21.9	158	429	1.68
pH 1.5 CSF	21.4	118	355	1.55
pH 7.0 CSF + gossypol ^d	21.6	167	453	1.71
pH 12 CSF + gossypol ^d	20.4	154	437	1.73

^a Cottonseed flour without any treatment.

^b Cottonseed flour - wetted - dried.

^c Average initial weight: 48 g.

^d Gossypol added in the form of unprocessed kernels in levels varying between 1.9 - 2.3% of the diet. It had a free gossypol control of 700 mg/100 g of flour.

DISCUSSION

The results presented, clearly indicated that acid treatment of cottonseed flours causes an increase of free gossypol, while alkaline treatment causes a decrease in the concentration of the pigment.

The increase in free gossypol could be explained on the basis of the hydrolysis of the gossypol, which has reacted with sugars (4) but not with lysine during the processing of cottonseed. This is suggested by the experiments in which the pH was maintained constant up to 30 minutes without further increases in free gossypol beyond that observed at 0 time. That the increase was not due to other pigments reacting as gossypol is indicated by the results obtained when an aqueous

acetone extract of cottonseed flour was adjusted to pH 1 and the results compared to same extracts but not treated. Furthermore, whatever the effects of pH are, they are effective only when the cottonseed meal or flour are treated.

On the other hand, the effect of the alkaline pH treatment which cause a decrease in free gossypol is probably due to destruction of the pigment. It has been shown that alkaline pH destroys gossypol (10, 17). Furthermore, these results corroborate previous findings in which a cottonseed flour containing diet upon treatment with calcium hydroxide or alkaline pH showed lower levels of free gossypol (10).

This procedure could, therefore, be used advantageously to produce a cottonseed flour with lower levels of free gossypol. It would involve suspending the cottonseed flour at an alkaline pH and passing air through it. This treatment will destroy the free gossypol. The next step would require neutralization, followed by washing and drying of the product. Likewise, the increase in free gossypol could also be used as a means of producing cottonseed flours with less gossypol. In this case, after treating the material to pH 1, the sample can be washed with acetone added to give a 70% solution. This treatment would be followed by washing and drying. This procedure could be better, than the alkaline treatment, because of the cottonseed suspension at acid pH is held for at least 30 minutes, total gossypol would also decrease, as indicated by the results presented in this paper. It would be necessary to remove excess H⁺ or OH⁻ ions since the tests with animals indicated that flours treated at pH 1 or pH 12 were not well consumed by either chicks or rats.

The results presented have some practical implications for the utilization of cottonseed flour as food. During protein digestion at the stomach level, the reaction is acid as a result of hydrochloric acid excretion. This implies that free gossypol in the stomach is higher than that which was ingested with the flour. This acid-formed gossypol, together with the gossypol ingested, could raise the total to toxic levels or a least to levels sufficiently high to cause some alteration in the utilization of the food by the animal. As food moves along the intestine, the pH will shift to the alkaline side, which might destroy some of the gossypol ingested. These possibilities are being studied *in vivo* and will be reported in the near future.

In studies carried out with dogs fed cottonseed flour (18), and under which gossypol balances were computed, it was found that more free gossypol appeared in the feces than that ingested. Total gossypol in feces, however, balanced total gossypol intake. The findings of the present study could be used to explain the results with dogs (18), and also to explain the toxic effects of gossypol. Since acid pH increases free gossypol part is excreted, explaining the higher free gossypol levels in feces, and part is absorbed explaining the toxic effects of the pigment.

RESUMEN

Efecto del pH sobre el contenido de gossipol libre y total y sobre el valor nutritivo de la harina de semillas de algodón

Se realizaron estudios en pollos y ratas, encaminados a determinar el efecto del tratamiento del pH sobre el contenido de gossipol libre y total, grupos epsilon amino libres de la lisina, y valor nutritivo de la harina de semilla de algodón.

El pH ácido incrementó el gossipol libre e hizo disminuir el gossipol total de los valores encontrados en la harina de semilla de algodón al usarse un pH de 7. En cambio, el pH alcalino tendió a reducir el gossipol libre y total de la harina y de la almendra de la semilla de algodón. El aumento en gossipol libre observado con el pH ácido no se debió a hidrólisis del gossipol ligado a los pigmentos extraídos de la harina con extractos de acetona y agua. El incremento únicamente se observó cuando la harina o torta habían sido sometidas a tratamiento. El descenso al valor básico del pH se debió a la destrucción del gossipol.

Las pruebas biológicas efectuadas en ratas y pollos señalaron menores incrementos ponderales que no se debían al mayor contenido de gossipol determinado, sino a una menor ingesta de alimento. Se llegó a esta conclusión con base en estudios pareados de alimentación y a partir de ensayos en que los animales consumieron harinas neutras con el agregado de gossipol libre. -

Se comentan los hallazgos citados en términos de los cambios de pH en el tracto gastrointestinal.

BIBLIOGRAPHY

- (1) Hale, F., C. M. Lyman & H. A. Smith.—Use of cottonseed meal in swine rations. Texas Agricultural Experiment Station, 1958. 14 p. (Bull. 898)
- (2) Kornegay, E. T., A. J. Clawson, F. H. Smith & E. R. Barrick.—Influence of protein source on toxicity of gossypol in swine rations. *J. Animal Sci.*, 20: 597-602, 1961.
- (3) Clawson, A. J., F. H. Smith & E. R. Barrick.—Accumulation of gossypol in the liver and factors influencing the toxicity of injected gossypol. *J. Animal Sci.*, 21: 911-915, 1962.

- (4) Altschul, A. M., C. M. Lyman & F. H. Thurber.—Cottonseed meal. In: *Processed plant protein foodstuffs*. A. M. Altschul, Ed. New York, Academic Press, 1958, p. 469-534.
- (5) Bressani, R., L. G. Elías, A. Aguirre & N. S. Scrimshaw.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. III. The development of INCAP Vegetable Mixture Nine. *J. Nutrition*, 74: 201-208, 1961.
- (6) Bressani, R., J. E. Braham, R. Jarquín & L. G. Elías.—Mezclas de proteínas vegetales para consumo humano. IX. Evaluación del valor nutritivo de las proteínas de la mezcla vegetal INCAP 9 en diversos animales de experimentación. *Arch. venezol. Nutrición*, 12: 229-244, 1962.
- (7) Scrimshaw, N. S., M. Béhar, D. Wilson, F. Viteri, F. Arroyave & R. Bressani.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. V. Clinical trials with INCAP Mixtures 8 and 9 and with corn and beans. *Am. J. Clin. Nutrition*, 9: 196-205, 1961.
- (8) Bressani, R., J. E. Braham, L. G. Elías & S. G. de Zaghi.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. XII. Biochemical observations on rats fed INCAP Vegetable Mixture Nine and animal proteins. *Can. J. Biochem.*, 42: 631-639, 1964.
- (9) Bressani, R., L. G. Elías & N. S. Scrimshaw.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. VIII. Biological testing of INCAP Vegetable Mixture Nine in rats. *J. Food Sci.*, 27: 203-209, 1962.
- (10) Bressani, R., L. G. Elías, R. Jarquín & J. E. Braham.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. XIII. Effect of cooking mixtures containing cottonseed flour on free gossypol content. *Food Tech.*, 18: 95-99, 1964.
- (11) Jarquín, R., R. Bressani, L. G. Elías, C. Tejada, M. González & J. E. Braham.—Effect of cooking and calcium and iron supplementation on gossypol toxicity in swine. *J. Agr. Food Chem.*, 14: 275-279, 1966.
- (12) American Oil Chemists' Society. *Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society*. 2nd. ed., Chicago, 1945-1950.
- (13) Conkerton, E. J. & V. L. Frampton.—Reaction of gossypol with free ϵ -amino groups of lysine in proteins. *Arch. Biochem. Biophys.* 81: 130-134, 1959.
- (14) Manna, L. & S. M. Hauge.—A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, 202: 91-96, 1953.
- (15) 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.
- (16) Bressani, R., A. Aguirre & N. S. Scrimshaw.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. II. The nutritive value of corn, sorghum, rice and buckwheat substituted for lime-treated corn in INCAP Vegetable Mixture Eight. *J. Nutrition*, 69: 351-355, 1959.
- (17) Kemmerer, A. R., B. W. Heywang & M. G. Vavich.—Effect of *Sterculia foetida* oil on gossypol discoloration in cold storage eggs and the mechanisms of gossypol discoloration. *Poultry Sci.*, 40: 1045-1048, 1961.
- (18) Bressani, R., L. G. Elías & J. E. Braham.—All-vegetable protein mixtures for human feeding. XV. Studies in dogs on the absorption of gossypol from cottonseed flour-containing vegetable protein mixtures. *J. Nutrition*, 83: 209-217, 1964.

Utilización de la harina de tubérculo de yuca (*Manihot sculenta*) en raciones iniciadoras para pollos de engorde

JUAN DE J. MONTILLA S.¹, CARMEN ROSA MÉNDEZ²
Y HERMAN WIEDENHOFER²

RESUMEN

Se realizó un experimento para medir el efecto que sobre el peso corporal, eficiencia alimenticia y costo del alimento por kilogramo de pollo producido tiene la incorporación de la harina de yuca a niveles de 0; 15 y 30% en raciones para pollos de engorde.

Los pollos, alojados en baterías, recibieron las dietas experimentales desde un día de nacidos hasta las seis semanas de edad.

De los resultados se concluye que la harina de yuca secada al sol sustituye favorablemente al maíz a niveles de hasta el 30% en raciones iniciadoras para pollos de engorde con respecto a incremento de peso y costo del alimento para producir un kilogramo de pollo.

INTRODUCCION

En Venezuela existen serios problemas en relación con el componente energético de las raciones para los animales domésticos. La fuente energética por excelencia utilizada en raciones para aves ha sido el maíz. Este presenta dos dificultades: 1) competencia entre la población humana y los animales

1 Sección de Producción Animal. Centro de Investigaciones Veterinarias. Ministerio de Agricultura y Cría y Profesor de la Cátedra de Nutrición Animal en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.C.V.

2 Sección de Producción Animal. Centro de Investigaciones Veterinarias. Ministerio de Agricultura y Cría.

Recibido: 11-6-69

domésticos en su consumo, y 2) el bajo rendimiento por hectárea que se registra en el país. Hoy en día se recurre a importaciones masivas de trigo para compensar el déficit de maíz.

La yuca, con su elevada producción y su alto contenido de energía fácilmente utilizable, pudiera ser un sustituto, al menos parcial, de los granos de los cereales en los alimentos para aves.

La producción de maíz y yuca por hectárea para el año 1967 fue en el país de 1.237 y 12.720 Kg., respectivamente (1), que en materia seca representa 1.051,5 Kg. para el maíz y 4.452 Kg. para la yuca. Ha sido reportada (2) una serie de variedades de yuca de alto rendimiento, entre las cuales destaca la 2184 con 124,9 toneladas por hectárea y 32,5 por ciento de materia seca total. Esto da una idea de las grandes posibilidades de incrementar el rendimiento de yuca por hectárea.

La composición química proximal de las raíces frescas de yuca varía dentro de los siguientes rangos: agua, de 55,5 a 70,3%; proteína cruda, de 0,7 a 2,3%; grasa cruda, de 0,1 a 0,7%; fibra cruda, de 0,8 a 6,5%; ceniza, de 0,5 a 4,0%, y extracto libre de nitrógeno, de 23,0 a 41,5% (3).

En el país (4) se han obtenido los siguientes valores de análisis proximal para la harina de yuca preparada de tubérculos sin corteza : agua, 13,31%; grasa, 0,50%; proteína, 1,80%, celulosa, 1,60%; glúcidos, 81,20%, y ceniza, 1,60%.

En relación a la digestibilidad de las diferentes fracciones de la harina de tubérculo de yuca en aves, han sido reportados los valores siguientes: proteína cruda, 75%; grasa cruda, 70%; fibra cruda, 55%, y extracto libre de nitrógeno, 99% (5).

Trabajos realizados por varios investigadores (5, 6, 7 y 8) indican que la harina de yuca puede incorporarse a raciones para pollos en crecimiento a niveles de hasta un 40% sin efectos nocivos para la salud, pero reportan que a niveles superiores al 10% se observa una depresión del crecimiento. Se sugiere (5) que este efecto depresor puede deberse a la presencia de restos de ácido cianhídrico en la harina de tubérculo de yuca utilizada.

El presente trabajo se orienta a estudiar a qué nivel es posible utilizar la harina integral de raíz de yuca como sustituto de los granos de los cereales en raciones iniciadoras para pollos de engorde.

MATERIALES Y METODOS

La harina integral de tubérculo de yuca se preparó picando los tubérculos intactos en una picadora de pasto estacionaria y secada al sol durante un período aproximado de 36 horas. El producto así obtenido fue molido en un molino de martillo. La harina de yuca utilizada tenía la siguiente composición química proximal, base seca: proteína cruda, 3,37%; extracto etéreo, 0,58%; fibra cruda, 4,12%; extracto libre de nitrógeno, 89,16%, y ceniza, 2,77%. La harina contenía un 87,39% de materia seca. Se emplearon los métodos de la AOAC tanto para análisis proximal como para determinación de ácido cianhídrico. Se elaboraron 3 raciones que contenían 0; 15 y 30% de harina de yuca sustituyendo maíz. Además se utilizó una cuarta ración representada por un alimento comercial. Estas se denominaron basal (B), 15% de yuca (15Y); 30% de yuca (30Y) y comercial (C). Cada ración representa un tratamiento. Los ingredientes de las raciones B, 15Y y 30Y se dan en la tabla N^o 1. El contenido proteico de las raciones fue de 24,8; 24,6; 24,1 y 27,5 para las raciones B; 15Y; 30Y y C, respectivamente.

La ración basal contiene 2813 kilocalorías de energía metabolizable por kilogramo. No se dan estos valores para las raciones 15Y y 30Y por no existir este tipo de información para la harina de tubérculo de yuca, pero tomando en cuenta los altos valores de digestibilidad en aves reportadas para este producto (5), parece razonable asumir que no hay diferencias importantes en cuanto al valor calórico de las raciones que contienen yuca y las que no la tienen.

Se utilizaron 480 pollitos de un día de nacidos, variedad Vantress. Estos fueron repartidos al azar en 32 grupos de 15 aves cada uno. A cada tratamiento se adjudicaron también al azar 8 grupos. Estos fueron distribuidos en 8 baterías de 4 pisos cada una y dotadas de fuentes eléctricas de calor. El agua y el alimento se suministraron a voluntad. Las aves se pesaron al iniciarse la prueba y luego cada dos semanas. Se llevó control diario de consumo de alimento. Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza.

TABLA 1
COMPOSICION DE LAS RACIONES

Ingredientes %	B	15Y	30Y
Harina de maíz amarillo	50,60	34,00	18,40
Premezcla minerales trazas (1)	0,25	0,25	0,25
Harina de pescado	5,00	5,00	5,00
Harina de carne	6,50	6,50	6,50
Leche descremada	1,00	1,00	1,00
Harina de algodón	7,00	7,00	7,00
Harina de ajonjolí	19,00	20,60	21,20
Harina de alfalfa	2,50	2,50	2,50
Harina de soya	3,00	3,00	3,00
Levadura de cerveza	2,00	2,00	2,00
Premezcla con antibiótico (2)	0,15	0,15	0,15
Grasa estabilizada	3,00	3,00	3,00
Yuca	0,00	15,00	30,00

(1) Esta premezcla provee minerales para asegurar los siguientes niveles por Kg. de ración: manganeso, 55 mg.; iodo, 0,40 mg.; hierro, 40 mg.; cobre, 4,5 mg., y zinc, 75 mg.

(2) Esta premezcla provee 3 g. de terramicina por tonelada de alimento.

NOTA: Las raciones fueron suplementadas con vitaminas para llevarlas a los siguientes niveles: Vit. D₃, 750 U.I./Kg.; Vit. A, 12.000 U.I./Kg.; Riboflavina, 6,43 mg./kg.; Acido pantoténico, 14 mg./kg.; Colina, 1.755 mg./kg., y Niacina, 50,6 mg./kg.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos se dan en las tables 2 y 3. El peso inicial promedio de los pollitos fue de 40 g. para todos los tratamientos. Como puede observarse en los datos de la tabla 2, no hay diferencias en cuanto a incremento de peso de los pollos que consumieron la ración basal y los que consumieron las raciones con 15 y 30% de yuca, en ninguno de los períodos. Otros autores (5) han reportado reducciones de la intensidad de crecimiento del 10 al 15% durante las primeras dos semanas y de 5 a 10% durante la tercera y cuarta semana, en aves que recibieron una dieta con 30% de harina de yuca.

El hecho de que el efecto depresor del crecimiento de la harina de yuca, al utilizarla a niveles superiores al 10% reportado por varios autores (5, 6, 7 y 8), no haya aparecido, podría

TABLA 2

CONSUMO, INCREMENTO DE PESO Y CONVERSION ALIMENTICIA POR PERIODO DE DOS SEMANAS

RACIONES: B				15Y			30Y			C		
Semanas	Consumo gr.	Incremento gr.	Conversión	Consumo gr.	Incremento gr.	Conversión	Consumo gr.	Incremento gr.	Conversión	Consumo gr.	Incremento gr.	Conversión
2	185	147	1.258	199	153	1.301	216	147	1.469	198	159	1.245
4	724	365	1.984	720	353	2.040	726	348	2.086	634	358	1.771
6	1.111	483	2.300	1.164	489	2.380	1.209	486	2.488	1.015	474	2.141

TABLA 3

INCREMENTO DE PESO, CONSUMO DE ALIMENTO, CONVERSION Y COSTO POR KILOGRAMO DE POLLO HASTA LA SEXTA SEMANA

Tratamiento	Incremento por ave hasta la 6ª semana Kg.	Consumo por ave hasta la 6ª semana	Conversión hasta la 6ª semana Kg.	Costo por Kg. de pollo Bs.
B	0,995	2,020	2,030	1,200
15Y	0,995	2,083	2,093	1,156
30Y	0,981	2,151	2,193	1,139
C	0,991	1,847	1,864	1,379

B = Basal

15Y = 15% de yuca

30Y = 30% de yuca

C = Comercial

explicarse por la ausencia de ácido cianhídrico en la harina de tubérculo de yuca utilizada. Esta ausencia podría deberse a un bajo contenido del ácido en los tubérculos o a que con el método de secado empleado éste se elimine totalmente. En este sentido ha sido reportada (4) una alta variabilidad entre variedades en el contenido de ácido cianhídrico de la yuca que va de 30 a 810 mg, por Kg de corteza del tubérculo y de 0 a 100 mg. por Kg. de tubérculo descortezado.

En la harina utilizada en otros experimentos (5) se ha reportado la presencia del ácido cianhídrico a niveles de 60 ppm. Por otra parte, se ha especulado (5) en el sentido de que un inhibidor de ciertas enzimas (fosforilasas) presente en la corteza del tubérculo podría ser responsable, al menos en parte, del efecto depresor del crecimiento reportado en pollos que consumen raciones que contienen harina de tubérculo de yuca. Es evidente que esta situación requiere investigación adicional.

El mayor incremento en las primeras dos semanas de las aves que consumieron el alimento comercial pudiera deberse a los niveles relativamente altos de harina de soya que se agregan a los alimentos comerciales.

El índice de conversión alimenticia favorable a la ración comercial se explica por el carácter altamente pulverulento de las otras tres, lo que ocasionó importantes pérdidas por de-

rrame fuera de los comederos, lo que resulta en un elevado consumo aparente. Esto es corroborado por el hecho de que en pruebas que se realizan en la actualidad con los mismos niveles de yuca, pero incorporando a las raciones 6% de melaza y 5% de grasa animal estabilizada, se ha mejorado sustancialmente el índice de conversión.

En la tabla 3 puede observarse que no hay diferencias entre los pesos finales obtenidos a las 6 semanas de edad y que se mantienen las tendencias ya citadas en lo que respecta a consumo y conversión.

El costo de las raciones se calcula en base al precio al detal de los ingredientes. El kilogramo de harina de tubérculo de yuca se estima en Bs. 0,25. Este estimado se hace tomando en cuenta los precios de Bs. 0,06 a Bs. 0,08 que recibe el agricultor por su producto (9). Es de hacer notar que con rendimientos de 30.000 Kg. de yuca por hectárea, el costo por kilogramo de yuca producida es de Bs. 0,03 a Bs. 0,04. El valor de la mano de obra y depreciación del equipo de mezcla se estima en Bs. 0,02 por kilogramo de ración. Para el alimento comercial se da su valor como tal.

El costo de producción del kilogramo de pollo en lo que se refiere a alimento es sensiblemente menor con las raciones que contienen yuca, siguiendo luego la dieta basal y por último el alimento comercial.

Al análisis estadístico, en lo que respecta a incremento, hay diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las raciones C y 15Y; 15Y y B, 15Y y 30Y; y ($P < 0,01$) entre las raciones C y B; y C y 30Y, durante la segunda semana. En la cuarta semana sólo hay diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las raciones B y 30Y. En la sexta semana no existen diferencias significativas entre tratamientos.

En relación a conversión, hay diferencias significativas ($P < 0,01$) entre el alimento comercial y las otras raciones en todas las semanas y entre las raciones 30Y y 15Y, y 30Y y B en la segunda semana. En la sexta semana hay diferencia significativa ($P < 0,05$) entre las raciones 30Y y B.

Una situación similar a la de la conversión se observa al analizar estadísticamente el consumo de alimento.

En costo hay diferencia significativa ($P < 0,01$) entre el alimento comercial y las otras tres raciones en todas las semanas.

CONCLUSIONES

La harina de tubérculo de yuca, secada al sol, sustituye favorablemente al maíz a niveles de hasta el 30% en raciones iniciadoras para pollos de engorde, con respecto a incremento de peso y a costo del alimento para producir un kilogramo de pollo.

SUMMARY

Cassava root meal in starting rations for broilers

An experiment was conducted to measure the effect of feeding broilers 0; 15 and 30 per cent added cassava root meal upon body weights, feed efficiency and feed cost per kg of broiler produced.

Broiler-type chicks housed in batteries received the experimental diets from 0 to 6 weeks of age.

From the results it is concluded that the cassava root meal, sun dried, can be used as a substitute for corn at levels up to 30 per cent in starting rations for broilers in relation to body weight and feed cost per kilogram of broiler produced.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Ministerio de Agricultura y Cría. División de Estadística. Anuario Estadístico Agropecuario 1967: p. 47 y 136, 1968.
- (2) Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Instituto de Agronomía. Informe Anual de Investigaciones, 1968: p. 38, 1969.
- (3) Stahlin A.—Die Beurteilung der Futtermittel. Citado por Vogt, H. The use of Tapioca meal in Poultry Rations. *World's Poultry Science Journal*, 22: 113-125, 1966.
- (4) Montaldo, A.—Constituyentes y utilización de la yuca. *Mult.* 14 págs. 1967.
- (5) Vogt, H. — The use of Tapioca meal in poultry rations. *World's Poultry of Science Journal*, 22: 113-125, 1966.
- (6) Mc Millan, A. N. y F. J. Dudley.—Potato meal, Tapioca meal and Town Waste in chicken rations. *Harper Adams. Utility Poultry J.* 24: 191, 1941.
- (7) Klein, F. W. y C. Barlowen.—Tapiockamehl in Aufzuchfutter *Arch. Ceflugelk.* 16: 415, 1954.
- (8) Wegner, R. M.—Zur Verbilligung von Kukenmast-futtermischungen. *Kraftfutter.* 44: 84-88, 1961.
- (9) Montaldo, A.—Cultivo de la yuca. *Mult.* 16 págs. 1967.

Desnutrición experimental en la rata

JULIA ARAYA¹, GONZALO DONOSO² Y MARÍA ANGÉLICA TAGLE¹

Unidad de Nutrición Básica. Departamento de Nutrición.
Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

RESUMEN

Se realizaron 4 ensayos de desnutrición experimental:

- A: Ratas recién nacidas, colocadas desde el primer día de vida en camadas de a 16 crías por madre; destete a los 14 días y posterior administración de dieta apteica ad lib. y oferta de mezcla grasa durante 3 horas cada día.
- B: Semejante a A; diferente en que el destete fue a los 21 días.
- C: 16 crías por camada desde el primer día de vida; destete a los 14 días y posterior administración de dieta de caseína con 3.7 NDpCal%.
- D: Ratas amamantadas de a 9 por madre, destete a los 21 días y posteriormente dieta de caseína con 3.7 NDpCal%.

Las ratas de los ensayos A y B presentaron desnutrición con algunas características de kwashiorkor: importante descenso en la seroalbúmina y disminución marcada del índice N/H₂O corporal. La gravedad de la desnutrición fue mayor en A que en B.

Las ratas de los ensayos C y D presentaron desnutrición con algunas características de marasmo: menor disminución de la seroalbúmina y mantención de la relación N/H₂O corporal dentro del rango de normalidad. La gravedad del cuadro fue mayor en C que en D.

Queda demostrado que no sólo en algunas características de marasmo, sino que también algunas del kwashiorkor pueden reproducirse en la rata, empleando artificios dietarios y escasa manipulación, sin recurrir al sistema de alimentación forzada.

Las ratas desnutridas, obtenidas según estos modelos, se proponen como población adecuada para el ensayo de la potencialidad de alimentos para recuperar de la desnutrición.

¹ Departamento de Nutrición. Zañartu 1042. Santiago, Chile.

² Who Medical Nutritionist. P. O. Box 1555. Tehran, Irán.

Recibido: 12-6-1969

Numerosos investigadores han tratado de reproducir los cuadros de desnutrición infantil en el animal de experimentación, especialmente en la rata y en el cerdo, en busca de mayor conocimiento de las alteraciones bioquímicas y fisiológicas que los caracterizan (1-21). Se pretende averiguar cómo y cuánto los caminos metabólicos se desvían de lo "normal", si el daño es reversible o no, las consecuencias en el desarrollo posterior del individuo, etc.

Existe además una motivación de orden práctico: los animales desnutridos podrían ser considerados como una población adecuada para el ensayo de diferentes dietas en cuanto a su capacidad para promover recuperación (22-24). Ello es especialmente interesante referido a las nuevas fuentes proteicas: proteínas semiconvencionales o no convencionales y sus mezclas, diseñadas para combatir la desnutrición (23, 24).

La desnutrición infantil severa se presenta en forma de dos síndromes extremos: marasmo y kwashiorkor (25). Generalmente se acepta que en la etiología del marasmo la deficiencia de proteínas va acompañada de deficiencia calórica, en tanto que el kwashiorkor se asocia a dietas pobres en proteínas con relativa abundancia de calorías (25). Sin embargo, vale la pena recalcar que los dos síndromes son los extremos de un espectro continuo y que todos los grados intermedios pueden encontrarse (4).

Cuadros de desnutrición experimental tipo marasmo son relativamente fáciles de obtener porque la ingesta voluntaria se reduce considerablemente (8, 19, 21, 26-28) cuando el valor proteico de la dieta es inadecuado. Este mismo hecho hace improbable lograr una ingesta (voluntaria) calórica alta con aporte proteico bajo (28) y, generalmente, los investigadores que desean obtener un síndrome tipo kwashiorkor se ven en la necesidad de usar alimentación forzada (26).

