

Papel de las poliaminas en la alimentación. Importancia de las poliaminas en la alimentación infantil

Carlos Gómez Gallego, Gaspar Ros Berrueto, María José Bernal Cava[†], Darío Pérez Conesa, María Jesús Periago Castón

Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.
Campus de Espinardo. España. Instituto de Nutrición Infantil Hero. Hero España SA, España

RESUMEN. Durante la década de los 90 del siglo pasado comenzaron los primeros estudios que señalaban a las poliaminas como importantes factores de crecimiento de la leche materna. Sin embargo, todavía se desconoce mucho sobre el papel que desempeñan en la alimentación infantil y cual sería la ingesta recomendada para este grupo poblacional. En los últimos años va siendo cada vez mayor la atención que muestra la comunidad científica internacional hacia las poliaminas, debido no sólo al importante papel que desempeñan en el metabolismo celular, sino por su posible participación en diversas patologías y durante el desarrollo del organismo. Sería recomendable, teniendo en cuenta que el contenido en poliaminas de las fórmulas infantiles es unas 10 veces menor al de la leche materna, profundizar más en este campo, con el fin de garantizar una correcta alimentación durante la etapa de lactancia.

Palabras clave: Putrescina, espermidina, espermina, poliaminas, fórmulas infantiles.

SUMMARY. Role of polyamines in diet. Importance of polyamines in infant nutrition. The first studies indicating polyamines as important growth factors in breast milk began during the nineties of last century. Nevertheless, it is still not well known the role they play in infant nutrition or what the recommended intake would be for this population group. In recent years, there has been increased attention of the international scientific community towards polyamines, not only due to the important role they play in the cellular metabolism, but also to their possible implication in some diseases and during the development of the human organism. Bearing in mind that the content in polyamines of the infant formula is around ten-fold less than in breast milk, it would be recommended to gain insight into this theme in order to guarantee correct nutrition during lactation.

Key words: Putrescine, spermidine, spermine, polyamines, infant formula.

INTRODUCCION

Con el nombre genérico de poliaminas se conoce a una familia de compuestos cuyas características comunes son poseer una estructura simple alifática de bajo peso molecular (1), ser policaciones flexibles que a pH fisiológico se encuentran presentes casi exclusivamente en sus formas di, tri y tetraamónio protonadas (1,2) y ser compuestos muy estables capaces de resistir el calor y condiciones ácidas o alcalinas (3).

Los miembros más representativos de esta familia son la putrescina, la espermina y la espermidina, aunque otros autores incluyen a la cadaverina por estar presente de forma natural en muchos organismos vivos (4).

Recientemente, una nueva molécula derivada de la arginina, denominada agmatina, ha sido identificada como poliamina. Es una amina policatiónica que es sintetizada por descarboxilación de la L-arginina y que fue originalmente identificada como neurotransmisor (5).

Actualmente se siguen descubriendo otras poliaminas con estructuras químicas diferentes o en forma cíclica, con distintas funciones. Así, se ha descrito toda una gama de poliaminas macrocíclicas con funciones de defensa en insectos (4).

Las poliaminas fueron descubiertas por Antonie van

Leeuwenhoek en 1678, que, al observar al microscopio muestras de semen desecadas, las vio formando cristales de espermina fosfato. Sin embargo, no fue hasta 1924 cuando se dedujo la fórmula empírica de los cristales, y dos años después se consiguieron sintetizar químicamente por primera vez. Los nombres de la espermidina y la espermina reflejan claramente su descubrimiento original. La putrescina fue aislada por primera vez a partir de *Vibrio cholerae*, pero su nombre común deriva de las grandes cantidades que se encuentran en la carne putrefacta. Debido a sus orígenes puede sorprender que a día de hoy las poliaminas sean consideradas como reguladores críticos del crecimiento, diferenciación y muerte celular (6).

El metabolismo de las poliaminas ha sido cuidadosamente conservado a lo largo de la evolución de los seres vivos, existiendo varios mecanismos de regulación que contribuyen a mantener la homeostasis intracelular de las poliaminas. (7).

Existen tres fuentes de poliaminas para el organismo: biosíntesis in situ a partir de aminoácidos, ingestión directa en la dieta y síntesis y liberación por la flora residente en el tracto gastrointestinal (3).