En esta comunicación detallamos la manera de producir características de ambos síndromes en ratas muy jóvenes, alimentadas con diferentes dietas, sin recurrir al sistema de alimentación forzada, usando sólo administración de dieta *ad libitum*. Pretendemos dar a este trabajo el enfoque de contribución metodológica.

MATERIALES Y METODOS

Dieta:

Dieta apteica (en gramos): maicena, 500; grasa vegetal, 100; aceite de maravilla, 50; mezcla de vitaminas hidrosolubles (29), 30; mezcla de vitaminas liposolubles (29), 20; mezcla mineral (29), 50; almidón de papa, 75; glucosa, 125, y celulosa en polvo, 50. Contiene 4.2 Cal y 0.6 mg de nitrógeno por gramo.

Mezcla grasa (en gramos): crema de leche (*), 100; glucosa, 10; aceite de maravilla, 10; vitaminas liposolubles (29), 0.5, y vitaminas hidrosolubles (9), 0.5. Contiene 3.1 Cal/g.

Dieta de caseína con 3.7 NDpCal% (**), la misma composición de la dieta apteica, excepto que 65 g de maicena fueron reemplazados por la cantidad equivalente de caseína. Contiene 4.2 Cal y 8.95 mg de nitrógeno por gramo. El valor proteico de 3.7 garantiza la mantención del peso corporal (30) y en los animales jóvenes conduce a cuadros de desnutrición.

Animales:

Ratas recién nacidas, hijas de madres normales, con peso promedio de 5 g (habitual en nuestra colonia), se distribuyeron en camadas de 9 ó de 16 individuos por madre. El destete se realizó a los 21 días o, cuando se deseaba producir daño mayor, las crías se separaron precozmente de las madres a los 14 días.

Se emplearon dos sistemas de alimentación: I) dieta apteica *ad libitum* y, además, oferta de mezcla grasa por un lapso de 3 horas diariamente, y II) únicamente dieta de caseína con 3.7 NDpCal%, *ad libitum*. Los animales tenían libre acceso al agua de bebida. Se realizaron 4 ensayos (A, B, C y D), cuyas condiciones experimentales aparecen en la Tabla 1.

Las ratas se pesaron cada dos días. A partir del destete se mantuvieron en grupos de 6 a 8 individuos por jaula y se controló la ingesta. Las características ambientales del vivero fueron 28°C y 70% de humedad. No se detectó ninguna infección durante la realización de los ensayos.

(*) Composición de la crema de leche (en gramos): humedad, 68.5; lípidos, 25.0; glúcidos, 3.5, y proteínas, 2.5

(**) NDpCal%: Net Dietary protein Calories %, en palabras, el porcentaje de las calorías totales de la dieta que es suministrado en forma de proteínas utilizables. Hemos preferido la abreviación inglesa, ya que es la más conocida.

En el ensayo B durante la lactancia se usó un comedero especial, alto, al que sólo la madre tenía acceso. Este detalle fue necesario sólo en este ensayo, ya que la rata joven comienza normalmente a ingerir dieta a partir de los 14 ó 15 días de edad.

En el ensayo D, en que se buscaba producir desnutrición posterior al destete habitual, no se evitó la posibilidad de ingesta de dieta materna por parte de las crías.

Los animales se sacrificaron por decapitación. Se tomaron muestras para microhematocrito y hemoglobina (31); se recogió sangre para analizar proteínas totales y seroalbúmina (32); se determinó el contenido de agua y de nitrógeno en las carcasas y se calculó la relación N/H₂O corporal (33, 34); se determinó proteína (32) y grasa (35) en hígado. Los números entre paréntesis se refieren a los métodos empleados. No todos los análisis se hicieron en los 4 ensayos. En el ensayo D se efectuó la medición del consumo de oxígeno en el animal total, usando un calorímetro de circuito cerrado.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las ratas desnutridas carecían de vivacidad y se veían francamente emaciadas. Presentaban cambios en la calidad y en la cantidad de pelaje; incluso en algunos casos hubo zonas de alopecia. Tenían la piel fría y tendían a agruparse; además, la mayoría de ellas mostraba cianosis, especialmente en las extremidades. Los signos descritos fueron menos marcados en los animales del ensayo D, es decir, en aquellos que tuvieron alimentación materna normal y que sólo después de los 21 días fueron sometidos a desnutrición.

Al realizar la autopsia, los animales con dieta aprroteica y mezcla grasa (ensayos A y B) contenían abundante líquido en la cavidad peritoneal, hecho que fue más evidente en las ratas A. Hubo un alto porcentaje de mortalidad durante los ensayos: alrededor de 65% en A y C; 25% en B y 30% en D en un período experimental mucho mayor, cifras que confirman la menor gravedad del impacto de la desnutrición, cuando éste es posterior a una lactancia normal. La mayor mortalidad en A que en B es otro hecho que destaca la importancia del momento de implante de la dieta inadecuada: las ratas en ambos casos recibieron insuficiente cantidad de leche materna,

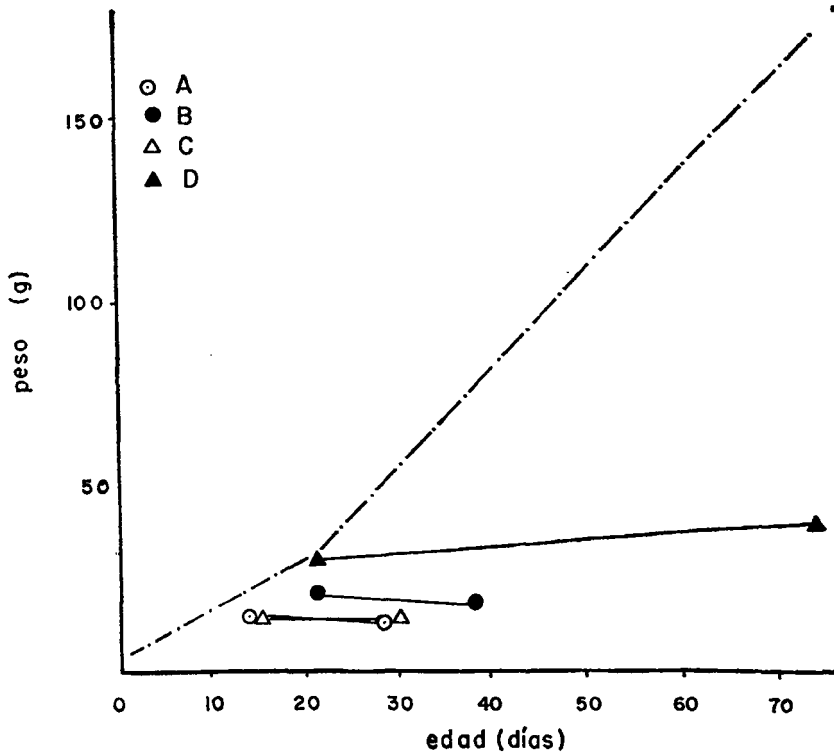


Fig. 1.—Evolución ponderal de ratas sometidas a experiencias de desnutrición. Comparación con la evolución normal en nuestra colonia (línea discontinua).

por 14 días para A y 21 días para B, y la mortalidad fue menor en los animales amamantados durante más tiempo.

La evolución del peso en las ratas desnutridas se muestra en la figura 1, donde, a guisa de comparación, también se ha incluido el peso de ratas normales de nuestra colonia entre 0 a 75 días de edad (línea discontinua). Puede observarse que la dieta de caseína con 3.7 NDpCal% fue capaz de frenar totalmente el crecimiento en el ensayo C, pero no lo hizo en forma tan drástica cuando fue administrada después de una lactancia normal (D). Por otra parte, el conjunto dieta apteica y mezcla grasa produjo una disminución de 12.5% con respecto al peso de destete en el ensayo A, y de 13.6% en B, en períodos de 14 y 16 días, respectivamente (Tabla 1).

En la Tabla 2 se muestran algunos cambios químicos atribuibles al estado de malnutrición. Puede observarse que las

TABLA 1
DESCRIPCION DE LOS ENSAYOS DE DESNUTRICION
EXPERIMENTAL EN LA RATA

Ensayo	Crías por camada	Edad del destete	Peso al destete g	Sistema de alimentación (*)	Edad final	Peso final g
A	16	14	16	I	28	14
B	16	21	22	I	37	19
C	16	14	15	II	28	15
D	9	21	30	II	74	41

(*) I dieta aprroteica ad lib., y mezcla grasa durante 3 horas diariamente;
 II dieta de caseína con 3.7 NDpCal % ad lib.

ratas con dieta aprroteica y mezcla grasa presentaron seriamente disminuidas las proteínas totales, la seroalbúmina y el hematocrito, y el daño fue mayor cuanto más precoz fue el implante de este sistema de alimentación: A mayor daño que B. Aun las ratas B tuvieron índices sanguíneos significativamente disminuidos con relación a los valores normales.

Los animales de los ensayos A y C, de la misma edad, mostraron importantes diferencias en los índices recién señalados: las ratas C tuvieron menor descenso en los niveles de proteínas totales, seroalbúmina y hematocrito (ver Tabla 2).

La misma dieta del ensayo C (3.7 NDpCal%), administrada hasta 53 días a contar del término de una lactancia adecuada (ensayo D), pudo mantener las proteínas totales y la seroalbúmina, pero no logró defender al hematocrito, el que aparece significativa disminuido (39 ± 2.0 vs. 45 ± 1.0). Reforzando este hallazgo, la hemoglobina fue significativamente inferior a lo normal: 10.9 ± 0.7 vs. 15.0 ± 0.7 g/100 ml.

El contenido proteico en el hígado se encontró significativamente disminuido en todas las ratas malnutridas; nuevamente a través de este índice se detecta la desventaja de los animales con lactancia inadecuada. Nos llamó la atención que las ratas A y C presentaron valores similares.

Una manera relativamente simple de informar acerca de la composición corporal es a través de la relación N/H₂O (Tabla 2). Se ha demostrado que esta relación varía según la

TABLA 2

PROTEINAS SERICAS, HEMATOCRITO, HEMOGLOBINA, PROTEINA Y GRASA HEPATICA, Y RELACION N/H₂O CORPORAL EN RATAS DESNUTRIDAS

Ensayo	PROTEINAS SERICAS		Hematocrito %	Hemoglobina g/100 ml	Proteína hepática mg/g	Grasa hepática mg/g	N/H ₂ O
	Totales g/100 ml	SA					
A	3.77±0.27 (22) (*)	2.06±0.10 (23)	31.6±0.8 (22)	—	101.9±2.7 (9)	—	28.3±2.4 (11)
B	—	2.82±0.14 (13)	34.1±0.2 (14)	11.4±0.5 (10)	131.1±4.9 (11)	49.8±5.2 (12)	—
C	5.95±0.29 (18)	3.64±0.15 (19)	34.5±1.1 (19)	—	99.3±3.4 (19)	—	34.7±1.7 (12)
D	6.95±0.37 (17)	3.65±0.32 (16)	39.1±2.0 (10)	10.9±0.7 (9)	155.8±7.0 (9)	51.0±10.0 (8)	43.5±1.9 (10)
Ratas normales	6.60±0.11 (17)	4.27±0.07 (17)	45.0±1.0 (20)	15.0±0.7 (20)	220.8±4.9 (17)	34.8±1.2 (17)	(**)

(*) El número entre paréntesis significa los animales en cada caso.

(**) Varía con la edad. Ver figura 2.

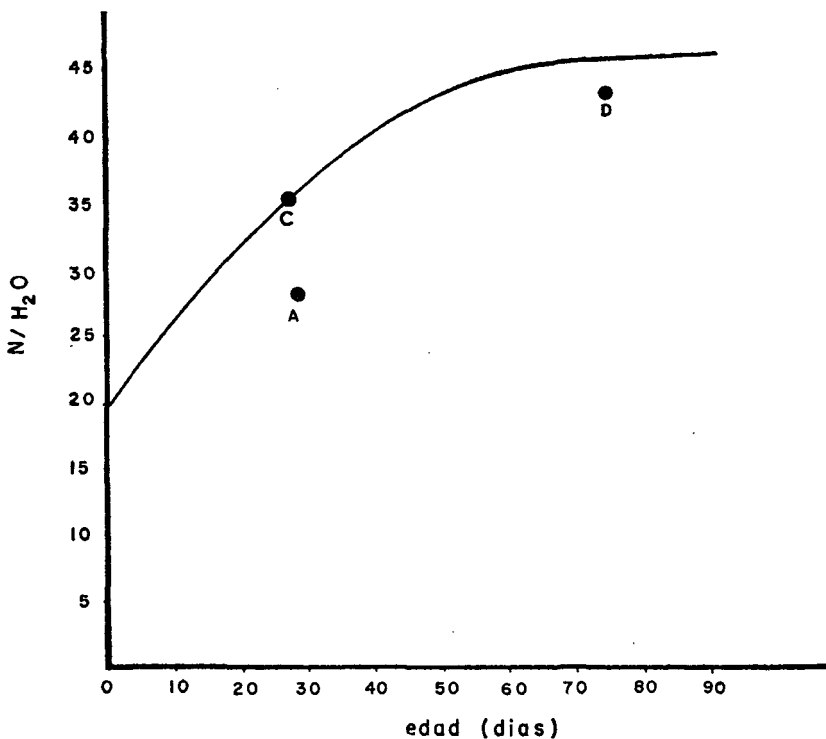


Fig. 2.—Relación N/H₂O en ratas sometidas a experiencias de desnutrición. Comparación con los valores normales encontrados en nuestra colonia (Yañez y Donoso, 1963).

edad del animal, pero a una determinada edad es constante en condiciones de dieta adecuada (36). La Fig. 2 muestra la relación N/H₂O en ratas normales de nuestra colonia de 0 a 90 días de edad y contra ella compara los promedios encontrados en los ensayos A, C y D. Puede observarse que los grupos A y C, que juzgados según retardo de crecimiento serían comparables, juzgados a través del índice N/H₂O aparecen como universos diferentes: 28.3 ± 2.4 vs. 34.7 ± 1.2 (Tabla 2). El promedio encontrado en C es semejante al valor encontrado en ratas normales de la misma edad: 34.7 ± 1.7 vs. 34.4 ± 1.6 . El promedio en D, 43.5 ± 1.9 , tampoco fue distinto del de las ratas normales de igual edad: 46.1 ± 1.6 . En nuestras condiciones experimentales, el conjunto de dieta apteica y mezcla grasa es el único sistema de alimentación capaz de alterar significativamente este índice.

TABLA 3

PROMEDIOS DE INGESTA CALORICA Y PROTEICA EN RATAS DESNUTRIDAS

Ensayo	INGESTA CALORICA		Ingesta proteica NDpCal/Kg ^{0.73} /día
	Cal/rata/día	Cal/Kg ^{0.73} /día	
A	9.1	193.6	(*)
B	(**)	(**)	(*)
C	5.6	119.1	4.4
D	15.4	175.0	6.5

(*) Cantidades mínimas ingeridas como contaminantes de la dieta y de la mezcla grasa;

(**) No se controló la ingesta durante todo el período experimental; en los días controlados fue del mismo orden de lo informado en el ensayo A.

El contenido de grasa hepática, estudiado en los grupos B y D, fue de 49.8 ± 5.2 y de 41.0 ± 10.0 , respectivamente, cifras superiores a las encontradas en ratas normales, 34.8 ± 1.2 , pero que tampoco son lo suficientemente altas como para traducir hígado graso como característica de grupo. Llama la atención la gran disparidad de los valores individuales, hecho que queda en evidencia por la magnitud del error de la media (Tabla 2).

Los datos de ingesta proteica y calórica aparecen en la Tabla 3. Puede observarse que los animales que mantuvieron su peso corporal (ensayo C) tuvieron una ingesta calórica promedio de $119.1 \text{ Cal/kg}^{0.73}/\text{día}$, cifra similar a la aceptada como requerimiento energético de mantención, $121 \text{ Cal/kg}^{0.73}/\text{día}$ (37), comparable también con el valor de $122.5 \text{ Cal/kg}^{0.73}/\text{día}$, encontrado por nosotros en ratas de diferente edad y en muy distintas condiciones experimentales (38). Usando esta misma expresión, la ingesta calórica de las ratas alimentadas con dieta aptoteica y mezcla grasa (ensayo A) y de los animales del ensayo D, fueron 62.5 y 47.0% mayores. Sin embargo, el desarrollo ponderal no podía correlacionarse con el exceso de calorías sobre el gasto de mantención, debido a la restricción de nitrógeno; por el contrario, existen evidencias experimentales en el sentido de demostrar que en casos de

deficiencia proteica el exceso relativo de calorías es agravante (11, 18).

El requerimiento proteico para mantención de peso, determinado por nosotros en ratas jóvenes, es de 6.8 NDpCal/kg^{0.73}/día (39), cifra del mismo orden que la usada por Miller y Payne (40) para calcular la pérdida endógena de nitrógeno, 6.00 NDpCal/kg^{0.73}/día, ó 250 mg N/kg^{0.73}/día. Teniendo en cuenta estas cifras sería posible predecir mantención para las ratas del ensayo D; sin embargo, éstas crecieron algo y la mantención del peso fue observada en el ensayo C con menor ingesta proteica. También llama poderosamente la atención que las ratas de los ensayos A y B, que recibían dieta apteica, sólo perdieron alrededor de 13% del peso inicial (Tabla 1).

Cabe preguntarse entonces cómo estos animales desnutridos aparecen con mayor eficiencia que la que pudiera esperarse a partir de datos obtenidos en animales normales.

Miller y Mumford (41), al estudiar individuos con ingestas excesivamente altas y que no aumentan de peso como era de esperar, aducen 4 posibles respuestas metabólicas que teóricamente podrían dar cuenta de la discrepancia: aumento de la actividad física, reducción de la digestibilidad, cambios en la composición corporal y aumento en la producción de calor.

En el caso de las ratas desnutridas en que la discrepancia también existe, pero en sentido inverso, podrían aducirse las 4 posibilidades contrarias: disminución de actividad física, aumento de la digestibilidad, cambios opuestos en la composición corporal y disminución de la termogénesis. El aumento de la digestibilidad puede descartarse por absurdo porque se ha demostrado fehacientemente que los cuadros de desnutrición se acompañan de alteraciones patológicas en el intestino, especialmente en la zona de las vellosidades; también se ha comunicado disminución de enzimas digestivas en estados de desnutrición (7).

En nuestra experiencia no medimos la actividad de las ratas, tampoco la temperatura corporal; pero en la apreciación general se observó disminución de ambas. Para mayor información en algunas ratas del ensayo D se determinó consumo de oxígeno en el animal total y el resultado fue signifi-

cativamente inferior que el obtenido en ratas normales: 1.01 ± 0.05 vs. 1.36 ± 0.05 ml/hr/cm.²

Los resultados presentados señalan que hemos logrado reproducir en la rata características clínicas y bioquímicas de los cuadros de desnutrición descritos en población infantil. Indudablemente que los cuadros obtenidos no son puros. Ello queda claramente en evidencia en la descripción del aspecto de las ratas, como también a través de algunos de los índices bioquímicos.

En tres de los cuatro ensayos realizados, las ratas fueron sometidas a condiciones de lactancia insuficiente en cantidad y en dos de ellos insuficiente también en el tiempo, tratando de remedar las condiciones de la lactancia humana en nuestro medio (42). El hecho de colocar 16 crías por madre implica mayor competencia entre las crías por la leche materna y una ingesta individual inadecuada en cantidad (1, 5), condiciones que favorecerían la implantación de un marasmo. La administración posterior de una dieta de inadecuado valor proteico, 3.7 NDpCal%, con ingesta proteica y calórica inferior a los requerimientos (37), permitiría considerar los animales del ensayo C como portadores de desnutrición con características predominantes de tipo marasmo. Apoyarían esta afirmación la menor disminución en la seroalbúmina y la mantención de la relación nitrógeno/agua dentro del rango de normalidad. En nuestras condiciones experimentales la sola administración de la dieta con 3.7 NDpCal% por un período prolongado después de una lactancia normal, condujo a resultados comparables.

Por otra parte, la implantación de dieta aprroteica y exceso de calorías sobre los requerimientos de mantención (ensayos A y B), favorecería la aparición de algunas características de kwashiorkor, hecho que queda apoyado por la disminución franca de la seroalbúmina y la significativa alteración de la relación nitrógeno/agua.

Podría cuestionarse el interés de seguir en este tipo de experiencias, ya que hay abundancia de publicaciones sobre el tema. Sin embargo, creemos que los resultados aquí presentados son de valor práctico, puesto que con artificios dietarios y con el mínimo de manipulación se logran características de kwashiorkor y de marasmo con alimentación *ad lib.* en tiempos relativamente breves (ensayos A, B y C). Los índices bio-

químicos que se estudiaron son de fácil realización, lo que permite trabajar con grupos grandes de animales y seguir su evolución gradual, tanto en el período de desnutrición como posteriormente si se desea controlar la recuperación.

Las ratas desnutridas, por el hecho de simular las condiciones de uno de los sectores más exigentes de la población humana, el sector de la infancia desnutrida, aparecen como material de selección para el ensayo de mezclas de proteínas semiconvencionales y/o no convencionales, dedicadas a la población infantil. Proponemos que el ensayo de la potencialidad de un alimento para recuperar de la desnutrición sea usado como dato complementario a los habituales de calidad y valor proteico.

SUMMARY

Experimental malnutrition in the rat

With the aim of reproducing in the rat some characteristics of infant malnutrition, four trials were performed:

- A: New born rats placed 16 per mother, weaned at the age of 14 days. Thereafter they were fed ad libitum a non protein diet. Besides, during three hours daily they were offered a fat mixture.
- B: Similar to A, except that weaning time was 21 days.
- C: New born rats, placed 9 per mother, weaned at the age of 21 days. Thereafter a casein diet with 3.7 NDpCal% was fed ad libitum.
- D: New born rats, placed 9 per mother, weaned at the age of 21 days. Thereafter a casein diet with 3.7 NDpCal% was fed ad libitum.

The rats in trials A and B showed some signs of kwashiorkor: low serum albumin levels and a marked decrease in body N/H₂O ratio. Malnutrition in A was more serious than in B. The rats in trials C and D showed some features of a marasmatic type of malnutrition: a slower decrease in the serum albumin level and a normal body N/H₂O ratio. Animals in trial C were more damaged than those in trial D.

It is shown that with the help of dietary tricks and scarce handling of the animals, without force feeding, not only marasmus signs but also kwashiorkor features can be easily reproduced in the rat.

Malnourished rats, obtained according to these models, are proposed as animal population for testing the biological potenciality of any food in the recovery from malnutrition.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Platt, B. S., C. R. C. Heard & J. R. C. Stewart.—Experimental protein - calorie deficiency. In: *Mammalian Protein Metabolism*, ed. H. N. Munro and J. B. Allison. Academic Press, New York, volume II, p. 446-514.

- (2) Widdowson, E. M. & R. A. McCance.—The effect of chronic undernutrition and of total starvation on growing and adult rats. *Brit. J. Nutr.*, 10: 363-373, 1956.
- (3) Waterlow, J. C., G. A. O. Alleyne, H. Chan, J. S. Garrow, A. Hay, P. James, D. Picou & J. M. L. Stephen.—Observations on the mechanism of adaptation to the low protein intakes. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 16: 175-200, 1966.
- (4) Viteri, F., M. Béhar & G. Arroyave.—Clinical aspects of protein malnutrition. In: *Mammalian Protein Malnutrition*, ed. H. N. Munro and J. B. Allison. Academic Press, New York, volume II, p. 523-561.
- (5) McCance, R. A.—Food, growth and time. *Lancet* 2: 671-676, 1962.
- (6) Wikramanayake, T. W.—Protein malnutrition in the rat induced by protein - calorie imbalance. *Brit. J. Nutr.* 20: 641-648, 1966.
- (7) Solimano, G., E. A. Burgess & B. Levin.—Protein-calorie malnutrition. Effect of deficient diets on enzyme levels of jejunal mucosa of rats. *Brit. J. Nutr.* 21: 55-68, 1967.
- (8) Platt, B. S., K. Halder & B. H. Doell.—Pathology of acute experimental protein malnutrition in the force-fed rat. *Proc. Nutr. Soc.* 21: VI-VII, 1962.
- (9) Waterlow, J. C. & J. M. L. Stephen.—Adaptation of the rat to a low-protein diet: the effect of a reduced protein intake on the pattern of incorporation of L C¹⁴ lysine. *Brit. J. Nutr.* 20: 461-484, 1966.
- (10) Dobbing, J.—The effect of undernutrition on the myelination in the central nervous system. *Biol. Neonat.* 9: 132-147, 1965/1966.
- (11) McDonald, I. & E. M. Gharavi.—Some effects of the dietary sucrose in experimental protein deficiency. *Proc. Nutr. Soc.* 19: 29-30, 1960.
- (12) Widdowson, E. M., J. W. T. Dickerson & R. A. McCance.—Severe undernutrition in growing and adult animals. 4. The impact of severe undernutrition on the chemical composition of soft tissues of the pig. *Brit. J. Nutr.* 14: 457-471, 1960.
- (13) Elkinton, J. R. & E. M. Widdowson.—Effect of chronic undernutrition on body composition in the rat. *Metabolism* 8: 404-417, 1959.
- (14) Williams, J. N.—Reponse of the liver to prolonged protein depletion. I. Liver weight, nitrogen and deoxyribonucleic acid. *J. Nutrition* 73: 199-209, 1961.
- (15) Culley, W. J. & E. T. Mertz.—Effect of restricted food intake on growth and composition of the preweanling rat brain. *Pro. Soc. Exptl. Biol. Med.* 118: 233-235, 1965.
- (16) Umaña, R. y C. Tejada.—Reproducción en la rata blanca de algunas características de la desnutrición proteico-calórica humana. *Arch. Venezolanas Nutr.* 15: 33-51, 1965.
- (17) Cabak, V., G. A. Gresman & R. A. McCance.—Severe undernutrition in growing and adult animals. 10. The skin and hair of pigs. *Brit. J. Nutr.* 16: 635-640, 1962.
- (18) Lowrey, R. S., W. G. Pond, R. H. Barnes, L. Krook & J. K. Loosli. Influence of caloric level and protein quality on the manifestations of protein deficiency in the young pig. *J. Nutr.* 78: 245-253, 1962.
- (19) McRoberts, M. R.—Growth retardation of day-old chickens and physiological effects at maturity. *J. Nutr.* 87: 31-40, 1965.

- (20) Cabak, V., J. W. T. Dickerson & E. M. Widdowson.—Response of young rats to deprivation of protein or of calories. *Brit. J. Nutr.* 17: 601-616, 1963.
- (21) Kirsch, R. E., S. J. Saunders & J. F. Brock.—Animal models and human protein-calorie malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 21: 1225-1228, 1968.
- (22) Cabak, V., J. W. T. Dickerson & M. W. Stanier.—Response of young rats to rehabilitation with diets containing different amounts of protein after deprivation of protein or of calories. *Brit. J. Nutr.* 17: 617-626, 1963.
- (23) Araya, J., M. A. Tagle y G. Donoso.—Caseína, harina de pescado y torta de maravilla en la recuperación de la rata precozmente desnutrida. I. Dietas de igual valor proteico suministradas ad libitum. *Nutr. Bromatol. Toxicol.* 7: 73-81, 1968.
- (24) Araya, J., G. Donoso y M. A. Tagle.—Caseína, harina de pescado y torta de maravilla en la recuperación de la rata precozmente desnutrida. II. Efecto de la suplementación de la proteína con sus aminoácidos limitantes y aumento del período de realimentación. *Nutr. Bromatol. Toxicol.* 7: 95-101, 1968.
- (25) Monckeberg, F. y G. Donoso.—Epidemiología de la desnutrición infantil. *Nutr. Bromatol. Toxicol.* 4: 39-48, 1965.
- (26) Sidransky, H. & E. Verney.—Clinical pathology of acute aminoacid deficiencias. *Arch. Pathol.* 78: 134-148, 1964.
- (27) Rex, A. y M. A. Tagle.—Deficiencia aminoacídica experimental. *Nutr. Bromatol. Toxicol.* 7: 39-45, 1968.
- (28) Miller, D. S. & P. R. Payne.—Weight maintenance and food intake. *J. Nutrition* 78: 255-262, 1962.
- (29) Tagle, M. A., E. Colombara y G. Donoso.—Mezclas de minerales y vitaminas para dietas experimentales (rata). (Por publicarse.)
- (30) Miller, D. S. & P. R. Payne.—Problems in the prediction of protein values of diets. The influence of protein concentration. *Brit. J. Nutr.* 15: 11-19, 1961.
- (31) Dacie, J. V. & V. E. Siler.—Hematología práctica. Ediciones Toray, S. A., Barcelona, España, p. 42-43, 1965.
- (32) Debro, J. R., H. Tarver & A. Korner.—The determination of serum albumin and globulin by a new method. *J. Lab. Clin. Med.* 50: 728-732, 1957.
- (33) Donoso, G. y E. Yáñez.—Estudio sobre el método de Miller y Bender para la determinación de la utilización proteica neta. *Nutr. Bromatol. Toxicol.* 1: 37-42, 1962.
- (34) Pellet, P. L.—The N: H₂O ratio in the Sprague-Dawley rat and its variation with the diet under conditions of determination of net protein utilization. *Brit. J. Nutr.* 21: 609-616, 1967.
- (35) Pande, S. V., R. Parvin Khan & T. A. Venkitasubramanian.—Micro-determination of lipids and serum total fatty acids. *Anal. Biochem.* 6: 415-423, 1963.
- (36) Yáñez, E. y G. Donoso.—Variación de la composición corporal de la rata en función de la edad. Primer Congreso de Nutrición, Bromatología y Toxicología. Santiago de Chile, noviembre de 1963. Libro de resúmenes, pág. 30.

- (37) Committee on Animal Nutrition. National Academy of Sciences. National Research Council. Nutrient requirements of laboratory animals. Number X. Publication 990, 1962.
- (38) Tagle, M. A. & G. Donoso.—Protein requirements for the pregnant rat. *Nutritio et Dieta* 11: 44-52, 1969.
- (39) Tagle, M. A. & G. Donoso.—Effect of protein level on utilization of casein and gluten by weanling rats. *J. Nutrition* 93: 579-583, 1967.
- (40) Miller, D. S. & P. R. Payne.—A theory of protein metabolism. *J. Theoret. Biol.* 5: 398-412, 1963.
- (41) Miller, D. S. & P. Mumford.—Gluttony. I. An experimental study of overeating low-or high-protein diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 20: 1212-1222, 1967.
- (42) Barja, I., D. Ballester, E. Yáñez, N. Pak, M. A. Tagle y G. Donoso.—Alimentación de la madre, composición química de la leche y duración de la lactancia. *Pediatría* 7: 20-24, 1964.

Estudio sobre conservación y aceptabilidad de galletas de leche completa

FRANZ PARDO TÉLLEZ¹ Y JOSÉ OBDULIO MORA PARRA²
Instituto Nacional de Nutrición de Colombia

RESUMEN

Se presentan los resultados de un estudio sobre conservación y aceptabilidad de galletas de leche completa elaboradas en Nueva Zelanda y suministradas al Instituto Nacional de Nutrición de Colombia por el Programa Mundial de Alimentos. Estas galletas, preparadas a base de leche completa, mantequilla y azúcar, vienen en sabores de banana, naranja, chocolate, piña, queso y vainilla.

Se analizó el contenido de nutrientes y su conservación en 1.500 galletas sometidas a diferentes condiciones en Bogotá durante 7 meses. Los resultados muestran, por una parte, que el contenido de nutrientes de las galletas es realmente elevado (26.6 g% de proteínas, 24.5 g% de grasas y 40.0 g% de carbohidratos) y, por otra, que su conservación bajo las diferentes condiciones estudiadas fue satisfactoria. Sólo la vitamina A presentó una pérdida apreciable, motivada por su fácil oxidación.

Se llevaron a cabo pruebas de aceptabilidad de las galletas en 234 niños pre-escolares y en 458 escolares de Bogotá, durante 5 semanas. Durante las 3 primeras se valoró el consumo y en las dos últimas la demanda comparativa, ofreciendo diariamente a los niños la oportunidad de escoger entre una galleta y un pan pequeño o una fruta. A los escolares se les suministró la galleta sola, mientras que los pre-escolares la recibieron simultáneamente con un líquido.

En los pre-escolares, el consumo total fue de 94%. Asimismo, la galleta fue preferida en un 57% cuando se les dio a los niños la oportunidad de escoger entre ésta, pan y fruta. Los sabores preferidos fueron los de queso y banana.

En los escolares la galleta fue consumida totalmente en el 85% de los

1 Jefe División de Investigaciones Nutricionales.

2 De la División de Investigaciones Nutricionales.

Recibido: 16-6-1969

casos y preferida en el 48% cuando los niños tuvieron la oportunidad de seleccionar entre ésta y un pan. Los sabores de mayor aceptación fueron los de naranja, chocolate y vainilla.

El estudio concluye destacando la alta aceptabilidad de las galletas en los pre-escolares y escolares. Si se tiene en cuenta, además, su alto contenido de nutrientes, adecuada conservación y fácil manejo, puede asegurarse que este tipo de galleta constituye un importante recurso para los programas de educación y complementación alimentaria que adelantan los países con problemas de desnutrición.

INTRODUCCION

En la planeación y desarrollo de programas de complementación alimentaria para grupos vulnerables de población, se hace necesaria la selección de alimentos que por su aceptabilidad, facilidades de suministro y conservación, bajo costo y alto valor nutricional, permitan amplias coberturas y positivos beneficios mediante la metodología de operación más sencilla posible (1).

El Gobierno de Nueva Zelandia, conjuntamente con el Consejo de Leches y el Instituto de Investigación del mismo país, han desarrollado un tipo de galleta con diversos sabores, elaborada a base de leche completa, mantequilla y azúcar, cuyo alto contenido proteico y fácil distribución le dan amplias posibilidades de utilización en programas de complementación alimentaria en países en vía de desarrollo (2). El Programa Mundial de Alimentos (PMA) se ha interesado en promover la realización de estudios sobre conservación de este alimento en diferentes empaques y condiciones, así como sobre su aceptabilidad por grupos específicos de población.

El Instituto Nacional de Nutrición de Colombia, interesado en estudiar aquellos alimentos que por su buen valor nutricional, bajo costo, facilidades de conservación y adecuada aceptabilidad, puedan tener una mayor utilización en programas de educación y complementación alimentaria a escala nacional, llevó a cabo el presente trabajo sobre conservación y aceptabilidad de las galletas suministradas a través del PMA.

Los objetivos principales del estudio fueron: determinar el contenido de nutrientes de las galletas, evaluar su conservación en diferentes empaques y condiciones ambientales y valorar su aceptabilidad en grupos vulnerables de niños pre-escolares y escolares.

MATERIAL

El estudio, realizado en el primer semestre de 1969, incluyó dos aspectos:

1) Determinación del contenido de nutrientes de las galletas y de su conservación, mediante análisis bromatológicos seriados.

2) Pruebas de aceptabilidad en pre-escolares y escolares. Para estas pruebas se emplearon 35.000 galletas que fueron suministradas a dos grupos de niños pre-escolares (234 niños en total) en los Jardines Infantiles de los Barrios Bello Horizonte y Tunjuelito, y a dos grupos de niños escolares (458 en total) pertenecientes a las escuelas "La Reliquia" y "Camilo Torres", del Distrito Especial de Bogotá.

La distribución por edad y sexo de los niños incluidos en esta parte del estudio se presenta en el Cuadro Nº 1.

METODOS

Para llevar a cabo cada uno de los aspectos del estudio se empleó la siguiente metodología:

1. *Estudio sobre el contenido de nutrientes y su conservación.*

El estudio sobre el contenido de nutrientes y su conservación se efectuó en el Laboratorio, utilizando 1.500 galletas (300 de cada uno de cinco sabores), e incluyó los siguientes pasos:

- a) Análisis bromatológico inicial de las galletas.
- b) Distribución de las 1.500 galletas en 5 grupos de 300, cada uno de los cuales fue expuesto a las condiciones ambientales del Laboratorio en Bogotá, así:

Grupo A.—En la envoltura plástica de cada paquete de 12 galletas, dentro del recipiente original de cartón que contiene 4 paquetes.

Grupo B.—En la envoltura plástica original de cada paquete, en las condiciones ambientales del laboratorio.

Grupo C.—Sin envoltura plástica, dentro de un recipiente metálico cerrado.

Grupo D.—Sin envoltura plástica, dentro de un recipiente metálico abierto.

CUADRO N° 1
DISTRIBUCION DE LOS NIÑOS INCLUIDOS EN LOS ESTUDIOS DE
ACEPTABILIDAD, SEGUN EDAD Y SEXO

E D A D (A Ñ O S)	SEXO MASCULINO	SEXO FEMENINO	TOTAL
<u>PRE-ESCOLARES</u>			
3	19	15	34
4	28	26	54
5	41	39	80
6	41	25	66
TOTAL PRE-ESCOLARES	129	105	234
<u>ESCOLARES</u>			
7	30	43	73
8	24	43	67
9	23	43	66
10	32	35	67
11	20	40	60
12	19	34	53
13	16	29	35
14	12	15	27
TOTAL ESCOLARES	176	282	458
T O T A L	305	387	692

Grupo E.—Sin envoltura plástica, en las condiciones ambientales del laboratorio.

Durante el período del estudio la temperatura promedio fue de 13.9°C, y la humedad ambiental promedio fue de 75%. Las galletas permanecieron expuestas a la luz natural, pero no a la acción directa de los rayos solares.

A los cuatro primeros grupos se les practicó mensualmente un análisis bromatológico completo, hasta completar siete análisis. Al quinto grupo se le practicaron los mismos análisis, cada semana durante el primer mes y cada dos semanas durante los dos meses siguientes, hasta completar 8 análisis.

Se emplearon las técnicas recomendadas por la A.O.A.C. (3) y por la A.V.C. (4). Se obtuvo así información sobre la estabilidad de los diferentes nutrientes, en las distintas condiciones, a través del tiempo.

2. Pruebas de aceptabilidad.

Las pruebas de aceptabilidad en pre-escolares se realizaron sobre 234 niños de 1 a 5 años, durante cinco semanas, así: en las tres primeras semanas se valoró específicamente el consumo, suministrando a cada niño dos galletas diariamente, de lunes a viernes, una a las 10 a. m. y otra a las 3 p. m., como sustituto de la parte sólida del refrigerio (pan generalmente) que los niños reciben a esa hora. Se llevó un registro cuidadoso del consumo total o parcial de la galleta en cada oferta, por cada grupo de niños.

Durante las dos semanas siguientes se evaluó la demanda comparativa de la galleta, ofreciendo diariamente a los mismos niños la oportunidad de escoger entre una galleta y un pan pequeño a las 10 a. m. y entre una galleta y una fruta (banano o naranja) a las 3 p. m. Se llevó el registro del número de niños de cada grupo que prefirieron cada alimento y de su consumo.

En cada Jardín Infantil se formaron al azar cinco grupos de 24 niños cada uno, con el fin de obtener una información más específica sobre la aceptabilidad y demanda de cada sabor. En el Jardín de Tunjuelito se hizo rotación de sabores diariamente, mientras que en el de Bello Horizonte cada grupo recibió el mismo sabor durante las cinco semanas.

Las pruebas de aceptabilidad en escolares se efectuaron sobre 458 niños de 6 a 14 años, también durante 5 semanas,

empleando una metodología similar a la utilizada en los pre-escolares, con algunas modificaciones. En efecto, a los escolares se les suministró la galleta sola, es decir, sin administración simultánea de líquidos, y durante las dos últimas semanas a cada niño se le dio la oportunidad de escoger, a mañana y tarde, entre un pan y una galleta, seleccionando a su vez en éstas el sabor preferido. En los escolares el sabor de queso fue sustituido por el de vainilla.

Durante los estudios sobre aceptabilidad de la galleta, los niños tuvieron absoluta libertad para aceptarla o rechazarla, así como para consumirla total o parcialmente, y se tuvo especial cuidado de no ejercer influencia alguna en ese sentido por parte de los profesores o del personal encargado de registrar los datos. Asimismo, se observó cuidadosamente si los niños presentaban cualquier síntoma de intolerancia a las galletas (náuseas, vómito, diarrea o dolor de estómago, principalmente).

RESULTADOS

1. *Conservación.*

La conservación de las galletas se evaluó, mediante análisis bromatológicos periódicos, durante tres meses en el grupo E y durante siete meses en los restantes grupos, especialmente en relación con su humedad y con la estabilidad de los nutrientes.

En el Cuadro N° 2 se presentan los resultados de estos análisis al comienzo y al final del estudio. En la mayoría de los nutrientes no se aprecian pérdidas significativas, con excepción de la vitamina A, que presentó una pérdida de más del 60% en los grupos A y B, y de más del 75% en los grupos C, D y E. La pérdida de esta vitamina se hizo evidente desde la primera semana.

En relación con el contenido de humedad, fue manifiesta la hidratación que sufrieron las galletas de los grupos que se observaron durante 7 meses, aunque menor en el grupo conservado en empaque plástico. Cabe destacar que el promedio de humedad atmosférica en Bogotá durante el período del estudio fue del 75%.

Durante el tiempo de observación el pH se redujo de 6 a 5.5, es decir, hubo un ligero aumento de la acidez.

CUADRO N° 2

CONTENIDO DE NUTRIENTES EN LAS GALLETAS AL COMIENZO Y AL FINAL DEL ESTUDIO (1), EN DIFERENTES CONDICIONES DE CONSERVACION. BOGOTA, 1969

NUTRIENTES	CONTENIDO DE NUTRIENTES EN 100 GRAMOS					
	INICIAL TODOS LOS GRUPOS	-FINAL GRUPO A	-FINAL GRUPO B	-FINAL GRUPO C	FINAL GRUPO D	FINAL GRUPO E
Protefnas g.	25.6	24.3	24.8	23.5	24.0	24.5
Grasas g.	24.5	22.5	22.8	21.0	22.0	21.5
Carbohidratos g.	39.9	38.7	35.2	39.5	37.9	42.3
Calcio mg.	763	710	647	720	654	710
Fósforo mg.	425	489	525	515	488	481
Hierro mg.	0.6	0.7	0.7	0.8	0.6	0.5
Vitamina A U.I.	1542	565	529	350	254	351
Tiamina mg.	0.6	0.4	0.4	0.6	0.6	0.5
Riboflavina mg.	1.5	1.4	1.1	1.0	1.4	1.1
Niacina mg.	1.9	1.4	1.5	1.7	1.6	1.9
Vitamina C mg.	3.0	3.0	0	0	0	0
Agua g.	5.1	9.3	12.1	10.9	11.2	6.4
pH	6	5.5	5.5	5.5	5.5	6

(1) Las galletas de los grupos A, B, C y D fueron estudiadas durante 7 meses y las del grupo E durante 3 meses.

2. *Aceptabilidad (consumo y demanda).*

a) *Aceptabilidad en pre-escolares.*

En el Jardín de Bello Horizonte, durante las tres primeras semanas del estudio, un alto porcentaje de los niños consumió la galleta en su totalidad. En el Jardín de Tunjuelito, en el cual se hizo una rotación diaria de sabores, se observó un mayor consumo total de la galleta y menos diferencias entre los sabores. En general, el consumo fue del 94% en la totalidad de los niños participantes. Todos los sabores tuvieron buena aceptación, destacándose los de queso y banana. (Cuadro N° 3)

Durante las últimas dos semanas, en el Jardín de Bello Horizonte, los niños demandaron la galleta con mayor frecuencia que el pan, pero menos que la fruta; la galleta logró desplazar en un 51% la demanda de los niños por estos dos alimentos. En el Jardín de Tunjuelito hubo, asimismo, una mayor demanda de la galleta en todos los sabores. La galleta desplazó la preferencia de los niños por la fruta y el pan en un 62%, proporción mayor que la encontrada en el otro jardín. En general, la galleta fue preferida en un 57% cuando se les dio a los niños la oportunidad de escoger entre ésta, pan y fruta. Para todo el estudio, los sabores preferidos fueron los de chocolate, banana y queso (Cuadro N° 4). Cabe destacar que, en todos los casos, la galleta seleccionada fue consumida en su totalidad.

b) *Aceptabilidad en escolares.*

En la escuela de niñas "La Reliquia", sobre un total de 8.207 ofrecimientos, durante las primeras tres semanas del estudio, la galleta fue consumida totalmente en 7.408 oportunidades (90%). En el grupo con rotación de sabores el consumo fue un poco menor (78%), debido a que una de las niñas presentó un episodio diarreico, no relacionado con la ingestión de la galleta, pero que motivó una baja aceptación por algunos días.

En la escuela de niños "Camilo Torres", el consumo se llevó a cabo totalmente en 3.953 oportunidades sobre 5.122 ofrecimientos (77%). En esta escuela no se hizo rotación de sabores. En resumen, en las dos escuelas la galleta fue consumida totalmente en el 85% de los casos y los sabores preferidos fueron los de naranja, chocolate y vainilla (Cuadro N° 5).

En las dos últimas semanas del estudio las niñas prefirieron

CUADRO N° 3

CONSUMO TOTAL DE LAS GALLETAS EN PRE-ESCOLARES, POR SABORES. BOGOTA, 1969

S A B O R E S	JARDIN BELLO HORIZONTE			JARDIN TUNJUELITO			AMBOS JARDINES		
	Consumidores No.	Consumo No.	Consumo %	Consumidores No.	Consumo No.	Consumo %	Consumidores No.	Consumo No.	Consumo %
B A N A N A	545	496	91	547	538	98	1.092	1.034	95
C H O C O L A T E	670	586	87	535	530	99	1.205	1.116	93
N A R A N J A	597	544	91	512	501	98	1.109	1.045	94
P I Ñ A	553	485	88	534	525	98	1.087	1.010	93
Q U E S O	675	664	98	454	434	96	1.129	1.098	97
T O T A L	3.040	2.775	91	2.582	2.528	98	5.622	5.303	94

CUADRO N° 4

DEMANDA COMPARATIVA DE LAS GALLETAS FRENTE A LA FRUTA O EL PAN, EN PRE-ESCOLARES,
POR SABORES. BOGOTA, 1969

S A B O R E S	JARDIN BELLO HORIZONTE			JARDIN TUNJUELITO			AMBOS JARDINES		
	Ofertas No.	Demanda No.	%	Ofertas No.	Demanda No.	%	Ofertas No.	Demanda No.	%
B A N A N A	402	231	57	366	222	61	768	453	59
C H O C O L A T E	433	272	63	358	236	66	791	508	64
N A R A N J A	436	182	42	376	250	66	812	432	53
P I Ñ A	371	169	46	441	244	55	812	413	51
Q U E S O	457	225	49	430	275	64	887	500	56
T O T A L	2.099	1.079	51	1.971	1.227	62	4.070	2.306	57

CUADRO N° 5

CONSUMO TOTAL DE LAS GALLETAS EN ESCOLARES, POR SABORES. BOGOTA, 1969

S A B O R E S	"LA RELIQUIA" (NIÑAS)			"CAMILO TORRES" (NIÑOS)			AMBAS ESCUELAS		
	Consumidores No.	Consumo No.	%	Consumidores No.	Consumo No.	%	Consumidores No.	Consumo No.	%
B A N A N A	1.293	1.179	91	936	585	63	2229	1.764	79
C H O C O L A T E	1.231	1.131	92	1.053	905	86	2.284	2.037	89
N A R A N J A	1.454	1.334	92	920	829	90	2.374	2.163	91
P I Ñ A	1.625	1.491	91	1.084	752	69	2.709	2.243	83
V A I N I L L A	1.505	1.414	94	1.129	881	78	2.634	2.295	87
R O T A C I O N	1.099	859	78		-	-	1.099	859	78
T O T A L	8.207	7.408	90	5.122	3.953	77	13.329	11.361	85

CUADRO N° 6

DEMANDA DE LAS GALLETAS EN ESCOLARES, POR CURSOS, BOGOTÁ, 1969

CURSOS	PROMEDIO DE EDAD DE LOS NIÑOS (AÑOS)	"LA RELIQUIA (NIÑAS)			"CAMILO TORRES" (NIÑOS)			AMBAS ESCUELAS		
		Ofertas No.	Demanda No.	%	Ofertas No.	Demanda No.	%	Ofertas No.	Demanda No.	%
PRIMERO	8	1.659	878	53	595	176	30	2254	1.054	47
SEGUNDO	9	931	528	36	716	292	41	1.647	815	49
TERCERO	10	1.058	528	50	614	325	53	1.672	853	51
CUARTO	11	987	569	58	707	197	28	1.694	766	45
QUINTO	13	648	267	41	733	403	55	1.381	670	49
TOTAL		5.283	2.765	52	3.365	1.393	41	8.648	4.158	48

ron la galleta sobre el pan en el 52% de las oportunidades, mientras que en los niños la demanda fue un poco menor (41%). En las dos escuelas, la demanda total fue del 48% (Cuadro N^o 6). Tanto en los niños como en las niñas los sabores preferidos fueron los de naranja, vainilla y piña.

Ningún niño presentó síntomas digestivos de intolerancia atribuibles al consumo de las galletas.

CONCLUSIONES

El contenido de nutrientes de las galletas estudiadas es realmente elevado, pues tienen 25.6 g% de proteína animal, 24.5g% de grasa, 40.0 g% de carbohidratos y una buena proporción de vitaminas y minerales (con excepción de la vitamina C).

La conservación de las galletas, valorada por la estabilidad de los nutrientes en diferentes condiciones, durante un largo período de observación, fue satisfactoria. El empaque de plástico es el que mejor preserva las galletas del efecto de la humedad ambiental.

En relación con la estabilidad de los nutrientes vale destacar que, con excepción de la vitamina A, no se presentaron pérdidas significativas durante el tiempo de observación. La pérdida anotada de vitamina A se debió básicamente a oxidación, pues fue mayor en las galletas que estuvieron en contacto directo con el aire.

Durante las pruebas de aceptabilidad, en los pre-escolares hubo un alto consumo de la totalidad de la galleta, siendo mayor cuando se hizo rotación diaria de sabores. En los escolares el consumo fue menor, pero también ampliamente satisfactorio.

La demanda comparativa de la galleta en los pre-escolares se considera satisfactoria si se tiene en cuenta que en sólo tres semanas desplazó en una alta proporción a dos alimentos tradicionales en los niños estudiados. Aunque en los escolares la demanda fue un poco menor, se considera muy significativo que la galleta hubiera podido desplazar la preferencia por el pan en el 48% de los casos. Los mejores resultados obtenidos en los pre-escolares pueden ser debidos, en parte, a que en éstos la galleta se suministró simultáneamente con un alimento líquido que facilitó su ingestión.

Los resultados del estudio permiten concluir que las ga-

lletas tienen un alto contenido de nutrientes esenciales, su conservación es satisfactoria y han sido ampliamente aceptadas por niños pre-escolares y escolares de Bogotá, logrando desplazar, en una alta proporción, la preferencia por algunos alimentos tradicionales.

Por consiguiente, pueden ser consideradas como un importante recurso para programas de educación y complementación alimentaria en pre-escolares y escolares. Posteriores estudios determinarán si pueden ser utilizadas también con éxito en otros grupos vulnerables de la población, tales como embarazadas y madres lactantes.

RECOMENDACIONES

Con base en los resultados del presente estudio, se formulan las siguientes recomendaciones:

—Introducir el empleo de las galletas de leche completa elaboradas en Nueva Zelanda, en los programas de educación y complementación alimentaria para niños pre-escolares y escolares, especialmente en aquellos lugares en donde es difícil utilizar la leche líquida o reconstituir la leche en polvo.

—Estudiar la posibilidad de incorporar a la galleta algún agente antioxidante que impida la destrucción de la vitamina A.

—Continuar utilizando el empaque de plástico empleado para proteger las galletas.

—Suministrar la galleta acompañada de un alimento líquido, con el fin de facilitar su consumo.

—Establecer en los programas rotación de sabores para aumentar la aceptabilidad.

—Llevar a cabo estudios similares de aceptabilidad en otros grupos vulnerables de la población, con el fin de investigar la posibilidad de utilizar estas galletas en otros programas de educación y complementación alimentaria.

SUMMARY

Acceptability and shelf life tests of whole milk biscuits

This paper presents the results of a study on conservation and acceptability of a wholemilk biscuit made in New Zeland and available to the Instituto Nacional de Nutrición de Colombia through the World Food

Program. This biscuit is basically made of whole milk, butter and sugar with banana, orange, chocolate, pineapple, cheese or vanilla flavor.

Analysis of nutrient's content as well as conservability were made on 1,500 specimens under different environmental conditions, in Bogotá, for a period of seven months. Results of this analysis showed that its content of nutrients is high (25.6 g% protein, 24.5 g% fat and 40.0 g% carbohydrates) and its conservation under some environmental conditions was adequate, except for Vitamin A, which as a result of its oxidation liability presented a marked reduction of its content.

Acceptability tests were carried out in 234 preschool children and 458 schoolers from Bogotá. Spontaneous consumption was assessed during the initial three weeks of the experiment. During the two ensuing weeks subjects were allowed to choose between the biscuit and bread or fruit (banana or orange), to evaluate the comparative demand.

In preschool children total consumption was 94%. The biscuit was selected in 57% of the instances when subjects were permitted to choose between it and bread or fruit. Cheese and banana flavors were most preferred.

Total consumption of schoolers was 85% and, when confronted with the already mentioned alternatives, the biscuit was selected in 48% of cases. The preferred flavors in this group were orange, chocolate and vanilla.

This study concludes that acceptability of the biscuit was high in preschool children as well as in schooler subjects. When it is also considered its high content of nutrients, adequate conservation and easy handling, its importance in the food supplementation and nutritional education programs to be carried out in countries with high prevalence of malnutrition becomes obvious.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Pérez, B.—La dinámica de la desnutrición. V. Consideraciones sobre la prevención de la desnutrición crónica. *Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.)*, 21 (1): 51, 1964.
- (2) Chapman, L., D. King, W. McGillivray, P. Robertson.—The New Zealand Milk Biscuit, *N. Z., J. Dairy Tech.* Vol. 1, N^o 1, March 1966.
- (3) AOAC. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*. Ed. William Horwitz, 9^a Ed. Washington, 1960.
- (4) Association of Vitamin Chemists. *Methods of Vitamin Assay*. Ed. Interscience Publishers. New York, 1966.