Aunque las células pueden sintetizar poliaminas, la dieta parece ser una fuente fundamental, porque al igual que en el caso de ciertos aminoácidos semiesenciales, la capacidad de síntesis de las células o los órganos no es suficiente para

satisfacer los requerimientos totales (3). El contenido en las diferentes poliaminas varía de acuerdo al tipo de alimento; de forma general, en alimentos vegetales el contenido en espermidina es mayor que el de espermina. En alimentos de origen animal la relación espermidina/espermina es la contraria, siendo mayor la cantidad de espermina. (8). Con respecto a la ingesta de poliaminas, hay dos hechos que acontecen en nuestro país: hay pocos estudios de composición de poliaminas en los alimentos y sólo se han realizado para quesos, carnes, embutidos y algunos vinos mediante técnicas de cuantificación por HPLC; y no hay datos sobre su consumo poblacional (9). Por otro lado, a pesar del hecho de que nosotros ingerimos cantidades significativas de poliaminas, la biodisponibilidad en el hombre no es del todo conocida (6)

Su alta concentración en el fluido espermático y en la sangre, su posible papel en el desarrollo del cáncer y en su

tratamiento; su papel en la nutrición y el desarrollo, sobre todo en etapas de crecimiento intenso; y su papel como inhibidores de la glicosilación no enzimática, hacen a estos compuestos muy interesantes desde el punto de vista de la investigación.

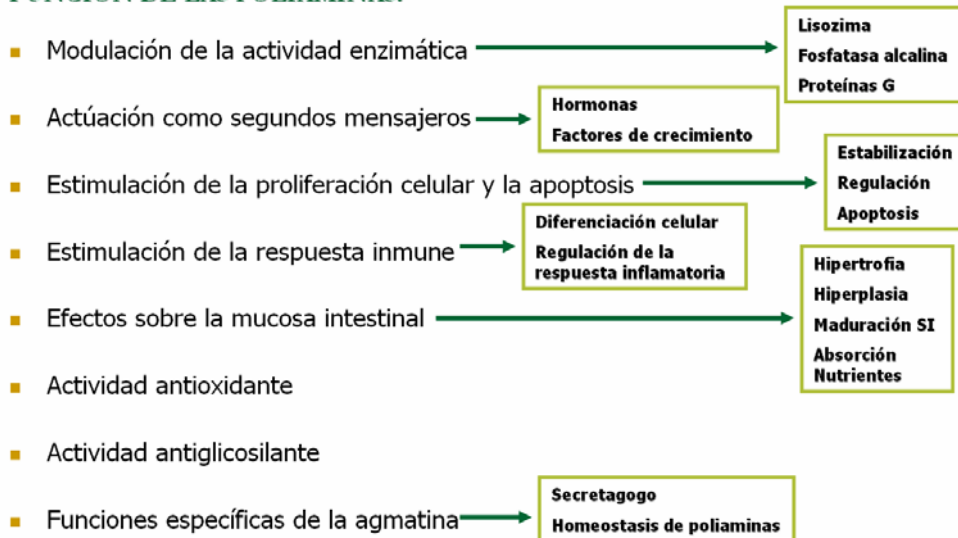
Función de las poliaminas

Desde las décadas de los 80 y 90 se sabe que las poliaminas están implicadas en varios procesos de crecimiento y diferenciación celular. El importante papel de las poliaminas aparece reflejado en la Figura 1, siendo fundamental en el crecimiento normal y adaptativo de varios sistemas de órganos, lo que está bien documentado. Además, las poliaminas están esencialmente implicadas en la carcinogénesis y el crecimiento de tumores (7).

FIGURA 1

Esquema de las diferentes funciones que desempeñan las poliaminas en el organismo

FUNCIÓN DE LAS POLIAMINAS:



A pH fisiológico, las poliaminas poseen carga positiva en cada uno de sus átomos de nitrógeno. Sin embargo, la carga de las poliaminas se distribuye a lo largo de la cadena carbonada, lo que las convierte en unas moléculas únicas y distintas desde el punto de vista electroquímico al resto de cationes polivalentes celulares (6). Además, su función depende de las cargas eléctricas, ya que la energía de unión a moléculas disminuye conforme lo hace el número de cargas. Así, se ha visto que la espermidina es la más activa y la putrescina es la menos activa en el control de varios procesos biológicos (5), aunque esto no siempre es así.

Las poliaminas modulan la actividad de algunas enzimas, como la lisozyma, aumentando su actividad y su estabilidad,

y de la fosfatasa alcalina (por inducción de modificaciones postranscripcionales) haciendo que aumente su actividad en el yeyuno y disminuya en el íleon (10). Además, las poliaminas están implicadas en la regulación de bastantes enzimas de unión a membrana, incluyendo a (6,11): adenilato ciclasa, proteínas G, transglutaminasa tisular y varios canales iónicos como: el de N-metil-D-aspartato, los KIR y los canales de calcio activados por voltaje.

Efectos sobre la proliferación celular y la apoptosis

La estimulación de la proliferación celular parece estar relacionada con la estabilización de las cargas negativas del ADN y con la estabilización de la estructura de la cromatina.

Parece ser que también regulan algunos factores transcripcionales y la síntesis de proteínas. Sin embargo, la acumulación excesiva de poliaminas induce la apoptosis, debido probablemente al incremento del estrés oxidativo asociado a la acumulación de peróxido de hidrógeno durante el catabolismo de las poliaminas por la poliamino oxidasa (5). Además, las células pueden sufrir apoptosis cuando sus reservas de poliaminas se agota (12).

Estos efectos sobre la proliferación celular son debidos a que las poliaminas neutralizan las cargas negativas de los ácidos nucleicos y favorecen que el ADN adopte una conformación apropiada (11), se ha visto que la espermidina facilita la compactación del ADN y la actividad de las topoisomerasas, favorece su resistencia a la ADNasa I y a otras nucleasas, al mismo tiempo que lo mantienen transcripcionalmente activo (4), la espermidina y la espermina pueden unir las hendiduras mayores y menores del ADN, actuando como un cebo entre dos moléculas diferentes o dos partes alejadas de la misma molécula (6) y, por otro lado, los efectos proliferativos de las poliaminas pueden ser debidos también a la estimulación directa de la síntesis de proteínas a nivel de la estimulación de la maduración de la subunidad 30S del ribosoma y a nivel de la traducción de muchas proteínas importantes para el crecimiento celular y la viabilidad. Además, la espermidina es imprescindible para la hipusilación del factor iniciador de la traducción de eucariotas 5A (eIF-5A). (13,14). La estructura del eIF-5A y su modificación están altamente conservadas desde levaduras a humanos e incluso arqueas. En levaduras, un fallo al sintetizar este factor proteico es letal (15).

Sin embargo, la función más importante de las poliaminas, en la que no pueden ser sustituidas por otras moléculas cargadas positivamente, es su acción como segundos mensajeros, mediando en la acción de todas hormonas conocidas y factores de crecimiento, jugando un papel indispensable en el metabolismo humano (16).

Efectos sobre el sistema inmune (SI).

Las poliaminas están implicadas en la diferenciación de las células del sistema inmune y en la regulación de la respuesta inflamatoria, con cambios en los niveles de IgA e incremento en el porcentaje de linfocitos intraepiteliales (5).

Se ha visto que las poliaminas pueden actuar como intermediarios en el efecto timotrófico de mediadores como la prolactina. También, en el curso de la inflamación local, la espermina es liberada por las células dañadas o muertas favoreciendo la migración y el crecimiento de linfocitos (11).

Efectos sobre la mucosa intestinal

La acción de las poliaminas sobre el crecimiento, desarrollo y la permeabilidad intestinal no es del todo conocida y suscita controversia. Al parecer pueden ejercer efectos tróficos directos sobre las células intestinales inmaduras, mejorando

la permeabilidad de la mucosa y produciéndose de forma paralela una maduración del sistema inmune intestinal, afectando particularmente a la diferenciación de la población linfocitaria intraepitelial (17).

Se ha visto que en ratas lactantes las poliaminas producen un incremento de todos los parámetros de crecimiento de la mucosa, inducen prematuramente un patrón adulto de las enzimas de la mucosa (lactasa, sacarasa, maltasa y aminopeptidasa) e incrementan la concentración de inmunoglobulinas en las vellosidades y en las criptas (18).

Se ha visto que además de hipertrofia de las células intestinales producen hiperplasia, estimulando la regeneración del tejido. Inhibe la secreción ácida gástrica, promueve la curación de las úlceras y previene el desarrollo de úlceras gástricas inducidas experimentalmente. Además de estimular el desarrollo intestinal favorecen e incrementan la absorción de nutrientes (19).

De forma más concreta se ha visto en ratas que la espermina y espermidina a nivel de intestino incrementan la expresión enzimática, la síntesis de ADN y proteínas, al mismo tiempo que reducen la permeabilidad a macromoléculas (20).

La inducción de la proliferación y la maduración del tracto intestinal parece ser, al menos en parte, debida a cambios en la composición lipídica de la membrana y la fluidez (5).

Actividad antioxidante de las poliaminas.

Muchos estudios han demostrado que la actividad antioxidante de las poliaminas y de algunas aminos biógenas fenólicas puede ser incluso más fuerte que las de los tocoferoles, el ácido ascórbico, el hidroxianisol butilado (BHA) y el hidroxitolueno butilado (BHT) (21).

Se ha visto que las células que tienen sus reservas de poliaminas agotadas son altamente sensibles al ataque oxidativo, lo que sugiere que las poliaminas son importantes antioxidantes fisiológicos. Además, se ha visto también que las células responden al estrés oxidativo incrementando la biosíntesis de poliaminas y su captación (22).