Dilution of proteins with nonessential amino acids and inorganic nitrogen¹

J. EDGAR BRAHAM² AND RICARDO BRESSANI³
Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP),
Guatemala, C. A.

SUMMARY

The effect of adding one fourth, one half and the total amount of non-essential amino acids of different proteins at two different levels of protein in the diet was studied in rats. Also the effect of replacing the nonessential amino acid mixture with a nonspecific source of nitrogen (diammonium citrate) was studied. Results indicate that nonessential amino acid addition to a diet containing a good quality protein such as egg protein, has no significant effect on weight gain although nitrogen from this source was less efficiently utilized. The same results were obtained with nonprotein nitrogen in the diet. When proteins deficient in one of the essential amino acids, such as casein, soybean or cottonseed protein were fed at a 10 percent level, addition of nonessential amino acids decreased weight slightly and nitrogen retention significantly. Increasing the protein level to 15 percent counteracted the depressive effect of growth of nonessential amino acid addition. Nonprotein nitrogen added to the diet did result in low weight gains and nitrogen utilization.

The results suggest that response to nonessential amino acid addition is dependent on the amino acid make-up of the protein, while nonprotein addition in relatively large quantities depresses weight gain and nitrogen utilization, irrespective of protein make-up or level in the diet.

INTRODUCTION

Although it is recognized that ten of the commonly occurring amino acids are indispensable for the rat, during the last

1 Supported by National Institutes of Health, Grant No. AM-3811.

2 From the Division of Agricultural and Food Science.

3 Head of the same Division.

Recibido: 14-7-1969

INCAP Publication I-507

years attention has been given to the role played by the non-essential or dispensable amino acids, especially when they are fed in a nonprotein diet containing synthetic essential amino acids. Thus, Womack and Rose (1) showed that glutamic acid, proline and arginine stimulated the growth of weanling rats. Of these three amino acids, arginine is now considered an indispensable amino acid for the rat but proline and glutamic acid are considered dispensable. Rosenberg (2) suggested that approximately equal quantities of nitrogen should be supplied from dispensable and indispensable amino acids and Frost and Sandy (3) estimated, in protein-repletion studies with rats, that 20 to 30 percent of the nitrogen supplied in amino acid diets should be "other than essential amino acid nitrogen for maximum repletion".

The studies of Lardy and Feldott (4) showed that eight of the nonessential amino acids could be replaced on an isonitrogenous basis, with diammonium citrate when the diet contained all the essential amino acids in adequate proportions. Other sources of nonprotein nitrogen, such as glycine, urea and ammonium acetate, have also been studied.

The present study was carried out to determine the effect on the weight gain and nitrogen utilization of rats, of adding one fourth, one half and the total amount of nonessential amino acids of different proteins, at two different levels of protein intake. The effect of replacing the nonessential amino acid mixture by a nonspecific source of nitrogen such as diammonium citrate was also studied.

MATERIALS AND METHODS

Weanling rats of the Wistar strain from the INCAP colony were fed the basal diet shown in Table No. 1. To this diet the protein sources under study, casein and egg, soybean and cottonseed flours, were added at a level to provide 10 and 15 percent of protein in the diet. The essential and nonessential amino acid content of the proteins, under test, was tabulated and the amount contained in the percentage of protein for a given diet calculated. Mixtures of nonessential amino acids to supply 25, 50 and 100 percent of the original concentration in the protein tested were added to the diets. The nonessential amino acids used were Glycine, L-Serine, L-Glutamic acid,

TABLE No. 1

COMPOSITION OF THE BASAL DIET

Ingredient	%
Mineral mixture ¹	4.0
Cottonseed oil	5.0
Cod liver oil	1.0
Cornstarch	90.0
Vitamin mixture ² , ml	5

¹Hegsted, D. M. *et al.* J. Biol. Chem., 138:459-466; 1941.

²Manna, L. & S. M. Hauge. J. Biol. Chem., 202:91-96, 1953.

L-Aspartic acid, L-Proline, L-Alanine and L-Tyrosine. Table No. 2 shows the calculations for the 10 percent casein diet as an example. The first column of figures shows the percentage of the amino acids in casein, the second column the amount of these amino acids in 11.2 grams of casein which supplied 10 percent of protein to the diet, and the next three columns show the calculations for the amounts of amino acids to be added in order to supply 25, 50 and 100 percent of the concentration in the original protein. This procedure was followed for all proteins tested at the two selected protein levels.

The rations were analyzed for nitrogen by the macro-Kjeldahl procedure (5). The essential and nonessential amino acid nitrogen was calculated as was also their ratio (I/D ratio), the latter according to Stucki and Harper (6). Table 3 shows the I/D ratios for the different diets at the 10 percent protein level. Since the proportions at the 15 percent level

TABLE No. 2

AMOUNTS OF NONESSENTIAL AMINO ACIDS ADDED TO EXPERIMENTAL DIETS

Amino acid	% in casein	in 11.2g casein g	25% concentration, g	50% concentration g	100% concentration g
Glycine	1.987	0.222	0.056	0.111	0.222
L-Serine	6.645	0.744	0.186	0.372	0.744
L-Glutamic acid	23.052	2.582	0.646	1.291	2.582
L-Aspartic acid	7.393	0.828	0.207	0.414	0.828
L-Proline	11.749	1.313	0.328	0.656	1.313
L-Alanine	3.354	0.376	0.094	0.188	0.376
L-Tyrosine	5.819	0.652	0.163	0.326	0.652
TOTAL		6.717	1.680	3.358	6.717

Taken from: Orr, M. L. & B. K. Watt. Amino acid content of foods.

Washington, D. C., U. S. Department of Agriculture, 1957.

Home Economics Research Report No. 4. 41 p.

TABLE No. 3

I/D RATIOS OF EXPERIMENTAL DIETS AT A 10% PROTEIN LEVEL

Diet	% of nonessential amino acids added			
	0	25	50	100
Casein	1.15	0.92	0.77	0.58
Egg protein	1.44	1.15	0.96	0.72
Soybean protein	1.14	0.92	0.76	0.57
Cottonseed protein	1.39	1.11	0.93	0.69

were the same, the I/D ratios would also be the same as for the 10 percent level. The ratios in the control diet were close to one showing a 50-50 concentration of essential and non-essential amino acid nitrogen. As increasing amounts of non-essential amino acids were added, the ratio decreased to near half the original value.

The nitrogen supplied by the nonessential amino acid mixtures was calculated in terms of diammonium citrate; then added to diets at the two levels of protein tested and at the three levels of nonessential amino acid addition. These diets were also analyzed for nitrogen by the Kjeldahl method (5). All diets were fed to groups of 22 day old rats of the Wistar strain of the INCAP colony, 4 male and 4 female for a period of four weeks. The rats were placed in individual all wire screen cages with raised screen bottoms. Weight and feed consumption were recorded weekly and, at the end of the experiment, nitrogen efficiency ratio was calculated. Statistical significance of the data was determined by the methods outlined by Snedecor (7).

RESULTS

Table No. 4 shows the results for weight gain and nitrogen efficiency ratio when the casein diet was fed at 10 and 15 percent with nonessential amino acids and diammonium citrate. Addition of nonessential amino acids decreased weight gain significantly ($P < 0.01$) at the 10 percent protein level. This effect was not detected at the 15 percent protein level. In both cases, nitrogen utilization decreased with increasing levels of either of the nitrogen sources added at both levels of protein intake. Addition of diammonium citrate decreased significantly ($P < 0.01$) both weight gain and nitrogen efficiency ratio. Table No. 5 shows the results with egg protein. Addition of either nonessential amino acids or diammonium citrate did not affect significantly weight gain at any of the three levels of the protein tested. The tendency of the nitrogen efficiency ratio was to decrease with increasing levels of either source of nitrogen.

Table No. 6 shows the results when soybean meal was fed at levels to provide 10 and 15 percent of protein. Addition of nonessential amino acids resulted in slight increase in weight

TABLE No. 4

EFFECT OF DILUTING THE PROTEIN IN CASEIN WITH NONESSENTIAL AMINO ACIDS OR INORGANIC NITROGEN ON ITS NUTRITIVE VALUE

Protein in diet %	Parameter	A D D I T I O N			
		0 %	.25 %	50 %	100 %
<u>Nitrogen of nonessential amino acids</u>					
10	Increase in weight, g	130	128	114	106
	NER	19.6	17.7	15.3	12.6
	Nitrogen in diet, %	1.65	1.83	2.01	2.39
15	Increase in weight, g	145	147	142	151
	NER	16.2	14.2	13.5	11.4
	Nitrogen in diet, %	2.26	2.54	2.75	3.36
<u>Inorganic Nitrogen</u>					
10	Increase in weight, g	130	116	92	77
	NER	19.6	18.2	13.5	10.4
	Nitrogen in diet, %	1.65	1.71	2.02	2.24
15	Increase in weight, g	145	141	133	96
	NER	16.2	15.2	14.4	10.3
	Nitrogen in diet, %	2.26	2.38	2.69	3.30

Average initial weight: 46 g

TABLE No. 5

CHANGES IN WEIGHT AND NER OF RATS FED DIETS CONTAINING WHOLE EGG
 PROTEIN AND DILUTED WITH NONESSENTIAL AMINO ACIDS OR
 INORGANIC NITROGEN

Parameter	0 %	25 %	50 %	100 %
<u>Nitrogen of nonessential amino acids</u>				
10% Protein				
Increase in weight, g	123	123	121	124
NER	22.5	20.5	18.8	16.4
Nitrogen in diet, %	1.70	1.85	2.00	2.29
12.5% Protein				
Increase in weight, g	132	126	130	131
NER	19.4	17.3	17.2	15.1
Nitrogen in diet, %	2.10	2.28	2.45	2.84
15% Protein				
Increase in weight, g	133	136	128	127
NER	17.2	16.5	14.3	11.8
Nitrogen in diet, %	2.50	2.69	2.94	3.39
<u>Inorganic Nitrogen</u>				
10% Protein				
Increase in weight, g	123	114	109	117
NER	22.5	18.5	18.0	18.3
Nitrogen in diet, %	1.70	1.94	2.10	2.15
12.5%, Protein				
Increase in weight, g	132	137	124	122
NER	19.4	16.9	16.4	14.5
Nitrogen in diet, %	2.10	2.37	2.46	2.72
15% Protein				
Increase in weight, g	133	133	123	125
NER	17.2	15.7	14.4	13.5
Nitrogen in diet, %	2.50	2.69	2.94	3.10

TABLE No. 6

**EFFECT OF SOYBEAN PROTEIN DILUTION WITH NONESSENTIAL AMINO
ACIDS AND NITROGEN ON ITS PROTEIN VALUE**

Protein in diet %	Parameter	D I L U T I O N			
		0 %	25 %	50 %	100 %
<u>Nitrogen of nonessential amino acids</u>					
10	Increase in weight, g	91.	106	97	99
	NER	16.6	15.7	13.9	12.0
	Nitrogen in diet, %	1.49	1.64	1.78	2.07
15	Increase in weight, g	138	147	134	143
	NER	11.4	11.8	10.1	9.4
	Nitrogen in diet, %	2.62	2.77	3.08	3.47
<u>Inorganic Nitrogen</u>					
10	Increase in weight, g	91	75	68	60
	NER	16.6	13.2	11.6	9.4
	Nitrogen in diet, %	1.49	1.66	1.89	2.16
15	Increase in weight, g	138	131	124	07
	NER	11.4	10.9	10.0	7.8
	Nitrogen in diet, %	2.62	2.84	3.05	3.49

Average initial weight: 47 g

gain at the 10 percent protein level but no significant effect could be detected at the 15 percent level. Addition of diammonium citrate resulted in significant ($P < 0.01$) decrease in weight gain. Nitrogen efficiency ratio was decreased by adding nonessential amino acids at the 10 percent protein level but was not affected when the protein level was raised to 15 percent. Addition of diammonium citrate resulted in a significant ($P < 0.01$) decrease of nitrogen utilization at either level of protein tested.

Table No. 7 shows the results obtained when cottonseed meal was fed to provide 10 and 15 percent of protein in the diet. Addition of nonessential amino acids resulted in lower weight gains only when the 10 percent level was fed; at 15 percent of protein the addition of nonessential amino acids did not have any effect on weight gain. At either level of

TABLE No. 7

EFFECT OF COTTONSEED PROTEIN DILUTION WITH NONESSENTIAL AMINO ACIDS
OR INORGANIC NITROGEN ON THE PROTEIN VALUE

Protein in diet %	Parameter	D I L U T I O N			
		0 %	25 %	50 %	100 %
<u>Nitrogen of nonessential amino acids</u>					
10	Increase in weight, g	97	100	88	101
	NER	13.5	12.6	10.9	11.1
	Nitrogen in diet, %	1.78	1.91	2.04	2.30
15	Increase in weight, g	144	144	136	138
	NER	14.0	13.0	11.6	10.3
	Nitrogen in diet, %	2.25	2.45	2.65	3.04
<u>Inorganic Nitrogen</u>					
10	Increase in weight g	97	80	70	63
	NER	13.5	11.4	10.1	8.9
	Nitrogen in diet, %	1.78	1.91	2.04	2.30
15	Increase in weight, g	144	133	120	121
	NER	14.0	12.2	10.9	10.0
	Nitrogen in diet, %	2.25	2.45	2.64	3.03

Average initial weight: 47 g

protein the nitrogen efficiency ratio decreased. When diammonium citrate was fed there was a significant ($P < 0.01$) decrease in weight gain and nitrogen utilization at either level of protein.

DISCUSSION

The results indicate that addition of nonessential amino acids to a diet containing a good quality protein, such as egg protein, has no significant effect on weight gain although nitrogen from this source is apparently less efficiently utilized by a growing organism. The same results were obtained when nonprotein nitrogen was added to the diet.

When proteins deficient in one of the essential amino acids, such as casein, soybean or cottonseed protein were fed at a ten percent level, addition of nonessential amino acids decreased weight slightly and nitrogen utilization significantly, particularly at the higher levels of addition. Increasing the protein level to 15 percent counteracted the depressive effect on growth caused by the addition of nonessential amino acids. This may be due to the fact that addition of nonessential amino acids could increase the requirement for some of the essential amino acids. Hepburn *et al.* (8) found that the requirement for arginine was increased to unusually high levels by the addition of nonessential amino acids to the diet.

If the requirement for an essential amino acid or amino acids is increased, this increase would result in lower weight gains and nitrogen utilization in those proteins which have marginal levels for one or more of the essential amino acids. In this case, the deficiency of a particular amino acid would be increased by the addition of nonessential amino acids and this in turn, would result in lower weight gains and nitrogen utilization as was the case in the present study. The increase of protein level to 15 percent would counteract the deficiency, but the efficiency of protein utilization will remain low.

Young and Villarreal (9), using 15 percent protein milk diets, reported a decreased utilization of the nitrogen of diets in which the milk protein was partially replaced by nonspecific nitrogen. Supplementation of the diets containing 10.5 percent protein and nonspecific nitrogen with sulfur amino acids, did not restore growth to the maximum rate obtained with the 15 percent milk protein diets.

The effects of the nonessential amino acid nitrogen and of the inorganic nitrogen of the present investigation are, however, confounded since the addition of either source of nitrogen increased total nitrogen of the diet. These increases in nitrogen content would tend to reduce nitrogen efficiency ratio (NER), which is the ratio of weight gained over total nitrogen consumed. It is well established that as nitrogen or protein content of the diet increases, NER or protein efficiency ratio (PER) decreases (10). The conclusions presented are, however, valid particularly with respect to the experiments in which inorganic nitrogen was used, not only because weight gained decreased with higher additions of this source but when

comparisons of NER are made at similar levels of nitrogen in the diet in those groups fed nonessential amino acid nitrogen, lower NER values are found the higher the addition of inorganic nitrogen. This is also true for nonessential amino acid nitrogen additions, particularly for the proteins with a deficiency of an essential amino acid and at the lower levels of protein in the diet.

The highest depressing effects were observed with the vegetable proteins with either nonessential amino acid nitrogen or inorganic nitrogen and, furthermore, the effect seems to be independent of the I/D amino acid ratio of the protein.

Recently, Daniel *et al.* (11) indicated that the addition of glutamic acid to egg or milk protein did not alter weight gain from that obtained by feeding egg or milk alone. The addition, however, decreased PER in both proteins and in this case the decrease was not confounded with proteins levels since the diets were isonitrogenous.

This data indicate, therefore, that the attempts to dilute milk protein with nonessential nitrogen as a means of extending milk supplies should be discouraged particularly if such modified milks are intended for distribution in developing countries, where most, if not all protein ingested, is derived from vegetable sources (12). This is even more important in the case of vegetable protein concentrates which have deficiencies of essential amino acids and are of lower digestibility than animal proteins.

RESUMEN

Dilución de proteínas con aminoácidos no esenciales y nitrógeno inorgánico

Se llevó a cabo un estudio, en ratas, del efecto que tiene el agregado de un cuarto, un medio y una cantidad total de aminoácidos no esenciales de diferentes proteínas a dos niveles diferentes de contenido de proteína en la dieta. También se estudió el efecto que tiene el reemplazar mezclas de aminoácidos no esenciales con una fuente no específica de nitrógeno (citrato de diamonio). Los resultados indicaron que el agregado de los aminoácidos no esenciales a una dieta que contiene una proteína de buena calidad, tal como la proteína del huevo, no tiene ningún efecto significativo en el aumento de peso, aunque el nitrógeno de esta fuente fue el que se utilizó con menos eficiencia. Los mismos resultados se obtuvieron con el nitrógeno no proteínico en la dieta. Cuando las proteínas deficientes en uno de los aminoácidos esenciales, como es la caseína, frijol de soya y pro-

teína de semilla de algodón, fueron suministrados a un nivel de 10%, el agregado de aminoácidos no esenciales disminuyó el peso levemente y la utilización de nitrógeno significativamente. Al incrementarse la proteína a un nivel del 15% esto contrarrestó el efecto depresivo del agregado de aminoácidos no esenciales. El agregado de nitrógeno no proteínico a la dieta resultó en baja de peso y baja utilización de nitrógeno.

Los resultados obtenidos sugieren que la respuesta del agregado de aminoácidos no esenciales depende del patrón de aminoácidos de la proteína, mientras que el agregado no proteínico en cantidades relativamente grandes deprime la ganancia de peso y la utilización del nitrógeno sin importar el contenido o nivel de proteína en la dieta.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Womack, M. & W. C. Rose.—The role of proline, hydroxyproline, and glutamic acid in growth. *J. Biol. Chem.*, 171: 37-50, 1947.
- (2) Rosenberg, H. R.—Supplementation of foods with amino acids. *J. Agric. Food Chem.*, 7: 316-321, 1959.
- (3) Frost, D. V. & H. R. Sandy.—Utilization of non-specific nitrogen sources by the adult protein-depleted rat. *J. Biol. Chem.*, 189: 249-260, 1951.
- (4) Lardy, H. A. & G. Feldott.—The net utilization of ammonium nitrogen by the growing rat. *J. Biol. Chem.*, 179: 509-510, 1949.
- (5) Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, 9th ed., Washington, D. C., 1960.
- (6) Stucki, W. P. & A. E. Harper.—Effect of altering the ratio of indispensable to dispensable amino acids in diets for rats. *J. Nutr.*, 78: 278-286, 1962.
- (7) Snedecor, G. W.—*Statistical Methods, applied to experiments in Agriculture and Biology*, 5th ed. Ames, Iowa, The Iowa State College Press, 1956.
- (8) Hepburn, F. N., W. K. Calhoun & W. B. Bradley.—A growth response of rats to glutamic acid when fed an amino acid diet. *J. Nutr.*, 72: 163-168, 1960.
- (9) Young, V. R. & A. Villarreal.—Effect in rats of partial replacement of cow's milk protein by non-specific nitrogen. *J. Food Sci.* (in press).
- (10) Braham, J. E., L. G. Elías, S. de Zaghi & R. Bressani.—Effect of protein level and duration of test on carcass composition, net protein utilization (NPU) and on protein efficiency ratio (PER). *Nutr. Dieta*, 9: 99-111, 1967.
- (11) Daniel, V. A., B. L. M. Desai, S. Venkat Rao, M. Swaminathan & H. A. B. Parpia.—Dilution of cow's milk and egg proteins with glutamic acid and the effect on the protein efficiency ratio. *J. Food Sci.*, 33: 432-435, 1968.
- (12) Scrimshaw, N. S. & M. Béhar.—Protein malnutrition in young children. *Science*, 133: 2039-2047, 1961.

The effect of malnutrition on the inflammatory response

**As Exhibited by the Development of the Granuloma Pouch
of the Rat after the Inoculation of Bacteria¹**

**PATRICIA E. TAYLOR², CARLOS TEJADA³
AND MARGARITA SÁNCHEZ⁴**

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

SUMMARY

The present experiments describe the effect of host nutritional state on inflammation and the local tissue response of the rat after the inoculation of *S. aureus* into the granuloma pouch. Higher concentrations of the test organism were encountered in the pouch exudates of animals fed a deficient diet containing 3 to 4% protein, than in those given a complete ration, containing approximately 28% protein. Also, bacterial invasion of the pouch wall was observed in 3 malnourished rats but in none of the well-nourished. These observations were considered to be possible consequences of the depressed inflammatory response found in malnourished rats.

Pyogenic membrane formation was found in a significantly higher proportion of malnourished infected rats than from well-nourished animals. This may have been a reflection of fundamental differences in the physiological processes required by malnourished rats to handle infection in the

1 This work was carried out while P. E. Taylor held a graduate Research Fellowship given by the Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP). It formed part of a thesis for which she was awarded the degree of Ph. D. by the University of California. Investigation supported by grant AM-5323 from the National Institutes of Health.

(INCAP Publication I-505)

2 Present address: Department of Bacteriology and Immunology, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, England.

3 Chief of the Education Division of INCAP.

4 Scientist of the Unit of Pathology, INCAP.

Recibido: 15-9-69

pouch. Furthermore, a significantly higher proportion of malnourished rats were found to be accidentally infected with a wide variety of microorganisms. However, no significant difference was found in the systemic response of the 2 dietary groups to the various type of inoculum used.

INTRODUCTION

Earlier studies in rats (1) have shown that malnutrition, induced by feeding a low-protein diet, is accompanied by an inhibition of local inflammation, as exhibited by the development of the granuloma pouch of the rat (2). This inhibition, it was felt, resulted in an increased susceptibility to accidental infection in the pouch. The present paper describes the local and systemic reactions in experimental rats following the inoculation of bacteria into the granuloma pouch.

MATERIALS AND METHODS

Experimental Groups. The source, handling and care of the experimental animals, the composition of the diets and the preparation of the granuloma pouch by the subcutaneous injection of croton oil have been described (1). Male, Sprague-Dawley rats, 4 to 5 weeks old, with a weight range of 90-184 g were subdivided into 4 groups. Groups I and II received a complete diet, containing approximately 28% protein, throughout the experiment. Groups III and IV were changed from the complete diet to a deficient diet containing 3 to 4% protein, 3 days before the preparation of the pouch. Groups I and III were inoculated with bacteria while groups II and IV received a non-viable inoculum. The period of dietary deficiency was selected in order to produce a moderate deficiency state (3) in the malnourished rats by the time the adaptive mechanisms were called upon to handle the experimental infection produced in the pouch 5 or 6 days later.

In earlier studies (1), the experiments were referred to as A and B. The experiments described in the present paper will be referred to as C and D. In experiment C, there were 11 and 13 animals in groups I and III respectively and 8 animals in each of groups II and IV. Animals were sacrificed and examined according to the following schedule: 4 from groups I and III and 2 from groups II and IV, 1 day

after inoculation; 4 from groups I and III and 3 from groups II and IV, 3 days after; and the remainder 6 days after. In experiment D, there were 13 animals in each of groups I and III and 7 in groups II and IV. Two animals from each of groups I and III were sacrificed 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days after inoculation, and the remaining one 13 days after. One animal from each of groups II and IV was sacrificed at the above times. Preliminary examination indicated that the statistical analysis gave more meaningful results when the data were grouped into 4 periods - 1 to 2, 3 to 4, 5 to 6 and 13 days after the introduction of the test inoculum.

Replacement of Croton Oil Exudate with Test Inoculum.

The test organism was a strain of *Staphylococcus aureus* isolated on blood agar from the purulent exudate of a malnourished rat from experiments described earlier (1). Immediately after isolation, a stock culture was prepared on Difco⁵ stock culture medium. Bacterial suspensions for inoculation into the pouches of groups I and III were made from nutrient agar slants seeded directly from the stock culture. After 18 hours growth at 37°C; the bacteria were suspended in isotonic saline solution, washed once and resuspended in 10 ml of fresh diluent. Thorough shaking served to break up any large clumps. Viable bacterial counts were made by means of agar pour plates (4). One ml of original suspension + 4.0 ml 6% dextran (Intradex⁶) were inoculated into the pouches of groups I and III. In experiment C, approximately 120×10^7 bacteria were inoculated into each pouch, while in experiment D, each pouch received approximately 197×10^7 bacteria. Groups II and IV received 1.0 ml sterile saline + 4.0 ml 6% dextran.

In preliminary studies using isotonic saline solution alone as diluent, there was a rapid disappearance of the fluid phase of the inoculum from the pouches of malnourished rats. This made comparative, quantitative studies between the 2 nutritional groups difficult. Six % dextran, which has been found useful as a plasma expander (5, 6) was incorporated into the diluent in an attempt to maintain an osmotic gradient between

⁵ Difco Laboratories, Detroit, Michigan.

⁶ Glaxo Laboratories Ltd., Greenford, England.

the extravascular and the pouch fluids, sufficient to promote retention of fluid in the pouch.

Five days after the preparation of the pouch in experiment C and 6 days after in experiment D, the croton oil-induced exudate was removed, and the inner surface of the pouch washed once with 10.0 ml isotonic saline. After removal of the saline, 10.0 ml air was introduced in order to re-form the pouch, which was then injected with the test inoculum. The site of insertion of the needle was sealed with a drop of colloid. The preparation and inoculation of bacteria were carried out after the injection of pouches receiving the non-viable inoculum, and the whole procedure took place on the same day.

Exudate formed as a result of croton oil injection is labeled exudate "1". The fluid accumulated in the pouch subsequent to the introduction of the test inoculum is referred to as exudate "2".

Blood Studies. Tail blood samples were obtained from all groups of animals at various times during the experiments, for determining total and differential counts. The sample size for each group was progressively decreased as animals were sacrificed.

Exudate "2". Exudate "2" was harvested in essentially the same way as exudate "1" (1). After thorough mixing and shaking to break up large clumps, samples were taken for one or more of the following determinations: cytological characteristics, phagocytic activity and bacterial content. After centrifugation at 3,000 r.p.m. for 15 mins., the supernatant was removed and stored at -20°C ; selected samples were later examined by starch gel electrophoresis; these results will be presented in a separate publication.

Exudate "2" or the inner scraping of pouches that contained no exudate "2" were cultured on blood agar for evidence of accidental bacterial infection. In addition, exudates "2" from experimentally inoculated pouches were cultured on Chapman Stone medium⁷ for the reisolation of the test organism. Viable bacterial counts were determined by the same method described for the original suspension. Serial dilutions of the exudate "2" containing bacteria were made in sterile 0.85% saline solution. It is realized that this may not have

7 Difco Laboratories, Detroit, Michigan.

given a true indication but actually an underestimate of the concentration of bacteria because of large numbers of intracellular organisms. Rupture of some of the cells by vigorous shaking of exudate "2" before taking the test aliquot, and the possible loss of viability of intracellularly-located organisms helped to reduce the error.

Coverslips for the determination of the cytological characteristics of exudate "2" and *in vivo* phagocytic activity were prepared and stained in the same way as for differential counts for circulating blood. The concentration of erythrocytes, polymorphonuclear neutrophils (p.m.n) and mononuclear cells relative to each other were estimated subjectively for each smear under high power in a light microscope, using an arbitrary grading system of 0 to 10 units. Five fields were read if the relative concentrations in each field were fairly uniform. However, if they were not, more fields were read. The presence of macrophages, if noticeable, was recorded. The cellularity, i. e., the concentration of nucleated cells in each smear, relative to the remaining smears, was also estimated subjectively using a grading of 0 to 5+, by quickly scanning the preparation under low power. Similarly, the concentration of bacteria was noted, and their intra- and extracellular concentrations estimated under high power. These examinations were carried out in order to give some indication of the ability of the animal to mobilize the leucocytes needed for local defense at the site of the inflammatory lesion; and to determine if diet influences the cellular content of the inflammatory exudate.

The abundance of bacteria and nucleated cells in exudate "2" smears, estimated by the method described is not strictly comparable from smear to smear because exactly equivalent volumes of exudate "2" were not used in all preparations. However, it was hoped that the results obtained would support suggested tendencies derived from other observations and to indicate additional trends.

Pilot studies showed that neutrophils were the predominant phagocytic cell type in purulent exudates obtained from the pouch. Active macrophages were seen in comparatively small numbers. Consequently, phagocytic activity was measured under high power by determining the percentage of neutrophils containing bacteria. This activity is qualified by the con-

centration of bacteria remaining extracellular, because it depends not only on the competence of the phagocytic cells but also on their relative abundance with respect to the concentration of bacteria present. Many studies on the phagocytic activity of neutrophils have employed *in vitro* test systems such as those utilized by Cottingham and Mills (7) and Berry *et al.* (8). In the present studies, the phagocytic cells carry out their activities within the animal body, in the medium of the pouch. This eliminates many of the variables involved in estimating the activity of the cells after removal from their natural environment and after subjecting them to laboratory treatment. However, it is realized that the method takes into consideration only the intracellular location of bacteria and not their subsequent destruction.

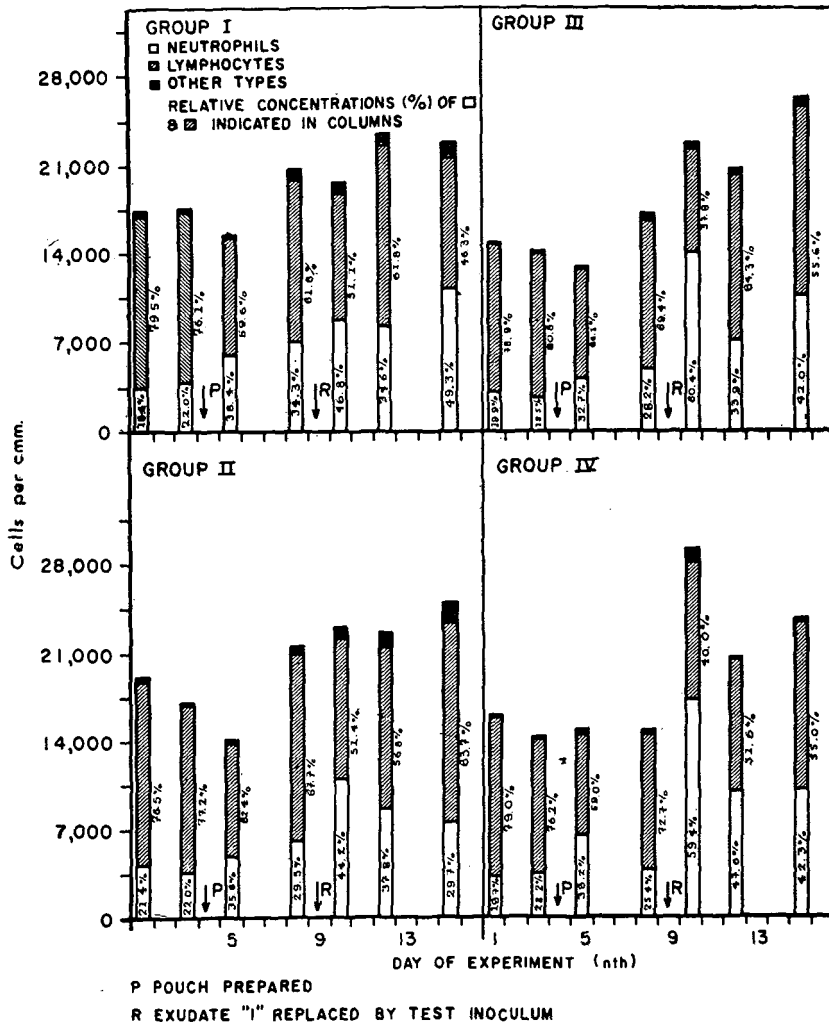
Histological Examinations. In addition to the routine histological examination of the pouch (1), the type of exudate present in the pouch section was noted. Exudates containing relatively large amounts of fibrin are termed fibrinous; those containing, in addition, high concentrations of neutrophils are termed fibrinopurulent. Specimens of kidney and in some cases liver and spleen were taken in order to study the histopathological effects, if any, of dextran.

Statistical Analysis. Unless otherwise stated, the data were analyzed by the analysis of variance using the F test as the test of significance (9).

RESULTS

Blood Studies. Leucocytosis following the injection of croton oil was evident in all groups of both experiments except group IV of experiment C (Figures 1 and 2). This was generally accompanied by somewhat transient increases in the relative and absolute concentrations of neutrophils.

Further increases in both total and neutrophil counts followed the introduction of the test inoculum into the pouch. The overall time trend for the total counts in each experiment was highly significant ($P < 0.01$), but no statistically significant difference was found between the individual group trends nor between the effects of the 2 inocula on the overall mean count. The dietary effect was significantly different only in experiment C ($P < 0.01$). This probably stemmed from a



Incap 63-921

Fig. 1: Experiment C. Mean total and differential counts of circulating blood.

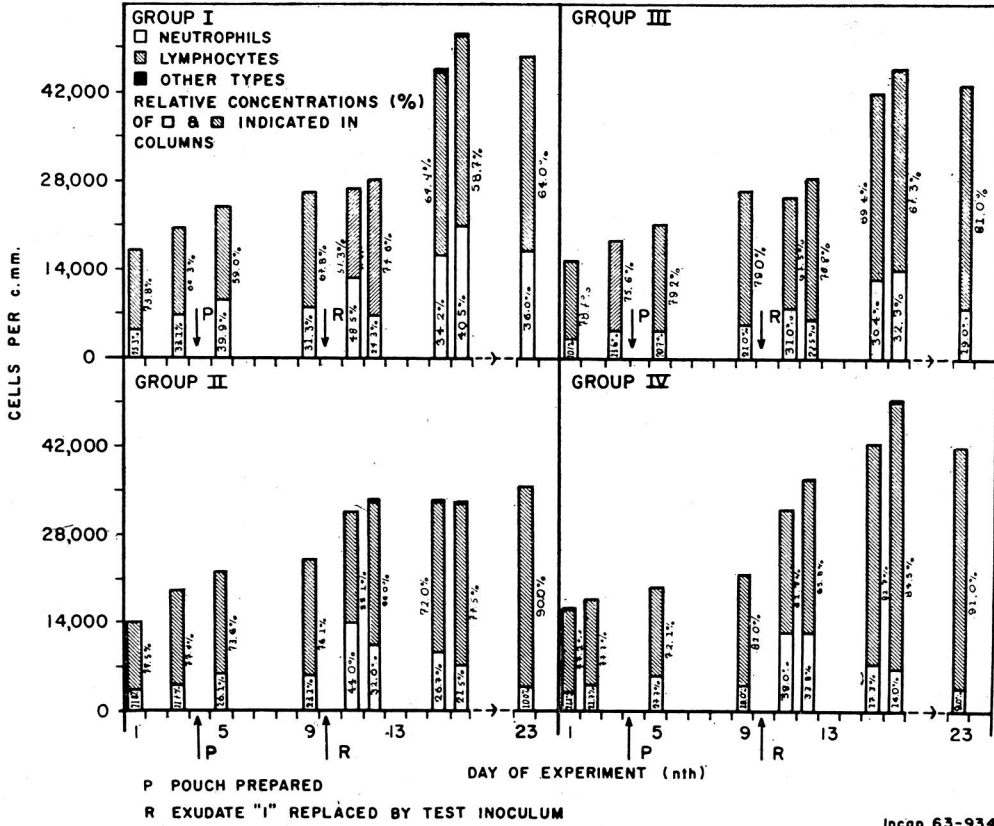


Fig. 2: Experiment D. Mean total and differential counts of circulating blood.

chance initial difference of more than 2,000 cells per cm between the overall mean for the well-nourished groups I + II, $18,080 \pm 1,010$, and the malnourished groups III + IV, $15,350 \pm 740$. This difference was apparent until the 8th day of the experiment, and was sufficiently great not to be cancelled out by the high maximum counts attained subsequently by the malnourished groups. In both experiments, the injection of saline-dextran into groups II and IV appeared to produce a more immediate response than the inoculation of bacteria-saline-dextran into groups I and III. In the latter groups, there may have been an immediate demand for circulating cells at the site of inoculation with a consequent masking of initial increases in the circulation.

Reciprocal compensation for the variation in relative concentration of neutrophils stemmed essentially from variation in the relative concentration of lymphocytes. In certain groups an initial decrease in the absolute concentration of lymphocytes after the injection of croton oil and/or the introduction of the test inoculum into the pouch was followed by an increase to values equal to or greater than those obtained before the preparation of the pouch (Figures 1 and 2). The decrease noted may have been a reaction to increased stress caused by the introduction of the test inoculum, and is in accord with the "General Adaptation Syndrome" of Selye (10).

The effects of the 2 inocula on the differential counts in experiment D appeared to be dissimilar. Saline-dextran resulted in a progressive decrease in the absolute concentration of neutrophils in groups II and IV from high post-injection values, and a continuous increase in the absolute concentration of lymphocytes. Bacteria-saline-dextran resulted in an intermittent increase in neutrophils in groups I and III, and successive increases in lymphocytes after the post-inoculation decreases mentioned above. In experiment C, there was a similar but less well-defined difference.

Re-calculation of the mean total and differential counts after omitting accidentally infected rats (see below) did not result in any notable change in the trends observed.

Characteristics of the Exudate.

Volume: The accumulation of exudate "1" in the pouch generally followed the pattern already described (1). In ex-

periment C, the formation of exudate "1" was less marked than in experiment D. Although the batch of 1% croton oil used in experiment C for the preparation of the pouch was able to stimulate a system leucocytic-neutrophilic response (Figure 1), its potency in promoting local exudates formation appeared to be reduced. This may have occurred during storage of the concentrated croton oil or during its dilution with corn oil and subsequent sterilization.

Figure 3 gives the mean volumes of exudate "2" harvested at post-mortem from animals in experiment D. The pattern obtained for experiment C was similar. Observations made at 13 days after the introduction of the test inoculum are not included in Figure 3, and were not used in the statistical analysis; only 1 of the pouches examined at this time (from group II) contained a measurable volume of fluid (5.0 ml).

Irrespective of the type of inoculum the groups that had received the complete diet yielded more exudate "2" than the corresponding groups fed the deficient diet. The overall difference was significant ($P=0.05$ in experiment C and $P=0.01$ in experiment D). The means for groups III and IV decreased progressively with time, whereas those for group I remained above the volume of inoculum introduced and group II increased with time. Furthermore, irrespective of the type of diet, the overall mean in both experiments for groups inoculated with bacteria was significantly greater ($P<0.01$) than for groups injected with saline-dextran.

The removal of values for accidentally infected rats in groups II and IV resulted in a decrease in the means by 1.0 to 6.0 ml. This parallels the observations made in previous studies (1) that accidental infection in the pouch is associated with an increased accumulation of exudate "1".

Gross appearance: Because of active bacterial proliferation in the pouches as a result of experimental inoculation, all of the exudates "2" from groups I and III were purulent. Those from group III tended to be more viscous and opaque than those from group I. The one pouch from each of groups I and III from experiment D, examined 13 days after inoculation, yielded rather dry-looking lumps of pus which could not be broken up easily by shaking in isotonic saline solution. A number of the early exudates "2" had a slightly pinkish tinge

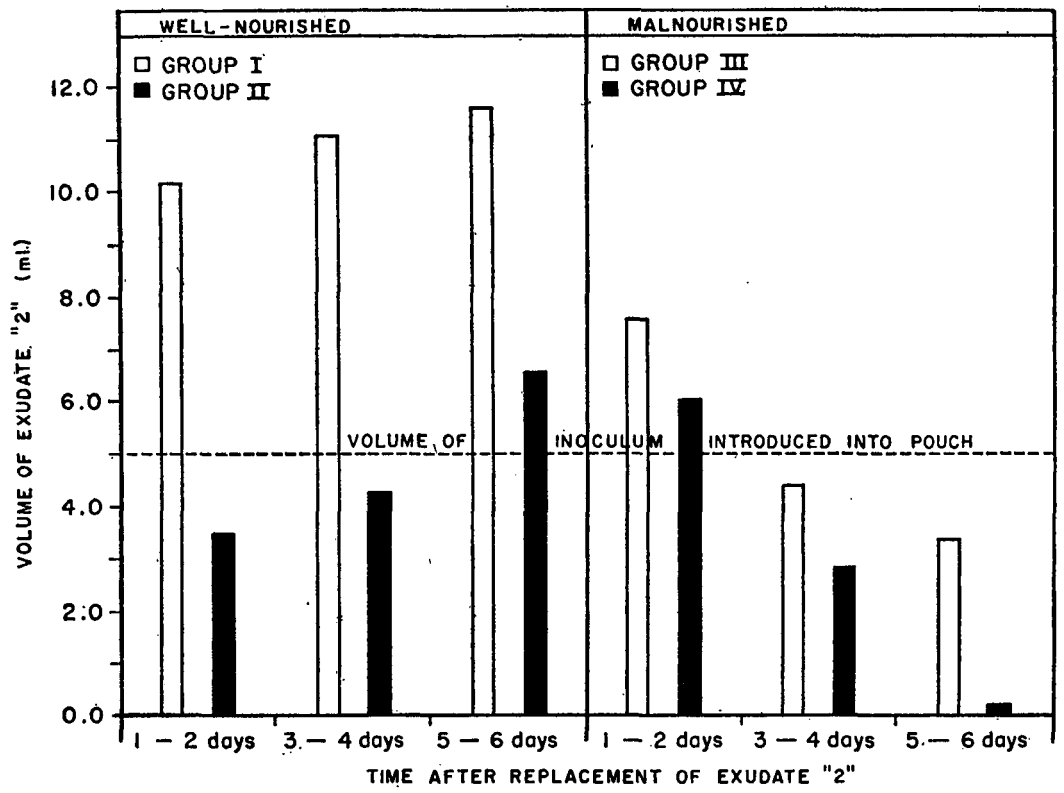


Fig. 3: Experiment D. Volume of exudate "2" harvested at various times during the experiment.

Incap 63-932

but subsequently, they were thickly purulent and creamy yellow.

Six out of 8 group II pouches from experiment C and 6/7 from experiment D yielded hemorrhagic exudates "2". In this group, hemorrhagic exudate formation initiated by croton oil apparently continued after the injection of saline-dextran. One pouch from experiment C contained no exudate "2" while the other had only traces of oil; in experiment D, one pouch yielded a clear, straw-coloured exudate "2". Six out of 8 group IV pouches from experiment C and 5/7 from experiment D contained exudates "2" that were purulent, but they were not as viscous or opaque as the exudates "2" from groups I and III. A number of these had a slightly pinkish tinge.

Bacterial content: Due to the limitations of the experimental conditions, exudates "1" were not cultured. All were hemorrhagic, and did not appear to be grossly contaminated.

In experiment C, none of the exudates "2" from groups II and IV, injected with saline-dextran gave positive bacterial cultures. However, beta hemolytic streptococci were isolated from the inner scrapings of a pouch from an animal in group IV sacrificed 6 days after injection. This pouch contained no exudate "2". Streptobacillus-like organisms, which did not proliferate on blood agar, were seen in the smear of an exudate "2" from another animal in the same group examined 1 day after injection. In experiment D, strains of *Pseudomonas* were cultured from 1 exudate "2" from group IV harvested 1 day after injection, and from 1, harvested 3 days after; a strain of non-hemolytic streptococci was isolated from an exudate "2" harvested 2 days after injection.

Strains of bacteria with similar characteristics to the test organism were easily isolated, as pure cultures, from all exudates "2" of groups I and III of both experiments and from the inner scrapings of each of the pouches from experiment D examined 13 days after inoculation.

In both experiments, the trends shown by the concentration and total number of bacteria in exudates "2" were similar (Figures 4 and 5).

In experiment C (Fig. 4) there was an increase 1 day after inoculation in both dietary groups. Subsequent values for group I decreased, but group III increased 3 days after inoculation to values well above those for the corresponding group I

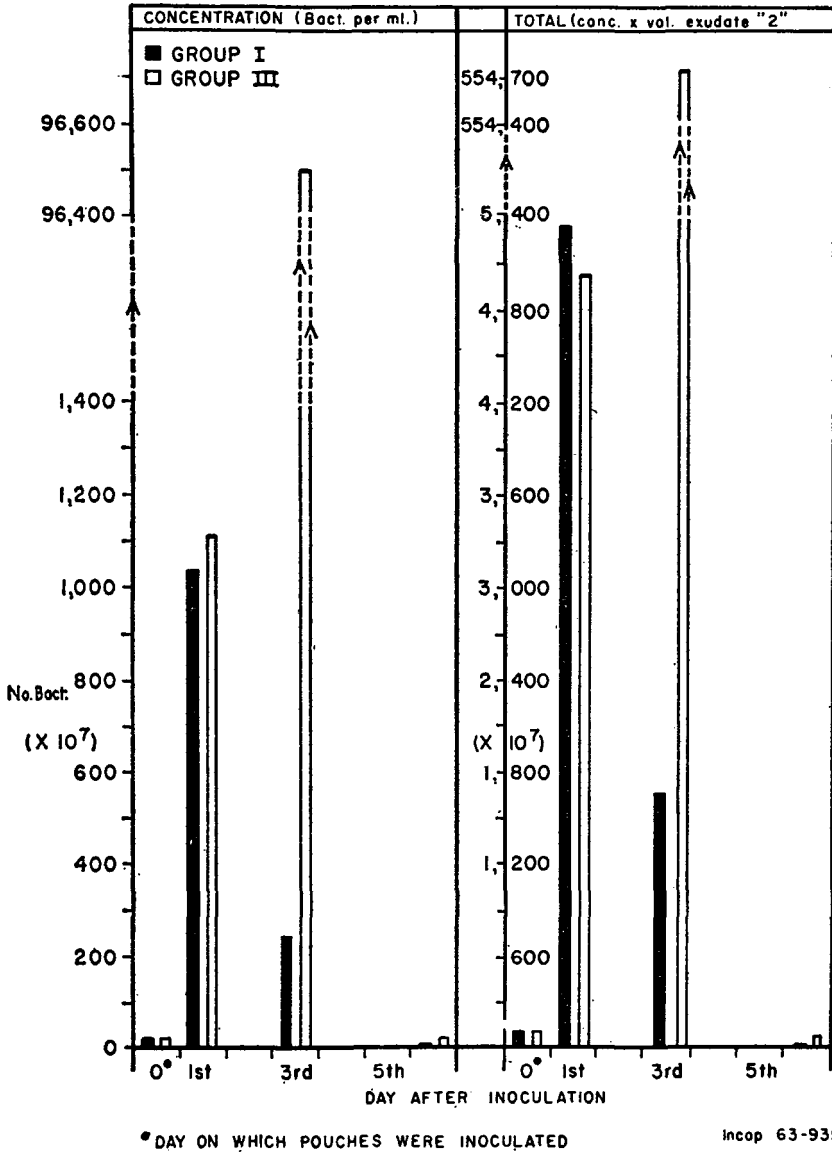


Fig. 4: Experiment C. Concentration and total number of bacteria in exudate "2".

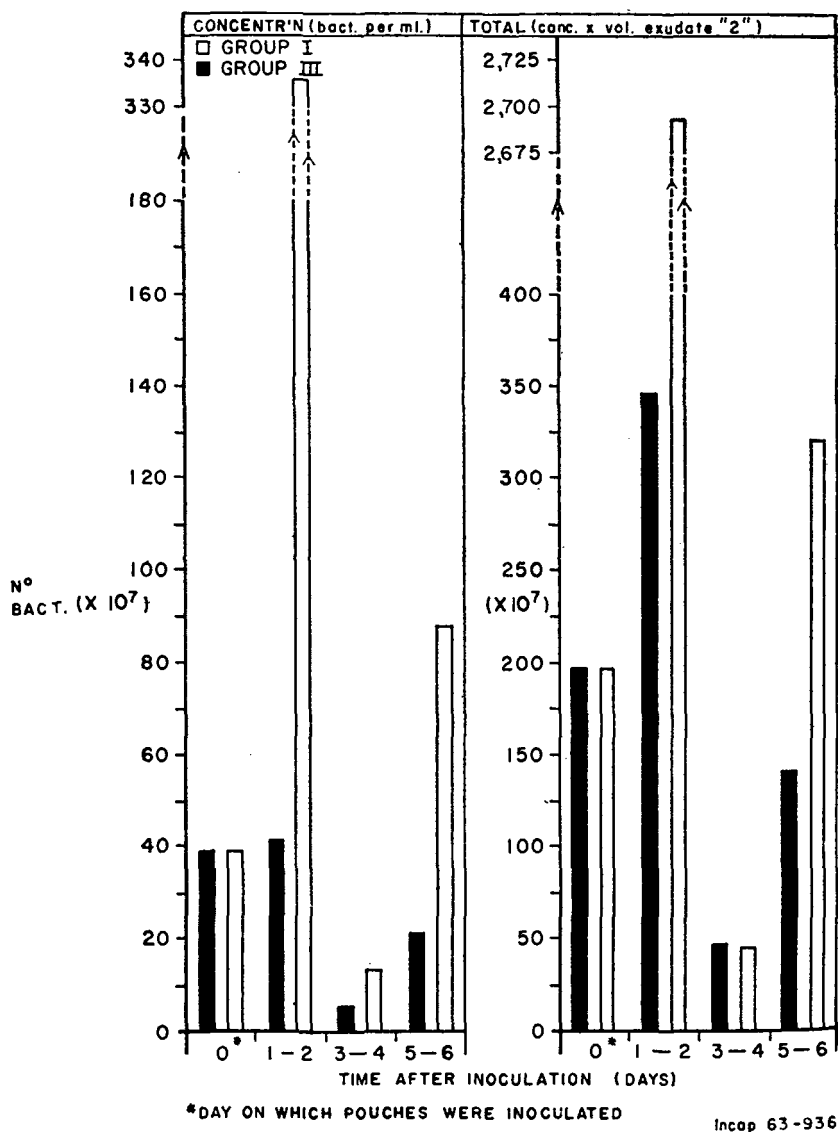


Fig. 5: Experiment D. Concentration and total number of bacteria in exudate "2".

animals. At 6 days, values for group III were only slightly higher than for group I. However, there was no statistically significant difference between the overall effects of the 2 diets, in the time trends of the 2 groups nor the interaction between diet x time after inoculation.

In experiment D, rats sacrificed 13 days after inoculation did not yield exudate "2" on which bacterial counts could be made. In general, the mean concentration and total number of bacteria for group III was greater than for group I (Fig. 5). The difference between the effects of the 2 diets on both concentration and total number of bacteria, and the overall time trend for each of these indices were significant ($P=0.05$ in each instance). No explanation can be offered for the secondary rise in the 5 to 6 day period. However, it is interesting to note that both this and the initial increase in the 1 to 2 day period were considerably greater for group III than for group I. This difference resulted in a significant time x diet interaction ($P=0.05$) for the total number of bacteria.

The bacterial counts for exudate "2" from experiment D were generally lower than for experiment C. The use of 1% croton oil, whose ability to stimulate exudate formation was superior in experiment D than in experiment C, as mentioned earlier, may have influenced this. Even though the croton oil exudate was removed at the time of inoculation, the mechanisms for the mobilization of tissue and blood cells and fluid at the site of inoculation, and the operation of other undefined defense mechanisms were already active and may have been responsible for a more rapid control of the infection. It is also possible that the 1 day difference in the time at which inoculation was performed in each experiment, 5 days after the preparation of the pouch in experiment C and 6 days after in experiment D, when superimposed on other differences in experimental conditions may have had some influence.

Cellularity: The concentration of nucleated cells in each smear of exudate "2" relative to the remaining smears increased with time in groups I and III (Table I); group III showed a greater increase than group I probably because of the more severe infection.

As to be expected, smears from groups II and IV whose pouches were not experimentally inoculated contained only a few nucleated cells. However, because of the high number

TABLE No. 1

MEAN CELLULARITY, BACTERIAL CONCENTRATION AND PHAGOCYtic ACTIVITY OF NEUTROPHILS
(% CONTAINING RECOGNIZABLE BACTERIA) IN EXUDATE "2" SMEARS

Experiment	Group	Day after inoculation	n	Cellularity	Bacteria	% Activity \pm s. e.
C	I	1	4	+	3+	90.2 \pm 4.0
		3	4	2+	2+	73.5 \pm 8.9
		6	3	3+	+	33.7 \pm 1.9
	III	1	4	2+	3+	85.6 \pm 4.5
		3	3	4+	4+	62.0 \pm 26.4
		6	5	3+	2+	54.0 \pm 12.0
D	I	1 - 2	4	+	3+	86.0 \pm 4.1
		3 - 4	4	2+	2+	61.2 \pm 15.2
		5 - 6	4	3+	2+	68.5 \pm 7.8
	III	1 - 2	4	2+	5+	89.5 \pm 1.5
		3 - 4	4	3+	3+	72.2 \pm 11.2
		5 - 6	4	4+	3+	70.2 \pm 19.7

n = number of observations

s. e. = standard error

of accidental pouch infections in group IV of experiment D, more nucleated cells were seen in the smears from this group than in the other groups injected with saline-dextran.