Fisiológicamente se viene pensando que la capacidad de las poliaminas de captar las diferentes especies de oxígeno reactivas parece tener una importancia menor porque la constante de esa reacción es baja, y se asume que sus propiedades antioxidantes podrían depender sobre todo de su habilidad para quelar metales (6). De forma general, se ha visto que la putrescina no reacciona con los radicales hidroxilo y la reactividad de la espermidina es menor que la del resto de poliaminas con dos grupos aminopropilo terminales (22). Así, las poliaminas naturales tienen menor capacidad para captar radicales peroxilo y anión superóxido que otros antioxidantes. Sin embargo no debemos despreciar esta capacidad debido a la alta concentración local de poliaminas alrededor de las dianas aniónicas de las especies de oxígeno reactivas como el ADN y las membranas celulares (6).

Actividad antiglicosilante de las poliaminas

La glicosilación no enzimática de proteínas y ácidos nucleicos es la base de las complicaciones de la diabetes debidas a la hiperglucemia. Esta glicosilación no enzimática forma, en una primera etapa, productos de glicosilación tipo Amadori o fructosaminas. En una segunda etapa se forman los productos de glicosilación avanzada (AGEs), que son los responsables de las retinopatías, neuropatías y nefropatías diabéticas, y están implicados también en patologías como la uremia y la aterosclerosis (12).

Existían bastantes indicios que hacían de las poliaminas buenos candidatos para inhibir esta glicosilación como: su naturaleza policatiónica, su ubicuidad, su papel esencial en el crecimiento, su relativamente alta concentración en algunos tejidos (2 nmol/l en la piel) y su alta concentración en el semen (10 mmol/l), un fluido que contiene alrededor de 10 mmol/l de fructosa (un muy agresivo agente glicosilante) (12).

Se ha demostrado que las poliaminas inhiben la glicosilación ya que se ha podido comprobar que la espermina inhibe el avance de la glicosilación en histonas y en la ubiquitina, y que inhibe la glicosilación inducida experimentalmente por el metilglioxal. Además, se ha visto que la espermina, la espermidina, la carnosina y la aminoguanidina actúan como inhibidores de los AGEs (12).

Estos efectos han sido demostrados a las concentraciones fisiológicas *in vitro*. Otros argumentos que apoyan esta hipótesis son: la alta concentración de espermina en el núcleo, lo que permite proteger al ADN y a las histonas, la inducción de la ornitina descarboxilasa por la radiación UVB y el estrés oxidativo, y la disminución de los niveles de poliaminas y el aumento de la glicosilación con la edad (12).

Funciones específicas de la agmatina

Debido a sus peculiaridades la agmatina tiene funciones diferentes al resto de poliaminas (11): actúa como un secretagogo, modulando la liberación de insulina y el metabolismo de la glucosa. Estimula la liberación de insulina en función de la dosis. Además, se ha visto que, *in vitro*, estimula la secreción de adrenalina y noradrenalina en el sistema nervioso central estimula la liberación de la hormona liberadora de hormona luteinizante. Además, en función de la dosis, incrementa el efecto analgésico de la morfina. Se une al receptor α -2 adrenérgico, al receptor de imidazolina y al receptor NMDA, y activa la óxido nítrico sintasa de células endoteliales. La agmatina juega un importante papel en la homeostasis de las poliaminas por inhibición de la ornitina descarboxilasa e incremento de la actividad y la síntesis de la espermidina/espermina acetil transferasa.

Poliaminas y cáncer

Desde los años 50 se conoce la relación entre la enfermedad de cáncer y las poliaminas, estando bien demostrado que la

putrescina se acumula en hematomas de rápido desarrollo, y que la tasa de crecimiento depende de la relación entre las concentraciones de espermidina y espermina. Oncogenes como ras, jun y fos inducen la transformación de células normales a células tumorales por una vía relacionada con la biosíntesis de poliaminas (23). Debido a esto muchos investigadores han tratado de buscar en las poliaminas un marcador temprano de la enfermedad.

Se ha demostrado un incremento en tejido tumoral tanto de la actividad enzimática de la ornitina descarboxilasa como de la expresión del ARNm de la ornitina descarboxilasa, incremento que está directamente correlacionado con el grado de malignidad del tumor. También cabe destacar la capacidad de las poliaminas para regular la expresión de protooncogenes. Tienen un interés especial los estudios que atribuyen un comportamiento protooncogénico al gen de la ornitina descarboxilasa, estando demostrado que una vez inducida su sobreexpresión, es capaz de provocar un desarrollo tumoral (2).