Cellular composition: The cytological characteristics of exudates "2", determined by microscopic examination of smears are in accord with their previously described gross characteristics. In both experiments, neutrophils were the predominant cells in groups I and III. Smears from groups II and IV contained a lower proportion of neutrophils; group IV contained more than group II. Secondary infections and the possibility of a different type of reaction to the injection of saline-dextran probably contributed to this. In general, the relative concentration of neutrophils tended to increase with time. Erythrocytes were the predominant cells in only group II of both experiments. They were either absent or present in relatively low concentrations in the other groups. When present, there was a tendency for their concentration to decrease with time.

Bacteria in exudate "2" smears: All of the coverslip preparations from groups I and III in experiments C and D contained bacteria (Table No. 1) whose subjectively estimated concentrations paralleled the objective determinations made by agar pour plates (Figures 4 and 5). Occasionally, individual smears showed a higher concentration of bacteria than would be expected on the basis of the viable count. The presence of dead or dying organisms in the exudate "2" at the time of the preparation of the smear, and the difficulty in separating intracellularly located and extracellular clumps of bacteria in the exudate "2" prior to plate counting may have contributed to this discrepancy.

Bacteria were not seen in any of the smears from group II from either experiment. One group IV smear from experiment C contained a moderate number of extracellular organisms resembling streptobacilli; and 2 smears from group IV of experiment D contained rod-shaped organisms, mainly extracellular, of variable length; strains of *Pseudomonas* were isolated from the original exudates "2".

Phagocytic activity of neutrophils: In smears of exudate "2" from groups I and III prepared 1 day after inoculation in experiment C and 1 to 2 days after in experiment D, the number of bacteria present was large relative to the number

of potential phagocytes, and the phagocytic activity was high in both groups (Table No. 1). There were still many extracellular bacteria. In both experiments, the phagocytic activity decreased with time. This decrease seemed greater in experiment C than in experiment D. In group I of experiment C, most of the bacteria were intracellular in the latter 2 periods. In contrast, there was a tendency for a large proportion of bacteria in the corresponding group III smears to remain extracellular in the presence of adequate numbers of phagocytic cells, suggesting that the activity of the cells from malnourished rats in this experiment decreased more than the concentration of bacteria. This effect was observed to a lesser degree in experiment D. The part played by other defense mechanisms such as antibody production and the bactericidal power of the pouch fluids in controlling the infection was not examined, but in view of the suggested trends shown above, it should be borne in mind for future studies.

Characteristics of the Pouch. As in previous experiments (1) pouches from well-nourished rats were grossly better defined than those from malnourished rats, and on microscopic examination, the replacement of inflammatory cells by fibroblasts with accompanying collagen fibre formation was greater. In experiment D, the 2 pouches from groups I and III examined 13 days after inoculation were reduced to fibrotic nodules; the inflammatory reaction in these had completely subsided, and they appeared to consist essentially of scar tissue. The corresponding 2 pouches from groups II and IV tended to be nodular, but they were not as fibrotic as those inoculated with bacteria.

Histological appearance: The majority of rats in groups I and II of both experiments had compact inflammatory capsules. The pouches from groups III and IV were histologically less well-developed than those from groups I and II, and consisted essentially of thin capsules in which the connective tissue was loosely organized. Experimental and accidental infections were associated with thicker walled and more compact pouches. Young, active fibroblasts were abundant in the majority of pouches from all groups examined up to 6 days after the introduction of the test inoculum. Mononuclear cells seemed to persist longer and in higher concentrations in pouches from malnourished animals than in those from well-

nourished. Collagen was not easily detected in pouches examined 1 day after the introduction of the test inoculum but it was apparent in older pouches. It was more evident in well-nourished groups. The difference between the 2 dietary groups increased with age of the pouch up to 5 to 6 days after the introduction of the test inoculum (Figure 6).

Pyogenic membrane formation was a prominent feature of 5/13 pouches from group III and 1/3 accidentally infected pouches from group IV of experiment C, and 6/13 and 2/4 pouches from each of these groups in experiment D. It usually involved only a part of the pouch wall, and appeared on the lumen surface of the capsule as a pseudomembrane of fibrin with enmeshed p.m.n. leucocytes; bacteria of other organisms were often present (Figure 7). Of the well-nourished inoculated and accidentally infected rats, 25 in all, only 1 from group I of experiment D exhibited pyogenic membrane formation. The difference between these frequencies was highly significant by the chi-square test ($P < 0.01$).

All pouches inoculated with bacteria, except those reduced to fibrotic nodules, contained fibrinopurulent exudate within their lumen. Bacteria were easily seen in all except 2 from group I in experiment C. Bacterial invasion of the pouch wall was seen in only 3 pouches from experimentally inoculated rats, 1 from experiment C and 2 from experiment D; all were from group III. Fibrinopurulent exudate was present in the lumen of 1 group II and 2 group IV pouches from experiment C and 5 group IV pouches from experiment D.

Micro-organisms whose characteristics are described below were seen in the sections of all of these except 1 of the group IV pouches from experiment C and 2 from experiment D. Beta-hemolytic streptococci were isolated from the inner scrapings of the former. One of the latter contained a purulent exudate "2" from which a strain of *Pseudomonas* was isolated; the other was not found to be accidentally infected by the type of exudate "2" harvested, by culture on bacteriological media, nor by microscopic examination of exudate "2" smears or pouch sections.

Histology of Other Tissues. The most consistent finding on histological examination of other tissues was cloudy swelling of the parenchymal cells of the kidneys of all 4 groups in both experiments, examined up to 6 days after the introduc-

tion of the test inoculum. This type of alteration, essentially localized in the cells of the renal tubules, has been described previously as a consequence of the injection of dextran (6, 11, 12). It was not detected in the kidneys of animals examined 13 days after replacement of the test inoculum. Other workers have found that such changes are transient and do not lead to renal dysfunction (11-13).

Accidental Infections. Accidental infections were detected in a total of 1/15 group II rats (all from experiment C) and 7/15 group IV rats (3 from experiment C and 4 from experiment D). The difference between these frequencies was highly significant by the chi-square test ($P < 0.01$). Beta-hemolytic streptococci were isolated from the pouch of 1 group IV rat from experiment C, while strains of *Pseudomonas* were isolated from purulent exudates "2" from 2 group IV rats of experiment D, and non-hemolytic streptococci from another. No isolations were made from the remaining accidentally infected pouches. However, coccus-like organisms were seen in the pouch section of a group II rat from experiment C; and fungal-like organisms with septate hyphae extending into the pouch lumen were observed in 1 group IV pouch from each experiment (Figure 8). Streptobacillus-like organisms were seen in the exudate "2" smear from a group IV rat in experiment C; fibrinopurulent exudate was not detected in the pouch section of this animal.

DISCUSSION

Interference with the local inflammatory response as a result of endocrine disturbances similar to those associated with malnutrition in humans (2, 14-17), or as a consequence of other physiological disturbances accompanying nutritional deficiency, was probably responsible for the finding that the pouch exudates of malnourished rats contained a higher concentration and total number of experimentally inoculated bacteria than the pouch exudates of well-nourished rats. In malnourished animals, a deficiency in the tissue fluids, cellular elements and other undefined factors that serve to control infection at the site of inoculation would allow the infecting organisms to become established in the pouch and multiply more rapidly than in well-nourished animals, especially in the

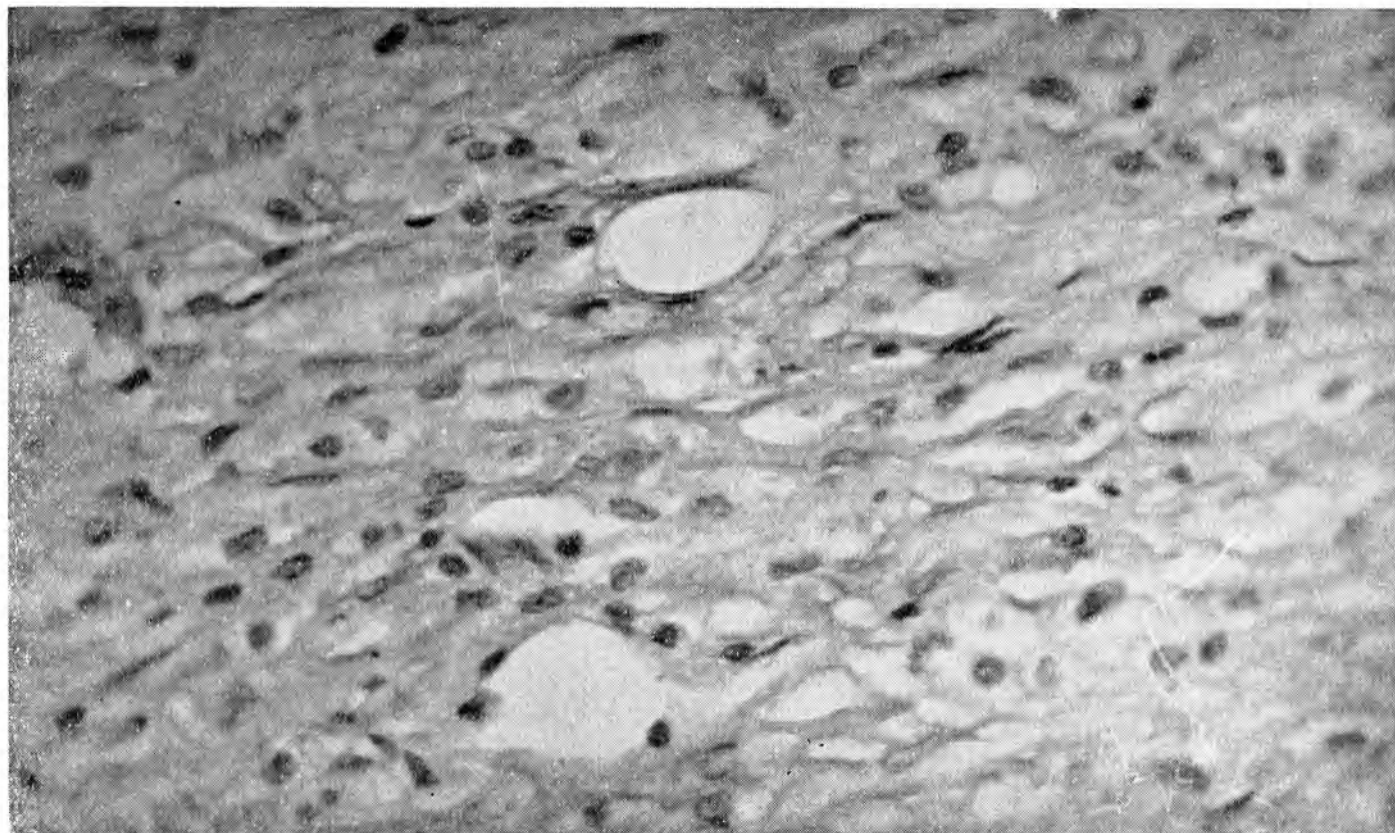


Figura 6a

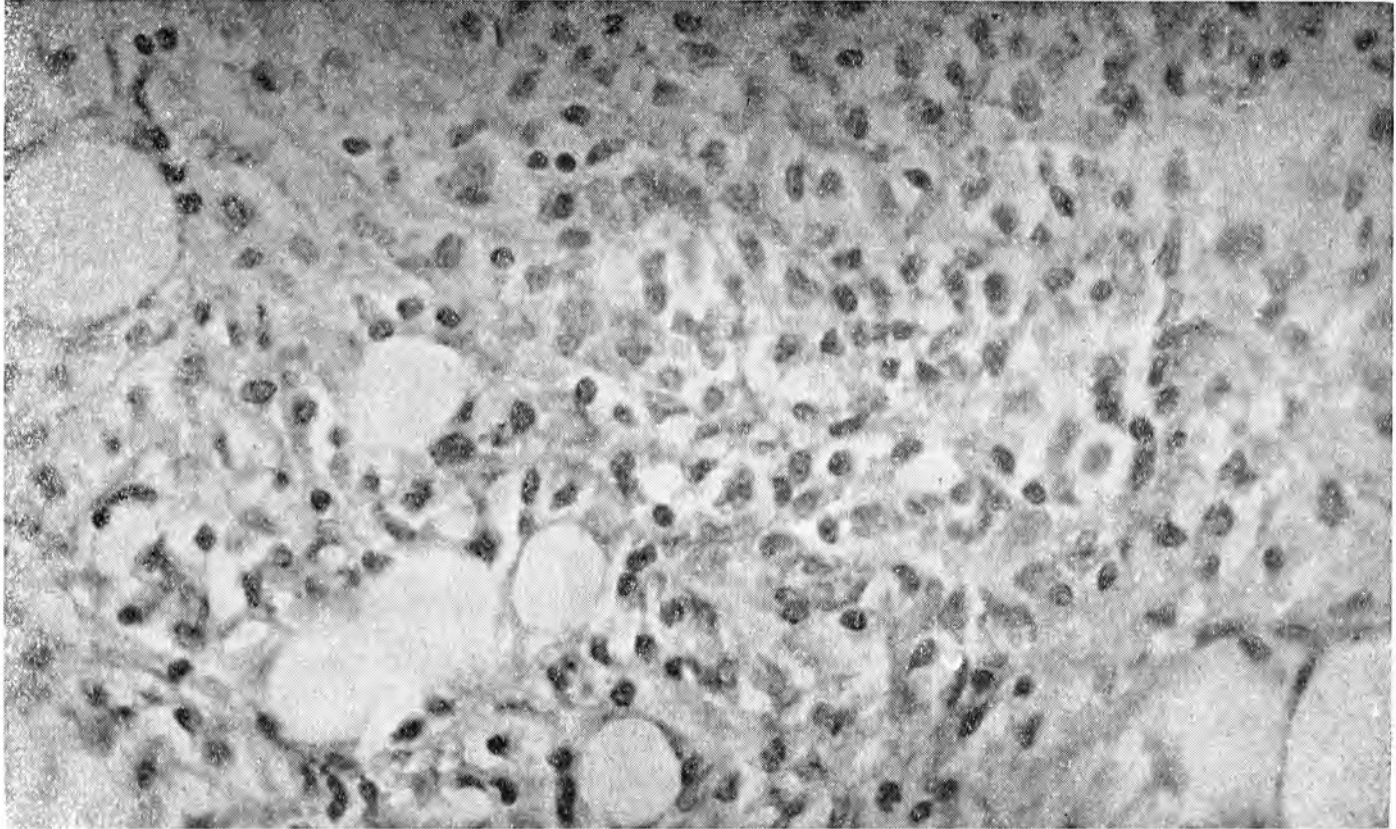


Figura 6b

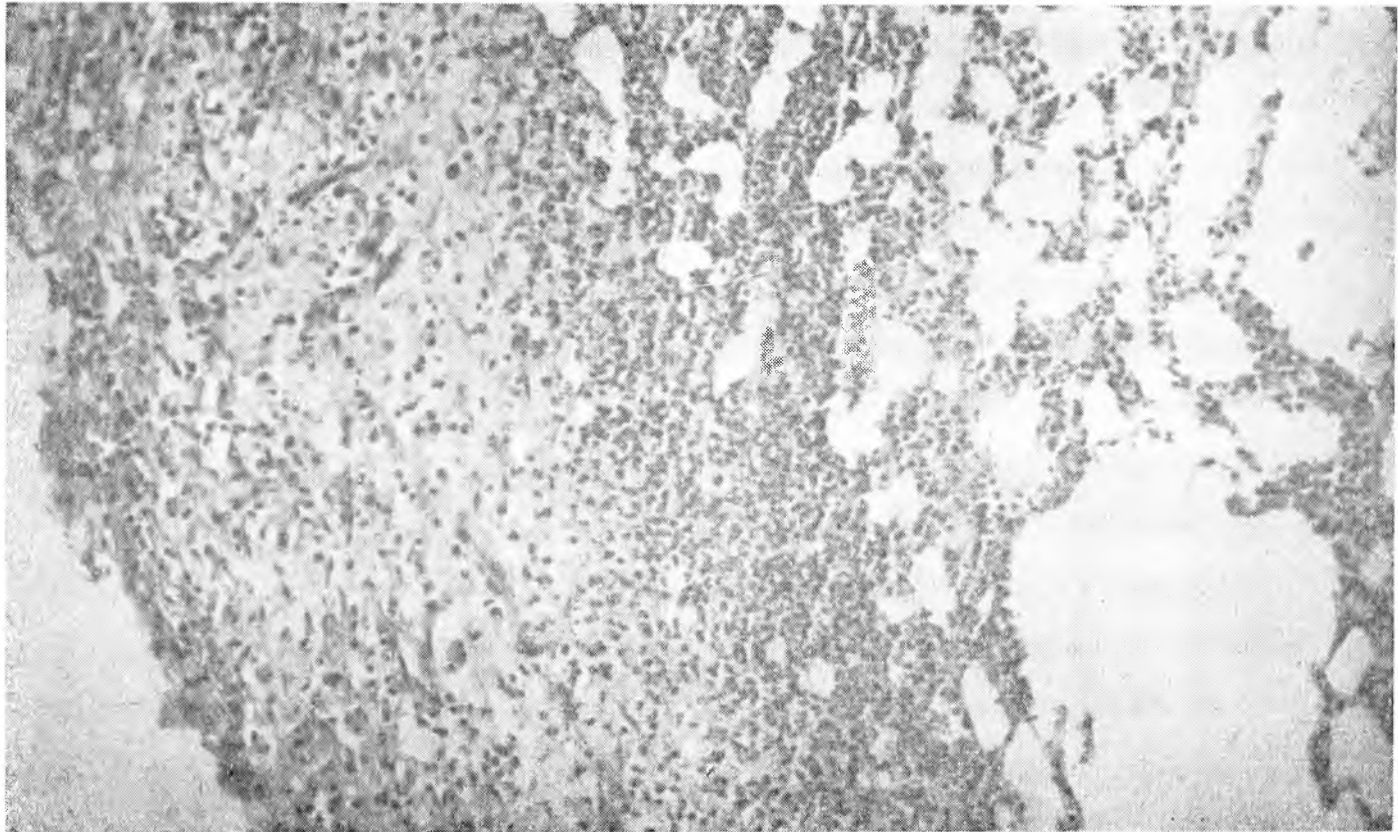


Figura 7a

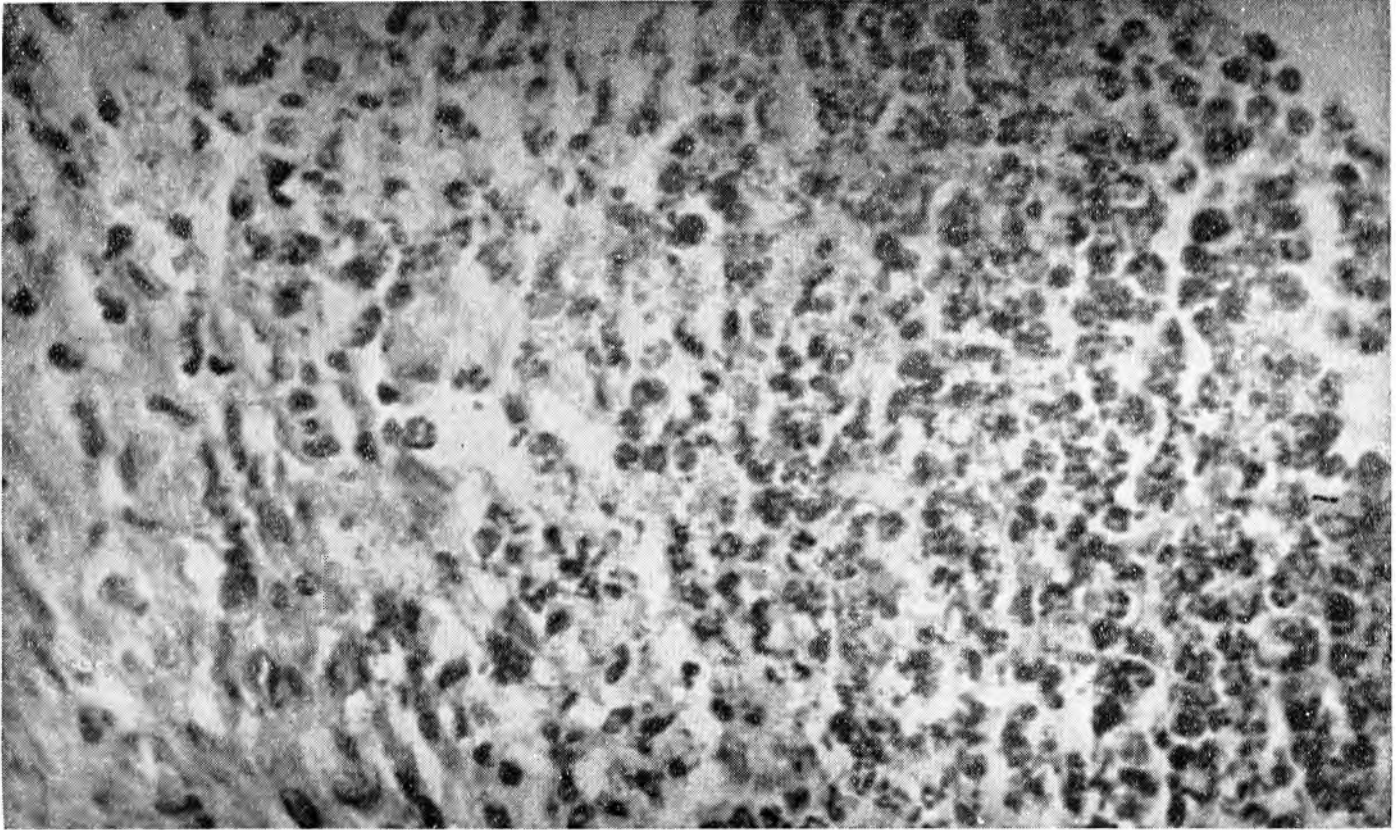


Figura 7b

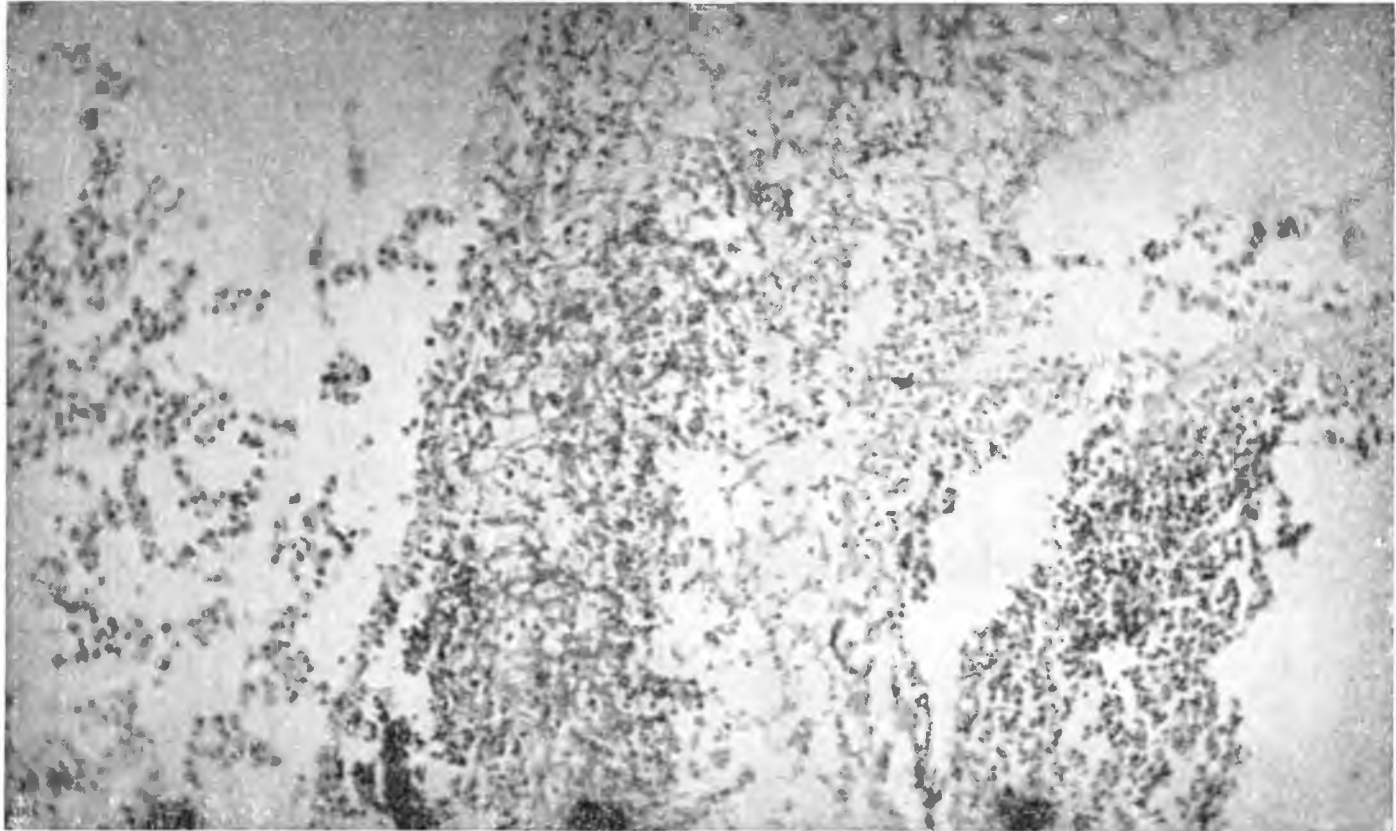


Figura 8a

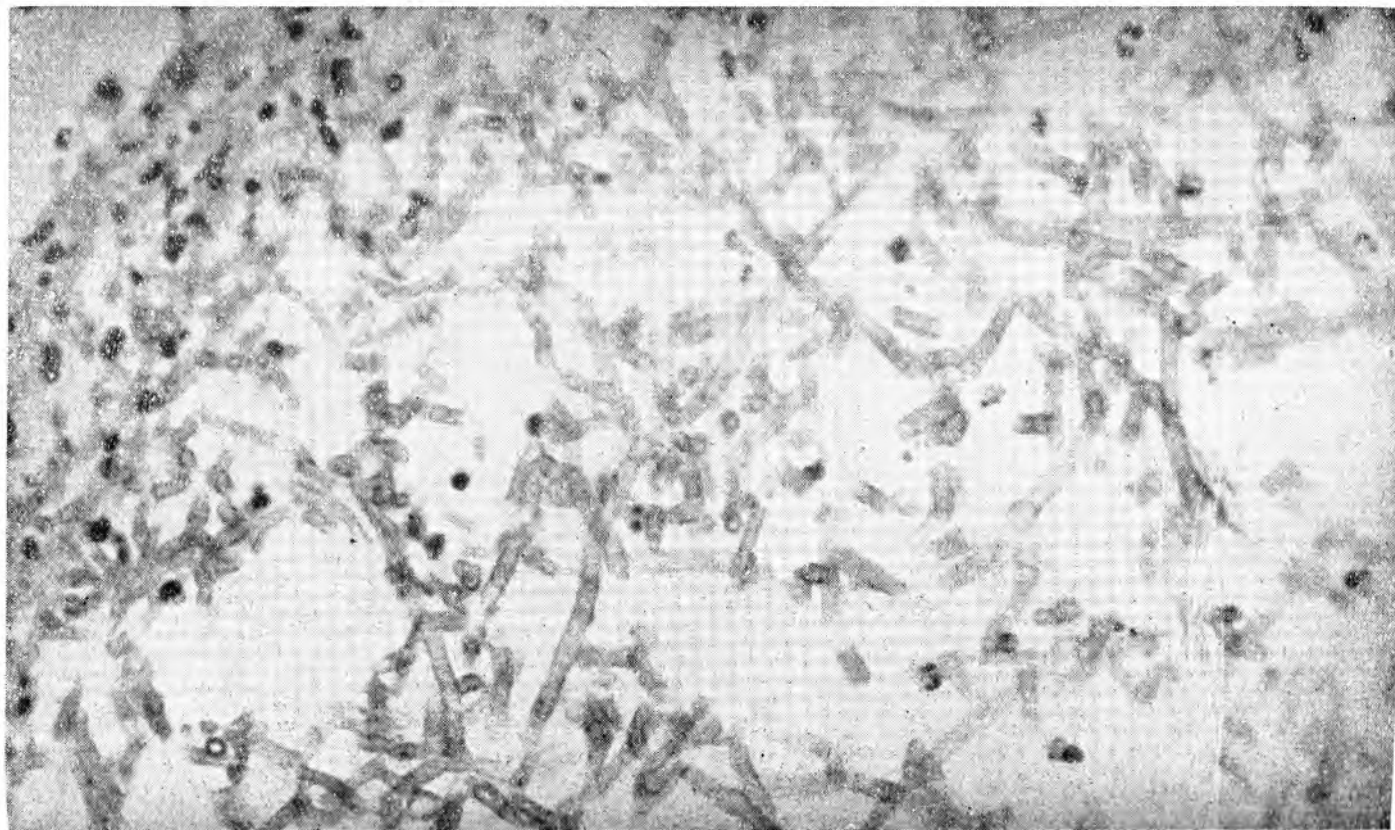


Figura 8b

- Fig. 6:** Experiment D. Histological appearance (hematoxylin and eosin, obj. 45, oc. 10) of pouch wall of well-nourished (group I) rat (Fig. 6a) and a malnourished (group III) rat (Fig. 6b) sacrificed in 5 to 6 day period after inoculation. Note abundance of collagen in Fig. 6a in contrast to Fig. 6b which has a predominance of mononuclear cells.
- Fig. 7:** Experiment D. Fig. 7a. Low power (hematoxylin and eosin, obj. 10, oc. 10) appearance of pyogenic membrane of pouch wall from a malnourished rat (group III), sacrificed in 5 to 6 day period after inoculation. Fig. 7b. High power (hematoxylin and eosin, obj. 45, oc. 10) appearance of same wall.
- Fig. 8:** Experiment D. Fig. 8a. Low power appearance (hematoxylin and eosin, obj. 10, oc. 10) of fungal-like mycelia seen in pouch section of malnourished rat (group IV) sacrificed in 5 to 6 day period after injection of saline + dextran. Fig. 8b. High power (hematoxylin and eosin, obj. 45, oc. 10) appearance of same section.
-

earlier stages of the infection. Decreased local defense probably also facilitated the bacterial invasion of the pouch wall in some of the malnourished rats. In experiment C, the number of bacteria in the pouches of malnourished rats had decreased by the last-day of the experiment to values that were only slightly higher than in the pouches of well-nourished animals. This suggests that in malnourished rats there is a lag rather than an overall loss in the ability to bring into operation the defense processes needed to handle local infection.

The predisposition of malnourished rats to pyogenic membrane formation may reflect a fundamental difference in the physiological mechanism required to handle infection in the pouch. The accumulation of large numbers of p.m.n. leucocytes possibly compensated either for a decrease in the bactericidal power of the exudative fluid as seen in the experiments of Guggenheim and Buechler (18), or for an inadequacy on the part of the cells themselves; or the cells may have served to wall off the infecting organisms.

As in previous experiments (1), infection in the pouches of malnourished rats was able to produce a local response with respect to the type and volume of exudates and the macroscopic and microscopic characteristics of the pouch. The significant difference found between the time trends within the 2 dietary groups and between the overall effects of the 2 diets on the volume of exudate "2" may be explained at least partially by a more rapid absorption of the inoculum introduced into the pouches of malnourished rats and a subsequently decreased production of exudate in these animals.

The height of the leucocytic response to the various stimuli employed in animals given the deficient diet, was equal to or greater than that shown by those fed a complete diet, and neutrophilia accompanied leucocytosis. This agrees with the results of earlier studies. The absence of a statistically significant difference between the effects of the 2 types of inocula, saline + dextran and bacteria + saline + dextran, may indicate that dextran is capable of stimulating leucopoiesis and the superimposition of its effect on that of croton oil resulted in a maximum response equal to that following inoculation of bacteria + dextran. It is of interest that dextran is serologically reactive and capable of stimulating cutaneous sensitivity and the production of precipitins (19-21). Moreover, it is a macromolecular substance and has been detected in widely scattered phagocytes of the reticuloendothelial system after intravenous injection (12, 22); concurrent proliferation of such cells has been observed (22). Localization of the dextran within the pouch of animals in the present experiments would tend to hinder its free passage to the reticuloendothelial tissues and thus stimulate the proliferation of more mobile phagocytic cells.

Further support for a synergistic relationship between malnutrition and infection is presented by the high proportion of accidental infections in the pouches of malnourished rats. A wide variety of agents were found to be responsible, and infection occurred in spite of the aseptic precautions taken during all the operative procedures. The accidental infections did not seem to affect the systemic reaction as a whole, but the local response was heightened in a manner similar to that described in previous studies (1).

RESUMEN

Efecto de la desnutrición sobre la respuesta inflamatoria.
Como lo presenta el desarrollo de la bolsa granulomatosa
de la rata después de la inoculación con bacterias.

Los experimentos de los que aquí se informa describen el efecto del estado nutricional del huésped sobre la inflamación y la respuesta del tejido local de la rata después de la inoculación de *S. aureus* dentro de la bolsa granulomatosa. Se encontraron concentraciones más altas de los organismos a prueba en el exudado de la bolsa de aquellos animales ali-

mentados con una dieta deficiente, conteniendo de 3 - 4% de proteína, que en la de aquellos a quienes se les dió una ración completa, conteniendo aproximadamente 28% de proteína. También se observó invasión bacteriana de la pared de la bolsa en 3 ratas desnutridas, pero ello no se encontró en ninguna de las ratas bien alimentadas. Estas observaciones se consideraron ser posibles consecuencias de la respuesta inflamatoria deprimida encontrada en ratas desnutridas.

La formación de membrana piogénica se encontró en una proporción significativamente más alta en las ratas desnutridas infectadas que en aquellas bien alimentadas. Esto podría ser un reflejo de la diferencia fundamental del proceso fisiológico requerido por la rata desnutrida para defenderse de la infección en la bolsa. Aún más, una proporción significativamente más alta de las ratas desnutridas se infectaron accidentalmente con una amplia variedad de microorganismos. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa en la respuesta sistemática de los dos grupos dietéticos a los diferentes tipos de inóculo usado.

BIBLIOGRAPHY

- (1) Taylor, P. E., C. Tejada & M. Sánchez.—The effect of malnutrition on the inflammatory response as exhibited by the granuloma pouch of the rat. *J. Exp. Med.*, 126: 539-556, 1967.
- (2) Selye, H.—Use of "granuloma pouch" technic in the study of anti-phlogistic corticoids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 82: 328-333, 1953.
- (3) Madden, S. C. & G. H. Whipple.—Plasma proteins: their source, production and utilization. *Physiol. Rev.*, 20: 194-217, 1940.
- (4) Wilson, G. S. & A. A. Miles.—*Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity*. 5th edition. London, Edward Arnold Ltd., 1964. v. 1, p. 102-103.
- (5) Thorsen, G.—Dextran as a plasma substitute. *Lancet*, 1: 132-134, 1949.
- (6) Turner, F. P., B. C. Butler, M. E. Smith & Scudder.—Dextran. An experimental plasma substitute. *Surg. Gynec. Obst.*, 88: 661-675, 1949.
- (7) Cottingham, E. & C. A. Mills.—Influence of environmental temperature and vitamin deficiency upon phagocytic functions. *J. Immunol.*, 47: 493-502, 1943.
- (8) Berry, L. J., J. Davis & T. D. Spies.—The relationship between diet and the mechanisms for defense against bacterial infections in rats. *J. Lab. clin. Med.*, 30: 684-694, 1945.
- (9) Snedecor, W. G.—*Statistical Methods, Applied to Experiments in Agriculture and Biology*. 5th. edition. Ames, Iowa, The Iowa State College Press, 1956, p. 291.
- (10) Harlow, C. M. & H. Selye.—The blood picture in the alarm reaction. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 36: 141-144, 1937.
- (11) Goldenberg, M., R. D. Crane & H. Popper.—Effect of intravenous administration of dextran, macromolecular carbohydrate in animals. *Am. J. Clin. Pathol.*, 17: 939-948, 1947.
- (12) Vickery, A. L.—The fate of dextran in tissues of the acutely wounded. A study of the histologic localization of dextran in tissues of Korean battle casualties. *Am. J. Pathol.*, 32: 161-183, 1956.

- (13) Ravdin, I. S.—Plasma expanders. *J. Am. Med. Assoc.*, 150: 10-13, 1952.
- (14) Bois, P. & H. Selye.—Interactions between STH and corticoids in the regulation of somatic growth, inflammation and lymphatic tissue development. *Growth*, 19: 107-135, 1955.
- (15) Gopalan, C.—Endocrines in malnutrition. *Indian J. Med. Sci.*, 10: 370-374, 1956.
- (16) Ramachandran, M., P. S. Venkatachalam & C. Gopalan.—Urinary excretion of 17α -ketosteroids in normal and undernourished subjects. *Indian J. Med. Res.*, 44: 227-235, 1956.
- (17) Zubirán, S. & F. Gómez-Mont.—Endocrine disturbances in chronic human malnutrition. *Vitamins Hormones*, 11: 97-132, 1953.
- (18) Guggenheim, K. & E. Buechler.—Nutrition and resistance to infection. The effect of quantitative and qualitative protein deficiency on the bactericidal properties and phagocytic activity of the peritoneal fluid of rats. *J. Immunol.*, 58: 133-139, 1948.
- (19) Coulson, E. J. & H. Stevens.—Some observations on the immunochemistry of dextrans. *J. Immunol.*, 86: 241-252, 1961.
- (20) Hehre, E. J. & J. M. Neill.—Serological differences among native and clinical dextrans. *Fed. Proc.*, 11: 471, 1952.
- (21) Kabat, E. A. & D. Berg.—Dextran. An antigen in man. *J. Immunol.*, 70: 514-532, 1953.
- (22) Mowry, R. W. & R. C. Millican.—A histochemical study of the distribution and fate of dextran in tissues of the mouse. *Am. J. Pathol.*, 29: 523-545, 1953.

BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA

BOLIVIA

Bocio endémico en Chuquisaca, República de Bolivia.—A. R. Pardo Subieta (Servicio Endocrinológico y Centro de Medicina Nuclear, Sucre, Bolivia). *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.* 25, 209-216, 1968.

Se estudiaron 4.661 escolares, 74 preescolares y 1.291 adultos, encontrándose dos lugares donde el 100% de las mujeres son bociosas.

En los 169 casos se han efectuado pruebas de captación de yodo ¹³¹I, en 344 casos se determinaron hormonas plasmáticas mediante la aplicación de dosis trazadoras marcadas con ¹³¹I y en 10 voluntarios se hizo la medición de la excreción de yodo estable en 24 h. Finalmente se reportan los resultados terapéuticos de una prueba de aplicación a 281 niños escolares de 1 ml de solución al 1% de yoduro de potasio, observándose la desaparición del bocio en el 31.3% de los casos.

Se concluye que el grave problema del bocio en la región estudiada se debe a la falta de yodo y que es urgente un programa de lucha contra esta enfermedad. 26 referencias.

W. G. J.

BRASIL

Nutrição e trabalho físico.—Nelson Chaves (Instituto de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco). *O Hospital*, 75, 1535-1546, 1969.

Discusión general con 6 citas bibliográficas.

W. G. J.

O tratamento de anemias hipocrômicas gestacionais com ferro re-

forçado de liberação regulada.—M. H. Mancusi, D. Croco e J. A. Pinotti (Dept. de Tocoginecologia e de Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina da Universidade de Campinas, Est. São Paulo). *O Hospital*, 75, 235-240, 1969.

En dos meses de tratamiento con 525 mg de sulfato ferroso, 500 mg de ácido ascórbico, 25 mcg de vit. B₁₂, 30 mg de nicotinamida, 5 mg de clorhidrato de piridoxina y 10 mg de pantotenato de calcio, los valores hemáticos mostraron el siguiente aumento: 46.7% de conteo de hematíes, 48.2% de hemoglobina y 37.9% de hematocrito.

W. G. J.

Estudio químico bromatológico de Diospyros kaki, L. variedades Costate e Mazulii.—M. M. G. Orlandi, S. M. P. Furlanetto y M. Vuono (Cátedra de Bromatología, Fac. de Farmacia y Bioquímica, Universidad de São Paulo). *Rev. Farm. Bioquím. S. Paulo*, 6, 45-52, 1968.

Se presentan resultados analíticos sobre la composición centesimal y 4 minerales en frutas con y sin cáscara y se mencionan análisis de azúcares y aminoácidos que no son presentados.

W. G. J.

A nutrição no nordeste brasileiro. N. Chaves (Instituto de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco). *Rev. Bras. de Med.*, 25, Nº 2, 1968.

Discusión general con 18 citas bibliográficas.

W. G. J.

O profissional em nutrição: formação, actividades e perspectivas futuras.—N. T. de Rezende Cavalcante (Instituto de Nutrição da UFRJ, Brasil). *Arq. Brasileiros Nutr.*, 22: 51-64, 1966.

El autor analiza el entrenamiento del nutricionista profesional de Brasil ante la legislación existente. Se sugiere un entrenamiento teórico-práctico integrado para los cursos de nutricionistas de acuerdo a las modernas normas de educación. Clama por cursos definidos de especialización de un año y sugiere a las escuelas que toman parte en la ejecución de tales cursos, una medida capaz de elevar el nutricionista profesional al nivel de sus justificadas aspiraciones y demandas. Trata en forma concisa las actividades futuras y perspectivas del profesional, enfatizando la importancia de incluir nutricionistas en grupos de trabajo especializado y señala que es una necesidad real si los problemas de un país han de ser resueltos.

Isolamento de virus de copos de de bares e cafés da cidade de São Paulo.—J. A. N. Candeias, D. de A. Christovão, L. G. Cotillo Z. (Cadeira de Microbiología Aplicada da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil). *Rev. Saúde Públ. (Brasil)*, 2: 174-179, 1968.

Siete cepas virales fueron aisladas del 8.75% de 80 lotes de vasos de vidrio, listos para uso, en 40 cafeterías y bares en el distrito comercial de Sao Paulo. Tres cepas fueron identificadas como adenovirus tipo 3, dos como ECHO virus tipo 11, una como adenovirus tipo 4 y una como herpesvirus. Los lotes positivos pertenecían a 7 diferentes cafeterías y bares. El autor estima que estos hallazgos corresponden a pobres condiciones sanitarias observadas en los sitios de comida y bebida de Sao Paulo, e igualmente son el resultado de una pérdida total de adopción de medidas sanitarias concernientes a este tipo de material, así como una deficiencia en las leyes sanitarias del Estado en relación a esta materia. 11 referencias.

Anticorpos inibidores da hemaglutinação para o virus parainfluenza 3 (HA-1), em gado bovino.—J. A. N. Candeias y L. C. Ribeiro (Cadeira de Microbiología Aplicada da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo y Secção de Virus do Instituto Biológico de São Paulo, Brasil). *Rev. Saúde Públ. (Brasil)*, 2: 180-185, 1968.

Una investigación serológica en bovinos de 19 ciudades en el Estado de Sao Paulo evidenció que el 36.71% de los animales estudiados tenían anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación para mixovirus parainfluenza 3 (HA-1). Este resultado es una indicación de diseminación de la infección causada por este virus, aun cuando fue una cepa heteróloga la usada en la determinación de los anticuerpos. 22 referencias.

Padronização das dietas básicas nos hospitais.—M. Cutrim Araujo, G. Linhares de Mello (Instituto de Nutrição de UFRJ, Brasil). *Arq. Brasileiros Nutr.*, 22: 33-49, 1966.

Los autores buscan la estandarización de dietas básicas para usos hospitalarios. Se considera que la ausencia previa de sistematización crea grandes dificultades para aquellos quienes comienzan la práctica de la terapia dietética y también tiende a la confusión cuando los pacientes son transferidos de un hospital a otro.

CUBA

Evaluación de la calidad de las proteínas de una leche para uso infantil.—J. Gay, L. Álvarez, G. Martínez y J. Mendoza (Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Habana). *Rev. Cub. Pediat.*, 40, 189-198, 1968.

En este trabajo se presenta una evaluación de la calidad proteica de la le-

che entera acidificada en polvo (sucedáneo del Pelargón) a propósito de ciertos cambios propuestos.

Se utilizó un método bioquímico y otro biológico. El primero consiste en la determinación de los grupos amino libres a continuación de una digestión *in vitro* con tripsina, y el segundo mide la relación de eficiencia proteica (PER) o respuesta de crecimiento en ratas jóvenes que reciben el alimento en cuestión.

El análisis estadístico permite afirmar que si se produjera alguna alteración en la calidad de las proteínas sería insignificante.

Se considera que el efecto suplementario de las proteínas lácteas entre sí pudiera ser la causa que mantenga el valor biológico prácticamente sin variar.

Se demuestra que la modificación propuesta es aceptable desde el punto de vista nutricional. 18 referencias.

Autores

Acido úrico de la sangre. Su dosificación por el método de Caraway. Cifras normales en niños en Cuba.—A. Sellek e I. Vidal (Hospital "Pedro Borrás Astorga", Habana). *Rev. Cub. Pediat.* 40, 175-187, 1968.

Se presentan los valores de ácido úrico sanguíneo para 39 niños normales y de 125 casos patológicos. 62 citas bibliográficas.

W. G. J.

ECUADOR

Una aplicación de cromatografía de gas.—M. A. Reinoso (Instituto Nacional de Higiene "Leopoldo Izquieta Pérez", Guayaquil). *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.*, 25, 273-277, 1968.

Se presentan resultados de curvas obtenidos en los análisis por cromatografía de gases de 5 bebidas alcohólicas con la finalidad de identificar las bebidas, pero sin la identificación de las fracciones.

W. G. J.

MEXICO

Comparación entre el estado nutricional de la madre y del recién nacido.—A. Loria, L. Sánchez Medal, J. Labardini, J. Soberón y S. Karchmer (Instituto Nacional de Nutrición y Hospital de Ginec Obstetricia N° 1, Inst. Mexicano del Seguro Social). *Gac. Méd. Mex.*, 99, 229-239, 1969.

Para estudiar el efecto del estado nutricional de la mujer embarazada sobre el de su hijo al nacer, se dosificaron hemoglobina, hematocrito, hierro, transferrina, folato plasmático y eritrocítico, vitamina B12 y albúmina en la sangre de 82 madres y del cordón de su producto.

Sólo 3 recién nacidos tuvieron cifras de hemoglobina inferiores al mínimo normal y los tres provenían de madres con alteraciones megaloblásticas de la médula ósea. Sin embargo, el análisis de todo el grupo de recién nacidos no mostró relación entre su nivel de hemoglobina y las concentraciones de hierro, folato y vitamina B12 del propio niño, lo que sugiere que, salvo en los tres casos antes citados, los niños recibieron suficientes cantidades de dichos nutrientes para obtener una proliferación y desarrollo satisfactorios de su tejido eritropoyético.

Al comparar los resultados de los niños con los de sus madres, se observó que el hijo tiene concentraciones sanguíneas mayores de hemoglobina, hierro, folato y vitamina B12, sensiblemente iguales de albúmina y claramente menores de transferrina. Lo anterior, más la observación de que la relación producto/madre para folato y vitamina B12 fue tanto mayor cuanto menor era la concentración del nutriente en la sangre materna, ponen de manifiesto la preferencia que el producto tiene para aprovechar los nutrientes accesibles a la pareja. Sin embargo, las concentraciones de hierro, folato y vitamina B12 en la sangre del cordón guardaron relación positiva estadísticamente significativa con las correspondientes de la madre, lo que sugiere que el estado de las reservas del producto en hierro, folato y vitamina B12 dependen de la ri-

queza de la madre en dichos nutrientes.
42 referencias.

Autores

Prevalencia de las parasitosis intestinales. Estudio de un grupo de niños en una comunidad rural del altiplano de México.—C. Garrocho, M. L. Núñez, F. A. Rodríguez (Departamento de Microbiología y Departamento de Medicina Preventiva, Escuela de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis de Potosí). *Salud Públ. Méx.*, 9, 217-221, 1969.

Se investigó la prevalencia de parasitosis intestinales en 114 niños de 4 a 12 años de edad en el poblado de Soledad Díez Gutiérrez. Se encontró un 90.3% de niños parasitados. *G. lamblia* mostró el mayor índice reportado en nuestro país (39.47%). El porcentaje de positividad para *E. vermicularis* (47.3%) es el más alto encontrado fuera del Distrito Federal para una encuesta con muestra única. La cifra correspondiente a niños parasitados por *H. nana* es la más elevada del mundo. *Trichuris trichiura* y *E. histolytica* se encontraron con la frecuencia esperada y no se demostró la presencia de *Uncinarias*, *Strongyloides* ni *Fasciola hepatica*. El número de niños con *A. lumbricoides* resultó bajo en relación con regiones geográficas similares. El método de la cinta engomada de Graham permitió la identificación del mayor número de los casos de oxuriasis, en tanto que la concentración por flotación de Faust mostró ser superior al método directo para el diagnóstico de las demás parasitosis encontradas. El medio de conservación M.I.F. se considera ideal para este tipo de encuestas. Las características sanitarias de las familias estudiadas fueron pobres, con 80% de las casas sin excusado, 97% sin drenaje y el hábito de fecalismo al aire libre en 93% de los casos. En 53.5% de los niños se registró el peso por debajo del ideal.

Autores

PERU

Digestibilidad corregida en harina de pescado peruana.—G. Vargas N. y A. Bellido (Universidad

Católica del Perú y Sociedad Nacional de Pesquería). *Bol. Soc. Quím. Perú*, 35, 1-13, 1969.

El objetivo del trabajo es la comprobación de la posible utilidad de un método que relaciona la digestibilidad determinando mediante un método "in vitro" con la utilización proteica neta de harinas de pescado y que fue propuesto por un grupo de investigadores ingleses.

Los autores concluyen de sus resultados que el método propuesto es inadecuado por lo complicado. Al lograr una mejoría del método de la determinación de la digestibilidad "in vitro" éste se aplicó a 13 muestras de harina de pescado y los resultados se compararon con los valores de la utilización proteica neta en las mismas muestras, sin que se pueda detectar una correlación entre estos valores ni tampoco entre digestibilidad y el valor suplementario proteico.

W. G. J.

Captación in vitro de la triyodotironina marcada con I-131 por resina de intercambio iónico como prueba de función tiroidea.—A. Pajuelo E. (Dep. de Medicina, Facultad de Medicina, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima). *An. Fac. Med.*, 51, 32-40, 1968.

Se efectuó el test en 44 personas, presentando las siguientes cifras de captación por la resina: 48.9% para hipertiroideos, 22.2% para hipotiroideos, 23.3% para gestantes. En un trabajo previo se había encontrado un 32% para los normales.

W. G. J.

Contenido de alcohol de las cervezas peruanas.—W. Macher B. *Bol. Soc. Quím. Perú*, 34, 151-157, 1968.

Se presentan datos sobre el contenido alcohólico de cervezas peruanas que fluctúa entre 4.41 y 5.51 vol. %

W. G. J.

Determinación del incremento del ácido láctico en leche fresca y pasteurizada por el método de Meyer.—A. E. Traverso (Laboratorio de Bromatología y Laboratorio del Instituto de Química, Universidad Mayor de San Marcos, Lima, Perú). *Rev. Fac. Farm. Bioquím.* (Perú), 30: 52-62, 1969.

De un estudio realizado en la valoración de ácido láctico en la leche pasteurizada y conservada por refrigeración y leche mantenida en el medio ambiente se concluye que el valor del ácido láctico aumenta en relación al tiempo transcurrido, especialmente en leches crudas y mantenidas al medio ambiente y que el ácido láctico representa sólo una pequeña fracción de la acidez total. En las leches pasteurizadas el ácido láctico incrementa rápidamente a partir de las 28 horas. La valoración del ácido láctico constituye un aspecto de interés porque se refiere al grado de contaminación aprovechándose en el control bromatológico de la leche y sus derivados. Se señalan modificaciones prácticas para la valoración del ácido láctico y el método de Meyer. 11 referencias.

VENEZUELA

La colesterolemia en los ancianos venezolanos.—A. I. Jacir (Servi-

cio de Cardiología del Hospital Rísquez, Caracas). *Acta Med. Venez.*, 15, 138-149, 1968.

Se presentan los valores de la colesterolemia de 100 personas mayores de 60 años y se comparan con un grupo de control de jóvenes. Además se analizaron las posibles relaciones entre los valores obtenidos y los resultados de una prueba de sobrecarga glucosada.

No se encuentran significativamente aumentados los valores de colesterolemia en los sujetos mayores de 60 años en comparación con los jóvenes y los valores descienden progresivamente con la edad en cada grupo decenal.

Los valores son algo más elevados en el grupo de personas que presentan alteraciones de su tolerancia glucosada. 57 citas bibliográficas.

W. G. J.

Programas de nutrición a nivel de los organismos locales de salud. T. Rodríguez y C. Mirabal (Instituto Nacional de Nutrición, Caracas). *Acta Méd. Venezol.*, 16, 193-196, 1969.

Se presenta brevemente el programa de actividades de prevención, protección específica, tratamiento, capacitación de personal y cursos en materias de nutrición que está a cargo de los organismos locales de Salud Pública.

W. G. J.

LIBROS NUEVOS

Proceedings of a Conference Protein Foods for the Caribbean.—

Food and Nutrition Institute, Boliver Press, P. O. Box 413,
Kingston 10, Jamaica, 111 páginas. \$ 6.

Este volumen contiene las contribuciones a una conferencia reunida en Jamaica entre el 29 de julio y 1º de agosto de 1968. En 7 sesiones de 2-7 contribuciones individuales se pasó revista a los diversos problemas relacionados con la producción, utilización, apreciación, formulación y distribución de alimentos, especialmente aquellos ricos en proteínas. Las contribuciones son breves y claras y cubren los más diversos aspectos envueltos. Las condiciones en las islas del Caribe, aunque en aspectos históricos distintos de los de los países del continente latinoamericano, en sus problemas socio-económicos y nutricionales se parecen lo suficiente a los de los países de habla latina para hacer del presente volumen una contribución de gran valor, muy especialmente para personas interesadas en planificación de la producción y distribución de alimentos. El lenguaje es claro y sencillo y los problemas se discuten con un sentido de realidad y urgencia. Una útil y bienvenida contribución a la lucha por una mejora de las condiciones alimenticias del continente latinoamericano.