Se ha visto que entre el 70%-90% de los pacientes con cáncer excretan poliaminas conjugadas (acetilespermidina...) en la orina. El problema es que no se pueden usar como indicador, ya que algunas personas de manera normal o en determinados estados fisiológicos no patológico (como puede ser el caso de las embarazadas) excretan poliaminas en la orina, pudiendo aparecer entorno a un 20% de falsos positivos. Por otro lado, sí que podrían utilizarse como buenos marcadores para hacer el seguimiento de la enfermedad ya que los niveles de espermidina y espermina eritrocitaria aumentan conforme progresa el tumor. También serían un buen marcador en el caso de los cánceres recurrentes, ya que un aumento en los niveles de poliaminas se observa 1-6 meses antes de que aparezcan los primeros signos clínicos y radiológicos (23).

Respuesta al estrés mediada por poliaminas

La respuesta general al estrés se activa por la vía de los segundos mensajeros y responde al denominado stress program intracelular. En ella se observa, entre otras alteraciones metabólicas, el incremento transitorio del metabolismo de las poliaminas denominado por Gilard en 1992 como poliamyne-stress-response (PSR). Esta respuesta cerebral lleva implícita la persistente acumulación de putrescina y una eventual reducción de espermidina y espermina. Se ha postulado que una correcta regulación del metabolismo cerebral de las poliaminas es la mejor respuesta a los agentes estresantes. Situaciones de estrés durante los primeros periodos de vida alteran el normal desarrollo cerebral que posteriormente provocan alteraciones que afectan al sujeto adulto. Especial interés despierta la inhibición de la actividad cerebral de la ornitina descarboxilasa en respuesta al estrés que supone la separación maternal en el recién nacido (2).

Contenido en poliaminas de los alimentos

En muchas situaciones, en las cuales se requiere un crecimiento intensivo, los requerimientos de poliaminas podrían ser grandes, siendo necesaria una alta ingesta de poliaminas en la dieta. Por tanto, es importante establecer los niveles de estos compuestos en los alimentos y sus requerimientos dietéticos, para así, poder definir dietas restrictivas o ricas en poliaminas cuando se requiera.

Las poliaminas se encuentran en los alimentos en dos formas: libres y conjugadas. Mayoritariamente se encuentran conjugadas en alimentos de origen vegetal, principalmente unidas a compuestos fenólicos, y pueden ser hidrolizadas con un ácido fuerte. Hasta ahora, en la mayoría de artículos publicados no se diferencia entre las diferentes formas de las poliaminas (8, 24).

Durante el procesado de los alimentos se pueden dar cambios en el contenido de las diferentes poliaminas. Así, el contenido en poliaminas aumenta durante los procesos fermentativos o la maduración (24).

Se han observado cambios en las poliaminas durante el almacenamiento de productos frescos a 5°C. En ellos, aumenta el contenido en putrescina durante este periodo de 3 a 8 veces, de forma paralela al aumento de los recuentos de microorganismos aeróbicos; las otras poliaminas no cambian significativamente, aunque algunos autores citan disminuciones en los niveles de espermina a partir de los 36 días de almacenamiento. En cuanto al tratamiento térmico no debería variar el contenido en poliaminas, aunque se ha visto que en el tostado del café se da una completa pérdida de la putrescina y la espermidina, y se observa una considerable disminución del contenido en espermina (8), quizás no debido al tratamiento térmico en sí, si no a que se vean favorecidas determinadas reacciones enzimáticas de degradación.

El contenido en poliaminas en los alimentos es muy variado, siendo los alimentos con mayores niveles de poliaminas el germen de trigo, arroz integral, arroz salvaje, mango filipino, pimienta verde, calabaza japonesa, nueces, encurtidos fermentados y quesos, eperlano de charca, buccino, huevas de salmón saladas, anguila, la carne, granos de soja fermentados o no, champiñones, té verde y las naranjas (14).

Como se mencionó previamente, el contenido en las diferentes poliaminas varía de acuerdo al tipo de alimento; de forma general, en alimentos vegetales el contenido en espermidina es mayor que el de espermina. En alimentos de origen animal la relación espermidina/espermina es la contraria, siendo mayor la cantidad de espermina. (8). Las setas contienen gran cantidad de espermidina, las naranjas más cantidad de putrescina y las hojas de té contienen de las tres poliaminas en gran cantidad. La carne roja contiene mayoritariamente espermina. La leche y los huevos contienen proporcionalmente menos cantidades. La predominante en la leche es la espermidina mientras que los derivados como el

queso o provenientes de la fermentación microbiana contienen mayor cantidad de putrescina y espermidina. El vinagre y varias clases de bebida alcohólicas contienen también cantidades elevadas. El sake contiene bastante agmatina que proviene de la descarboxilación de la arginina que, seguramente, se produce en el proceso de fermentación por las bacterias acidolácticas o reductoras del ácido nítrico (2).

Importancia dietética de las poliaminas

Como se ha visto, las poliaminas son esenciales para el metabolismo celular, el crecimiento y la renovación de tejidos. Este requerimiento, como es lógico, está incrementado en tejidos con una alta tasa de crecimiento. Aunque las células pueden sintetizar poliaminas, la dieta parece ser una fuente esencial, porque al igual que en el caso de ciertos aminoácidos semiesenciales, la capacidad de síntesis de las células o los órganos no es suficiente para satisfacer los requerimientos totales (3).

Con respecto a la ingesta de poliaminas, hay dos hechos que acontecen en nuestro país: hay pocos estudios de composición de poliaminas en los alimentos y sólo se han realizado para quesos, carnes, embutidos y algunos vinos mediante técnicas de cuantificación por HPLC; y no hay datos sobre su consumo poblacional (9). Se asume que la dieta occidental suple cantidades del orden de cientos de nanomoles de poliaminas diarias. Así el aporte de poliaminas en el Reino Unido se considera del orden de 388 nmol/día repartido del siguiente modo: 57% de putrescina, 26% de espermidina y 18% de espermina. (2).

Los requerimientos de poliaminas son altos en las etapas de crecimiento intenso, por lo que las cantidades suplidas en la dieta juegan un papel importante en la infancia y adolescencia. En los adultos sanos los requerimientos son inferiores ya que sólo se necesitan para el reemplazamiento celular o bien como mediadores de la respuesta hormonal o de factores de crecimiento (2,19).

Dietas deficientes en poliaminas producen en roedores pérdida de peso, infertilidad en hembras, pancreatitis y deterioro del aprendizaje espacial; mientras que dietas ricas en poliaminas se correlacionan con la prevención de la aparición de alergias alimentarias, prevención de las úlceras gástricas y estimulación de la maduración intestinal. Se han demostrado también los efectos antitumorales de los inhibidores de la síntesis de poliaminas (14).

El cálculo de los niveles de poliaminas en los alimentos podría facilitar el cálculo de la ingesta dietética, siendo esencial a la hora de diseñar dietas ricas o pobres en poliaminas.

Por otro lado, durante el envejecimiento se ha visto que la inducción hormonal y la actividad de la ornitina descarboxilasa disminuyen, disminuyendo la biosíntesis de poliaminas. Esta disminución se ha comprobado, no sólo en roedores sino también en suero y orina de humanos saludables (12). A causa

de la disminución de la actividad de la ornitina descarboxilasa se produce una disminución de la proliferación y del recambio tisular, por lo que el aporte exógeno de poliaminas podría tener un papel importante en las últimas etapas de la vida (2). Estudios realizados con ratas ponen de manifiesto que la disminución en la concentración de poliaminas con la edad no afecta a todos los órganos por igual. El nivel de poliaminas en útero, cerebro y páncreas se mantiene constante; disminuye un poco en el intestino y disminuye significativamente en timo, bazo, ovarios, hígado, estómago, pulmón, riñón, corazón y músculo. El tejido en el que más disminuyen los niveles de poliaminas es el músculo, seguido de riñón, hígado, bazo y timo. Por tanto, para mantener un nivel de poliaminas óptimo es importante ingerir una cantidad suficiente con la dieta, especialmente en personas mayores (14).

Dietas con un alto contenido en poliaminas pueden jugar un papel importante en la recuperación de la microflora y la mucosa intestinal, y la administración de espermina puede mejorar el tratamiento de los traumatismos (5). Como ya hemos señalado antes, la espermidina y la espermina protegen del daño estructural y funcional causado por los productos de glicosilación avanzada en muchas patologías. En experimentos con ratas, unas reservas hepáticas bajas de espermidina y espermina impiden que se inicie el proceso de regeneración tras una hepatectomía parcial. Un incremento en la ingesta dietética de poliaminas parece tener efectos favorables durante el postoperatorio o durante la curación de heridas (8).

Organos como el tracto gastrointestinal, páncreas y bazo, los cuales tienen una alta tasa de renovación celular, son especialmente dependientes de las poliaminas de la dieta. Además, factores antinutritivos, factores que incrementan la actividad metabólica del estómago por dañar los tejidos (saponinas, taninos...), factores que mimetizan la acción de las hormonas o factores de crecimiento (algunas lectinas), o factores que interfieren con la digestión (como los inhibidores de las enzimas digestivas) van a incrementar la demanda de poliaminas (3).