W. G. J.

World Review of Nutrition and Dietetics.—Vol. 10. G. H. Bourne,
Edit. S. Karger, New York and Basel, Switzerland 1968. 317
páginas, \$ 19.20.

En el volumen correspondiente al año 1968 se han publicado las siguientes contribuciones:

The Marriage of Food Technology and Nutrition. N. W.
Tape and Z. I. Sabry.

Dietary Patterns and Effect on Nutrient Intake. M. A. Ohlson.

Oilseed Protein: Present and Future. A. A. Woodham.

The Problems of Food and Nutrition of West Africa. F. T. Sai.

Hunger and Satiety. P. J. Morgane and H. L. Jacobs.

Lathyrism. S. L. N. Rao, K. Malathi and P. S. Sarma.

The Return of Infantile Rickets to Britain. G. C. Arneil.

Los temas escogidos, en muchos casos, no permiten una revisión bibliográfica muy completa en el limitado espacio asignado a cada artículo.

W. G. J.

World Review of Nutrition and Dietetics.—Vol. 11. G. H. Bourne, Edit. S. Karger, New York and Basel, Switzerland, 1969, 293 páginas, \$ 18.95.

Food and Population: An Overview. I. L. Bennett, Jr.

Nutritional Properties of Fish Oils. M. E. Stansby.

Plant Proteins in the Amelioration of Protein Deficiency States. M. Narayana Rao and M. Swaminathan.

Composition and Use of Peanuts in the Diet. J. G. Woodroof.

The Role of Hydrocyanic Acid in Nutrition. O. L. Oke.

Nutritional Aspects of Gallstone Formation with Particular Reference to Alimentary Production of Gallstone in Laboratory Animals. H. Dam.

Methane Production in Ruminants and its Significance. J. W. Czerkawski.

Una valiosa contribución a las bibliotecas de consulta en materia de nutrición.

W. G. J.

Toxic Constituents of Plant Foods.—I. E. Liener, Edit. Academic Press, New York y Londres, 1969. 500 páginas, \$ 28.00.

Este volumen está llamado a llenar un vacío sentido en la literatura sobre alimentos. Fuera de colecciones de breves notas, no existía un libro sobre el problema de los constituyentes tóxicos naturales en plantas alimenticias, aunque la literatura sobre la materia ha aumentado vertiginosamente

en los últimos diez años. El presente volumen recopila las contribuciones de 18 autores que tratan en 11 capítulos principalmente los diversos factores tóxicos formados por las mismas plantas y en un capítulo relativamente breve también aquellos absorbidos por el suelo, introducidos por el hombre o por contaminación microbiana.

De esta manera se ha reunido un importante material científico, en gran parte publicado en revistas de difícil acceso, y presentado de manera ordenada y accesible. La gran urgencia de una utilización racional de todas las fuentes de alimentos vegetales, y muy especialmente de las leguminosas, como excelentes fuentes de proteínas, le da una importancia especial a este volumen, puesto que las leguminosas son las más frecuentes portadoras de factores endógenos. Es de esperar que el libro de Liener contribuya en los esfuerzos a extender la utilización de productos vegetales de alto valor nutritivo en la alimentación de los pueblos en urgente necesidad de mejorar el abastecimiento alimenticio.

W. G. J.

Políticas de Alimentos y Nutrición.—Dirección de Nutrición. Colaboradores: B. F. Johnston y J. P. Greaves. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Publicación N° 22, 1969.

Contenido: 1. Políticas de Alimentos y Nutrición y Desarrollo Económico. 2. Consideraciones Generales sobre Políticas de Alimentos y Nutrición. 3. Análisis de la situación Alimentaria y Nutricional. 4. Formulación de la Política de Alimentos y Nutrición. 5. Realización de Políticas de Alimentos y Nutrición. 6. Organización y Coordinación. 7. Investigación y Capacitación en Materia de Nutrición. Apéndices. Bibliografía.

J. F. Ch.

Trace Mineral Studies with Isotopes in Domestic Animals.—International Atomic Energy Agency (IAEA), Viena, Austria, 1969. U. S. \$ 4.00.

Esta publicación recopila los trabajos presentados en el panel sobre el uso de isótopos en estudios del metabolismo

mineral y enfermedades en animales domésticos, celebrado en Viena en octubre de 1968. La reunión estuvo organizada por la División combinado FAO-IAEA sobre Energía Atómica en Alimentos y Agricultura.

J. F. Ch.

La inspección y Vigilancia de Aditivos Alimentarios en la URSS.

A. I. Stenberg, Y. I. Shillinger y M. G. Shevchenko. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Publicación N° 8, 1969.

Contenido: Introducción. 1. Principios básicos que rigen el empleo de los aditivos alimentarios. 2. Métodos de control. 3. Reglamento sobre aditivos alimentarios.: Colorantes. Sustancias conservadoras. Antioxidantes. Acidos y Bases. Aromatizantes y Mejoradores del Sabor. Geles, Estabilizadores y Emulsionantes. Mejoradores y Abrillantadores. 4. Documentación Nacional sobre Aditivos Alimentarios.

J. F. Ch.

Diet Manual.—Second edition. Compiled by the Dietary Staff of Vanderbilt University Hospital. Vanderbilt University Press. Nashville, 1969. Tennessee. U. S. A., 158 páginas. \$ 6.95.

Comúnmente, los Manuales de Dietas se elaboran para determinadas instituciones teniendo como función específica el de establecer las pautas dietoterapéuticas que dicha institución hospitalaria debe cumplir.

El presente Manual de Dietas (*Diet Manual*), en su segunda edición, y elaborado por el cuerpo de Dietistas del Hospital de la Universidad de Vanderbilt, publicado en 1969, cumple igualmente estas funciones, tratando de ampliarlas con el objeto de ser utilizadas en instituciones afines.

Consta de cinco capítulos destinados, el I, a la Dieta Normal; el II, a las Dietas de rutinas del Hospital; el III, a las Dietas Modificadas; el IV, a Fórmulas Lácteas y Alimentación por Sonda, y el V, a Dietas en Pediatría. Se complementa con un Apéndice destinado a Tablas de Composición de Alimentos y sus contenidos en nutrientes específicos.

Las diferencias que presenta este Manual, con sus simi-

lares, y que lo hacen estar al día en la materia, son las siguientes:

1) En el capítulo II, Dietas de rutina del Hospital, aparecen, además de las conocidas, las dietas líquidas usadas en Amigdalotomía y en cirugía de cataratas.

2) En el capítulo III, Dietas Modificadas, en la parte de la restricción de Proteínas, Potasio y Sodio, se incluye un párrafo destinado a las proteínas para pacientes en diálisis. En el mismo capítulo se habla de las dietas restringidas en gluten y gliadina.

3) En el capítulo de Fórmulas Lácteas se anexa una lista de diversos tipos de leche para infantes, con su contenido en nutrientes y minerales.

4) Finalmente, en el capítulo de Dietas Pediátricas, incluye la Dieta Cetogénica infantil, la Dieta baja en Fenilalanina usada en Fenilquetonuria y la Dieta libre de Galactosa que se usa en la Galactosemia o Galactosuria.

Se recomienda el presente Manual como obra de consulta, de gran utilidad para médicos, nutricionistas-dietistas y otros profesionales afines con la ciencia de la nutrición.

A. L. B.

NOTAS

CURSO DE NUTRICION EN SALUD PUBLICA

El Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y la Universidad Autónoma de San Carlos de Guatemala, a través de su Facultad de Ciencias Médicas, iniciaron en 1968 un curso integral a nivel de postgrado, cuyo objetivo es proporcionar adiestramiento superior en nutrición, con especial énfasis en las áreas de pediatría y salud pública.

El curso tiene una duración de un año. Se inicia dos veces al año, como sigue: el primer día hábil del mes de enero y el 1º de julio. Se imparte exclusivamente en español y está destinado a profesionales interesados en el campo de la Nutrición en Salud Pública, con título de Médico y Cirujano otorgado por la Escuela de Medicina de validez académica reconocida.

Para mayor información, dirigirse por correo aéreo a:

División de Enseñanza
INCAP
Apartado Postal 1188
GUATEMALA, C. A.

VII CONGRESO DE LA SOCIEDAD EUROPEA DE DIALISIS Y TRASPLANTE

El VII Congreso de la Sociedad Europea de Diálisis y Trasplante tendrá lugar en Barcelona durante los días 25, 26 y 27 de junio de 1970.

Este Congreso incluirá una Exposición Científica y una Exposición Comercial.

Para informaciones pueden dirigirse a la Secretaría del Congreso:

Instituto Policlínico
Platón, Nº 21
Barcelona, España

THE CHALLENGE OF SYNTHETIC AND SUBSTITUTE FOODS

Auspiciado por el Instituto Gottlieb Duttweiler en colaboración con el Instituto de Investigaciones en Nutrición de la Green Meadow Foundation, se celebrará en Zurich, Suiza, el Congreso de carácter internacional: "The challenge of synthetic and substitute food", en los días 5 y 6 de febrero de 1970. Si se desea mayor información y para obtener los programas, favor escribir a:

Gottlieb Duttweiler Institute
International Conference
CH-8803 Ruschlikon
Zurich, Suiza

INDICE GENERAL DEL VOLUMEN XIX — 1969

	Pág.
EDITORIALES:	
Saudação aos participantes do 1º Congresso da SLAN	3
TRABAJOS GENERALES:	
Contenido de vitamina A en los alimentos incluidos en la tabla de composición de alimentos para uso en América Latina.—M. Flores, M. T. Menchú, M. Y. Lara y G. Arroyave	311
TRABAJOS DE INVESTIGACION:	
Teor de ácido ascórbico e beta-caroteno em frutas e hortaliças brasileiras.—H. Fonseca, J. N. Nogueira, A. M. S. Marcondes	9
Somatometría en niños de clase socio-económica baja. I. Análisis del peso y la talla en 2.980 observaciones, San Jacinto (Bolívar), Colombia, 1967.—O. Mora P.	17
Effect of sample preparation and of fat and crude fiber in the diet, on the determination of net protein utilization (NPU).—J. E. Braham and R. Bressani	35
El peso y la talla al nacimiento en un grupo de niños de clase económica baja. Manizales, Colombia.—H. Luna Jaspe, M. Arango Soto, J. Díaz Benítez y H. Botero Castro	41
Evaluación del estado nutricional por medio de la excreción urinaria de vitaminas.—A. Chávez, C. Pérez Hidalgo y R. Monroy	53
Biochemical changes produced by cocaine in rats receiving different types of nutrition.—R. Ramos Aliaga and G. Arroyave	83
Mezclas vegetales para consumo humano. XVIII. Desarrollo de la mezcla vegetal INCAP 17, a base de semillas leguminosas.—Luiz G. Elías, R. P. Bates y R. Bressani	109
Evaluación, en niños, de la calidad de la proteína del maíz Opaco-2.—R. Bressani, J. Alvarado y F. Viteri	129
Efecto corrosivo en enlatados de caraotas (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y sus productos.—O. Herrera de López	141
Infección intestinal en niños de áreas rurales centroamericanas y sus posibles implicaciones nutricionales.—L. J. Mata	153
Aspectos epidemiológicos, clínicos y etiológicos de la enfermedad diarreica en el niño del área rural.—J. J. Urrutia y L. J. Mata	173
Los grupos de edades más vulnerables a la mortalidad carencial en Venezuela de 1950-1967.—F. Vélez Boza	191
Mejoramiento del valor nutritivo de dietas de consumo humano. I. Evaluación nutricional de la dieta de pre-escolares en tres comunidades rurales de Guatemala.—J. E. Braham, M. Flores, L. G. Elías, S. de Zaghi y R. Bressani	231

	<u>Pág.</u>
Mejoramiento del valor nutritivo de dietas de consumo humano. II. Suplementación con mezcla vegetal INCAP 9 y leche.—J. E. Braham, M. Flores, L. E. Elías, S. de Zaghi y R. Bressani	253
Ingesta de micronutrientes en las áreas rurales de Centro América y Panamá.—M. Flores, M. T. Menchú y G. Arroyave	265
Estudio comparativo de diferentes métodos para evaluación del valor proteico de harinas de semilla de algodón.—L. G. Elías, S. Sánchez Loarca y R. Bressani	279
Contenido de selenio en muestras de semillas de ajonjolí (<i>Sesamum indicum</i>) procedentes de varios países.—W. G. Jaffé, J. F. Chávez y M. C. Mondragón	299
Effect of pH on the free and total gossypol and nutritive value of cottonseed and protein concentrate.—R. Bressani, L. G. Elías and A. Porras	367
Utilización de la harina de yuca (<i>Manihot sculenta</i>) en raciones iniciadoras para pollos de engorde.—J. J. Montilla, C. R. Méndez y H. Wiedenhefer	381
Desnutrición experimental en la rata.—J. Araya, G. Donoso y M. A. Tagle	389
Estudio sobre conservación y aceptabilidad de galletas de leche completa.—F. Pardo Téllez y J. O. Mora Parra	405
Dilution of proteins with nonessential aminoacids and inorganic nitrogen.—J. E. Braham and R. Bressani	421
The effect of malnutrition on the inflammatory response as exhibited by the development of the granuloma pouch of the rat after the inoculation of bacteria.—P. E. Taylor, C. Tejada and M. Sánchez	433
BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA	83, 205, 343, 463
LIBROS NUEVOS	89, 209, 351, 469
NOTAS	95, 211, 355, 475
NECROLOGIA	103
INFORMACION TECNICA	213

INDICE POR AUTORES DEL VOLUMEN XIX — 1969

	<u>Pág.</u>
A	
Alvarado, J. (Véase Bressani, R.)	129
Arango Soto, M. (Véase Luna-Jaspe, H.)	41
Araya, J., Donoso, G. y Tagle, M. A.—Desnutrición experimental en la rata	389
Arroyave, G. (Véase Ramos-Aliaga, R.)	69
Arroyave, G. (Véase Flores, M.)	265
Arroyave, G. (Véase Flores, M.)	311
B	
Bates, R. P. (Véase Elías, L. G.)	109
Botero Castro, H. (Véase Luna-Jaspe H.),	41
Braham, J. E., Flores, M., Elías, L. G., Zaghi, S. y Bressani, R.—Mejoramiento del valor nutritivo de dietas de consumo humano. I. Evaluación nutricional de la dieta de pre-escolares en tres comunidades rurales de Guatemala	231
Braham, J. E., Flores, M., Elías, L. G., Zaghi, S. y Bressani, R.—Mejoramiento del valor nutritivo de dietas de consumo humano. II. Suplementación con Mezcla Vegetal INCAP 9 y leche	253
Braham, J. E. and Bressani, R.—Effect of sample preparation and of fat and crude fiber in the diet, on the determination of net protein utilization (NPU)	35
Braham, J. E. and Bressani, R.—Dilution of protein with nonessential amino acids and inorganic nitrogen	421
Bressani, R., Alvarado, J. y Viteri, F.—Evaluación, en niños, de la calidad de la proteína del maíz Opaco-2	129
Bressani, R., Elías, L. G. and Porras, A.—Effect of pH on the free and total gossypol and nutritive value of cottonseed protein concentrate	367
Bressani, R. (Véase Elías, L. G.)	109
Bressani, R. (Véase Braham, J. E.)	231
Bressani, R. (Véase Braham, J. E.)	253
Bressani, R. (Véase Elías, L. G.)	279
Bressani, R. (Véase Braham, J. E.)	35
Bressani, R. (Véase Braham, J. E.)	421
CH	
Chávez, A., Pérez Hidalgo, C. y Monroy, R.—Evaluación del estado nutricional por medio de la excreción urinaria de vitaminas ...	53
Chávez, J. F. (Véase Jaffé, W. G.)	299

	Pág.
D	
Díaz Benítez, J. (Véase Luna-Jaspe, H.)	41
Donoso, G. (Véase Araya, J.)	389
E	
Elías, L. G., Bates, R. P. y Bressani, R.—Mezclas vegetales para consumo humano. XVIII. Desarrollo de la Mezcla Vegetal INCAP 17, a base de semillas leguminosas	109
Elías, L. G., Sánchez Loarca, S. y Bressani, R.—Estudio comparativo de diferentes métodos para evaluación del valor proteico de harinas de semillas de algodón	279
Elías, L. G. (Véase Braham, J. E.)	231
Elías, L. G. (Véase Braham, J. E.)	253
Elías, L. G. (Véase Bressani, R.)	367
F	
Fonseca, H., Nogueira, J. N. y Marcondes, A. M. S.—Teor de ácido ascórbico e beta-caroteno em frutas e hortaliças brasileiras	9
Flores, M., Menchú, M. T., Lara, M. Y. y Arroyave, G.—Contenido de vitamina A en los alimentos incluidos en la tabla de composición de alimentos para uso en América Latina	311
Flores, M., Menchú, M. T. y Arroyave, G.—Ingesta de micronutrientes en las áreas rurales de Centro América y Panamá	265
Flores, M. (Véase Braham, J. E.)	231
Flores, M. (Véase Braham, J. E.)	253
J	
Jaffé, W. G., Chávez, J. F. y Mondragón, M. C.—Contenido de selenio en muestras de semillas de ajonjolí (<i>Sesamum indicum</i>) procedentes de varios países	299
L	
Luna-Jaspe, H., Arango Soto, M., Díaz Benítez, J. y Botero Castro, H. El peso y la talla al nacimiento en un grupo de niños de clase económica baja. Manizales, Colombia	41
Lara, M. Y. (Véase Flores, M.)	311
López de, O.—Efecto corrosivo en enlatados de caraotas (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y sus productos	141
M	
Mata, L. J. (Véase Urrutia, J. J.)	173
Mata, L. J.—Infección intestinal en niños de áreas rurales centro-americanas y sus posibles implicaciones nutricionales	153
Marcondes, A. M. S. (Véase Fonseca, H.)	9
Méndez, C. R. (Véase Montilla, J. J.)	381
Montilla, J. J., Méndez, C. R. y Wiedenhefer, H.—Utilización de la yuca (<i>Manihot sculenta</i>) en raciones iniciadoras para pollos de engorde	381

	<u>Pág.</u>
Mora Parra, J. O.—Somatometría en niños de clase socio-económica baja. I. Análisis del peso y la talla en 2.980 observaciones. San Jacinto (Bolívar), Colombia	17
Mora Parra, J. O. (Véase Pardo Téllez, F.)	405
Monroy, R. (Véase Chávez, A.)	53
Menchú, M. T. (Véase Flores, M.)	265
Menchú, M. T. (Véase Flores, M.)	311
Mondragón, M. C. (Véase Jaffé, W. G.)	299
N	
Nogueira, J. N. (Véase Fonseca, H. O.)	9
P	
Pardo Téllez, F. y Mora Parra, J. O.—Estudio sobre conservación y aceptabilidad de galletas de leche completa	405
Pérez Hidalgo, C. (Véase Chávez, A.)	53
Porras, A. (Véase Bressani, R.)	367
R	
Ramos-Aliaga, R. and Arroyave, G.—Biochemical changes produced by cocaine in rats receiving different types of nutrition	69
S	
Sánchez Loarca, S. (Véase Elías, L. G.)	279
Sánchez, M. (Véase Taylor, P. E.)	433
T	
Tagle, M. A. (Véase Araya, J.)	389
Taylor, P. E., Tejada, C. and Sánchez, M.—The effect of malnutrition on the inflammatory response as exhibited by the development of the granuloma pouch of the rat after the inoculation of bacteria	433
Tejada, C. (Véase Taylor, P. E.)	433
U	
Urrutia, J. J. y Mata, L. J.—Aspectos epidemiológicos, clínicos y etiológicos de la enfermedad diarreica en el niño del área rural	173
V	
Vélez Boza, F.—Los grupos de edades más vulnerables a la mortalidad carencial en Venezuela de 1950-1967	191
Viteri, F. (Véase Bressani, R.)	119
W	
Wiedenhefer, H. (Véase Montilla, J. J.)	381
Z	
Zaghi, S. de (Véase Braham, J. E.)	231
Zaghi, S. de (Véase Braham, J. E.)	253

INDICE POR MATERIAS DEL VOLUMEN XIX — 1969

	<u>Pág.</u>
A	
Acido ascórbico (en frutas y hortalizas brasileiras)	9
Ajonjolí (contenido de selenio)	299
Algodón (estudio comparativo de diferentes métodos)	279
Algodón (effect of pH)	367
Alimentos (contenido de vitamina A en)	311
Aminoácidos (dilution of proteins)	421
B	
Bacteria (the effect of)	433
Beta-caroteno (en frutas y hortalizas brasileiras)	9
Bioquímicos (biochemical changes)	69
C	
Caraotas (efecto corrosivo en)	141
Cocaína (biochemical changes produced by)	69
Centro América y Panamá (ingesta de micronutrientes en)	265
D	
Diarreica (aspectos epidemiológicos)	173
Dieta (effect of sample preparation)	35
Dieta (mejoramiento del valor nutritivo)	231
Dieta (mejoramiento del valor nutritivo)	253
Desnutrición (experimental)	389
E	
Edades (los grupos de)	191
Efecto corrosivo (en enlatados)	141
Epidemiológicos (aspectos)	173
Evaluación nutricional (mejoramiento del)	231
Excreción urinaria (evaluación del estado)	53
F	
Fibra cruda (effect of sample preparation)	35
G	
Galletas (estudio sobre)	405
Granuloma (the effect of)	433
Grasa (effect of sample preparation)	35
Gosipol (effect of pH)	367
Grupos (los grupos de edades)	191

	Pág.
I	
Infección (intestinal en)	153
Inorgánico nitrógeno (dilution of)	
L	
Leche completa (estudio sobre)	405
M	
Maíz (evaluación en niños)	129
Malnutrición (the effect of)	433
Micronutrientes (ingesta de)	265
Mezclas (vegetales para)	109
N	
Nitrógeno inorgánico (dilution of)	421
Nutritional (evaluación del)	53
O	
Opaco-2 (evaluación en niños)	129
P	
Peso (el peso y la talla)	41
Pollos (utilización de la)	381
R	
Rata (desnutrición experimental)	389
S	
Selenio (contenido de)	299
Semillas leguminosas (mezclas vegetales)	109
Somatometría (en niños de)	17
Suplementación con (mejoramiento del valor nutritivo)	253
T	
Tablas de Composición de Alimentos	311
Talla (el peso y la)	41
U	
Urinaria (evaluación del estado nutricional)	53
Utilización proteica neta (effect of sample)	35
V	
Valor nutritivo (mejoramiento del)	231
Valor nutritivo (mejoramiento del)	253
Valor proteico (estudio comparativo)	279
Vitamina A (contenido de)	311
Y	
Yuca (utilización de la harina de)	381

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Dr. José E. Dutra de Oliveira (Brasil), Dr. B. A. Houssay (Argentina), Dr. José A. Landa (Argentina), Dr. Julio Santa María (Chile), Dr. J. C. Waterlow (Jamaica).

Editor General: Dr. WERNER G. JAFFE

Editores Asistentes: Dr. Guillermo Arroyave y Dr. Mauricio Ruphael Divo

Editor Asociado: Dr. José Félix Chávez

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL

Dr. Cecilio Abela Deheza	Srta. Marina Flores
Dr. Jorge Alvarado	Dr. Silvestre Frenk
Dr. C. Alvariñas	Dr. Carlos Gitler
Dr. Werner Ascoli	Dr. José A. Goyco
Dr. Conrado F. Asenjo	Dr. Alberto Guzmán Barrón
Dr. A. Bacigalupo	Dr. Miguel Guzmán F.
Dr. Carlos Bauza	Dr. Emilio Picón Reategui
Dr. Moisés Béhar	Dr. Yaro Ribeiro Gandra
Dr. José María Bengoa	Dr. Roberto Rueda Williamson
Dr. Edgar Braham	Dr. Juan Claudio Sanahuja
Dr. Ricardo Bressani	Dra. Esther Seijo de Zayas
Dr. Nelson Chaves	Dr. Leonardo Sinisterra
Dr. Joaquín Cravioto	Dr. Hermann Schmidt-Hebbel
Dr. Eric Cruickshank	Dra. María Angélica Tagle
Dr. Romeo de León	Dr. Carlos Tejada
Dr. Mario Desio de La Vega	Dra. Tamara de Vega
Dr. Gonzalo Donoso	Dr. Fernando Viteri
Lic. Luiz G. Elías	Dr. Salvador Zubirán
Dr. Rafael Enderica Vélez	

Srta. Raquel Flores

Asesora en comunicaciones científicas

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (S.L.A.N.) fue creada el 10 de noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental reunido en Chicago, Illinois, Estados Unidos de Norteamérica. La actual Junta Directiva de la SLAN está constituida por los siguientes miembros:

Presidente:	Dr. Fernando Monckeberg (Chile)*
Vice-Presidente:	Dr. Antonio Bacigalupo P. (Perú)
Secretario:	Dr. María Angélica Tagle (Chile)
Tesorero:	Dr. Antonio Arteaga (Chile)
Vocales:	Dr. Dorothy Wilson (Panamá)
	Dr. Miguel Octavio Russa (Venezuela)
	Dr. Hugo de Miranda (Paraguay)
	Dr. Mario Campagnoli (Argentina)
	Dr. Emilio Picón Reátegui (Perú)
	Dr. Nelson Fernández (Puerto Rico)
	Dr. Rafael Enderica Vélez (Ecuador)

* Dirección actual: Laboratorio de Investigaciones Pediátricas. Escuela de Medicina. Universidad de Chile. Casilla 5370. Santiago. Chile.

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Vol. XIX — N° 4 — Diciembre 1969

CONTENIDO

	Pág.
TRABAJOS DE INVESTIGACION:	
EFFECT OF pH ON THE FREE AND TOTAL GOSSYPOL AND NUTRITIVE VALUE OF COTTONSEED AND PROTEIN CONCENTRATE. RICARDO BRESSANI, LUIZ G. ELIAS AND AMERICO PORRAS	367
UTILIZACION DE LA HARINA DE TUBERCULO DE YUCA (MANIHOT SCULENTA) EN RACIONES INICIADORAS PARA POLLOS DE ENGORDE. JUAN DE J. MONTILLA S., CARMEN ROSA MENDEZ y HERMAN WIEDENHOFER	381
DESNUTRICION EXPERIMENTAL EN LA RATA. JULIA ARAYA, GONZALO DONOSO y MARIA ANGELICA TAGLE	389
ESTUDIO SOBRE LA CONSERVACION Y ACEPTABILIDAD DE GALLETAS DE LECHE COMPLETA. FRANZ PARDO TELLEZ y OBDULIO MORA PARRA	405
DILUTION OF PROTEINS WITH NONESSENTIAL AMINO ACIDS AND INORGANIC NITROGEN. J. EDGAR BRAHAM AND RICARDO BRESSANI	421
THE EFFECT OF MALNUTRITION ON THE INFLAMMATORY RESPONSE. AS EXHIBITED BY THE DEVELOPMENT OF THE GRANULOMA POUCH OF THE RAT AFTER THE INOCULATION OF BACTERIA. PATRICIA E. TAYLOR, CARLOS TEJADA AND MARGARITA SANCHEZ	433
BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA	463
LIBROS NUEVOS	469
NOTAS	475
INDICE GENERAL DEL VOL. XIX	477
INDICE POR AUTORES	479
INDICE POR MATERIAS	483