Por otro lado, se ha visto que altas concentraciones de poliaminas en la dieta pueden incrementar la proliferación de células cancerosas en tumores ya existentes. En estos casos, la combinación de tratamientos farmacológicos con α -difluorometil ornitina (un inhibidor de la ODC), neomicina y dietas con un bajo contenido en poliaminas podría ser crucial en la reducción del crecimiento tumoral (5). Por el contrario, recientemente ha sido demostrado el efecto antiproliferativo de la agmatina en células tumorales. Esto no es debido a la inducción de necrosis celular o apoptosis, sino mediante la inhibición de la síntesis de poliaminas y el transporte por la inducción de la antizyma (11).

A pesar de los efectos beneficiosos de las poliaminas presentes en la dieta es importante tener en cuenta que las poliaminas son precursores potenciales de nitrosaminas,

compuestos con acción carcinogénica, al reaccionar con nitritos; y que la putrescina puede potenciar los efectos tóxicos de las aminas biógenas porque interfiere con las enzimas que las metabolizan, inhibiendo o compitiendo a nivel de la monoamino oxidasa, diamino oxidasa e hidroximetil transferasa (24, 25).

Poliaminas en la alimentación infantil

Después del periodo de vida intrauterino y por falta de maduración, el recién nacido tiene ciertas funciones biológicas y digestivas limitadas que progresivamente irá desarrollando.

La maduración intestinal ocurre entre la lactancia y el destete, sufriendo el epitelio intestinal de mamíferos cambios como: incremento en la producción de mucus, adaptación inmunológica a nuevos agentes microbianos y nutritivos, adaptación digestiva a nuevos nutrientes, producción de las enzimas necesarias para poder afrontar la alimentación adulta (26).

La naturaleza de las señales que regula la maduración del intestino delgado no es del todo conocida, pero se cree controlada por factores: hormonales, de crecimiento y nutricionales (26).

Está demostrado que las poliaminas son factores de maduración para el intestino delgado y desempeñan funciones relacionadas con la diferenciación celular y la proliferación.

Varios estudios demuestran considerables variaciones individuales en la concentración de poliaminas en la leche humana (Tabla 1). Más allá de las variaciones interespecíficas e individuales, han sido establecidos factores que influyen sobre la concentración de poliaminas, como: factores genéticos, fase de la lactancia, duración de la lactación y cantidad de leche en la glándula mamaria, factores ambientales, estado nutricional y dieta ingerida (sobre todo la ingesta de poliaminas), edad de la madre, origen étnico, ritmo circadiano de la secreción de poliaminas y contaminaciones bacterianas entre otros (7, 17).

TABLA 1
Contenido en poliaminas (en ppm) de la leche humana

Referencia	Putrescina	Espermidina	Espermina
(19)	0,029	0,330	0,560
(28)	0,113	1,030	1,340
(20)	0,021	0,310	0,640

De todos estos factores, uno muy importante es la fase de lactancia. Está comprobado que la leche humana y de rata contiene más espermidina y espermina al final que al principio de la lactación, siendo estables los niveles de putrescina a lo largo de todo el periodo (26). Otros autores han observado que la concentración de poliaminas en la leche humana

aumenta durante las primeras semanas tras el parto, alcanzando un máximo después de la primera o segunda semana y declinando progresivamente después (7).

Como ya hemos visto, debido a su alta tasa de proliferación, la mucosa intestinal tiene una alta demanda de poliaminas. Además, la maduración del intestino delgado es un proceso sensible a la nutrición, siendo necesarios una transición consecutiva de diferentes concentraciones de las distintas poliaminas (y de otros factores de la leche) para la completa maduración. La administración oral de espermidina y espermina exógenas tiene como consecuencia una marcada aceleración de la maduración y proliferación de la mucosa (7). Se ha visto que en ratas lactantes producen un incremento de todos los parámetros de crecimiento de la mucosa, inducen prematuramente un patrón adulto de las enzimas de la mucosa (lactasa, sacarasa, maltasa y aminopeptidasa) e incrementan la concentración de inmunoglobulinas en las vellosidades y en las criptas (18)

En la zona apical del enterocito, en las membranas de las microvellosidades, aparecen muchas glicoproteínas que están implicadas en la digestión, el transporte, la detoxificación o en procesos infecciosos. La estructura de las cadenas de glicanos juega un papel importante a la hora de la integración de las proteínas en la membrana, pero el efecto de la estructura del glicano sobre la actividad biológica de la proteína es totalmente desconocido. Se ha visto que en el intestino de ratas lactantes se encuentra una forma activa de la enzima lactasa, mientras que en adultos aparece una forma inactiva en la membrana intracelular con un alto contenido en manosa y mucosa. El tratamiento de ratas lactantes con tiroxina (factor hormonal que regula la maduración) induce la precoz aparición de la forma inactiva fucosilada (26). La forma activa de la lactasa está sialilada mientras que la forma inactiva está fucosilada. La estructura de la cadena de glicano tanto en la lactasa como en la sacarasa podría ser responsable de su integración en la membrana apical del enterocito (27).

La espermidina y la espermina son factores de maduración para muchas glicoproteínas de la membrana del borde en cepillo, tanto en términos de glicosilación como de actividad enzimática. Por tanto, cambios postnatales en la fucosilación de glicoproteínas intestinales podrían ser, al menos parcialmente, consecuencia de un aumento en la ingesta de poliaminas (especialmente espermidina y espermina) durante el periodo de destete (27). Aunque se desconoce en humanos, los cambios en la glicosilación de proteínas parecen ser similares a los de roedores y cerdos, siendo particularmente marcados los cambios en el periodo de destete, un periodo clave para la aparición de las funciones intestinales del adulto (26).

Debido a las variaciones paralelas entre el aumento en los niveles de espermidina y espermina y la galactosilación y la fucosilación de glicoproteínas, es necesario tener en cuenta el

papel de las poliaminas en el proceso de maduración intestinal. A parte de los probables efectos directos, las poliaminas podrían también estimular indirectamente la secreción de hormonas o de otros efectores secundarios. Así, la actividad glicosiltransferasa en ratas lactantes es sensible a los glucocorticoides, y se ha sugerido que la espermina puede afectar a la secreción de ACTH (hormona adrenocorticotropa) y corticosterona por la estimulación de la liberación de hormonas esteroideas o a través de mecanismos dependientes de citoquinas. La liberación de corticosteroides va a producir un aumento en la actividad fucosiltransferasa y en la incorporación de fucosa en las membranas de la microvellosidades, lo que va a aumentar la fucosilación de proteínas (26).

Aunque estos estudios se han llevado a cabo en roedores, el papel de las poliaminas de la leche humana en la maduración intestinal de bebés debe tenerse en cuenta, más aún cuando en las fórmulas infantiles en polvo la concentración de poliaminas es aproximadamente 10 veces menor que en la leche humana (26), tal y como se muestra en la Tabla 2.

TABLA 2

Rango en el que oscila el contenido en poliaminas (en ppm) de las formulas infantiles

Referencia	Putrescina	Espermidina	Espermina
(19)	0-0,095	0-0,363	0-0,149
(20)	0-0,027	0-0,091	0-0,164

Por otro lado se ha demostrado que la ingesta insuficiente de poliaminas induce sensibilización a los alérgenos de la dieta. La probabilidad de desarrollar una alergia puede alcanzar el 80% si el contenido medio de espermina es inferior a 0,4 mg/l y prácticamente no existe si el contenido medio de espermina supera los 2,6 mg/l. La espermina incrementa la proliferación y la diferenciación de linfocitos aislados de niños (8), por lo que sería muy importante tener estos datos en cuenta a la hora de elaborar dichas fórmulas y asegurar una correcta alimentación durante la etapa de lactancia.

Se ha demostrado también, que la administración oral de espermina y espermidina en ratas prematuras aumenta la maduración intestinal, con cambios en la expresión enzimática y en los componentes secretados (como la IgA). El efecto es dependiente de la dosis y específico (ya que la administración de ornitina y arginina no tiene el mismo efecto). El problema es que en estos estudios la dosis administrada era mucho mayor que la que las ratas ingieren por la leche materna. Aun así, asumiendo que los recién nacidos consumen unos 600-700 ml de leche al día (unos 3,5 μ mol de poliaminas), el contenido en poliaminas podría, teóricamente, tener un efecto bioactivo (29). También se ha visto que la espermidina y la espermina

presentes en la leche materna disminuyen la permeabilidad intestinal a macromoléculas y quizás sea este el mecanismo por el que reducen la frecuencia de alergias alimentarias en niños (18).

CONCLUSIONES

En vista de todo lo dicho anteriormente, sería recomendable hacer algún estudio con el fin de establecer cual es el rango en el que oscila el contenido en poliaminas en las fórmulas infantiles a día de hoy, ya que los datos que están disponibles en la bibliografía son de hace más de quince años, pudiendo haber cambiado desde entonces las técnicas de elaboración de dichas fórmulas y, por tanto, el contenido en poliaminas.

Aunque no se han establecido recomendaciones en cuanto al nivel de poliaminas en la alimentación infantil, es importante conseguir que el aporte de poliaminas en las fórmulas infantiles sea lo más parecido posible al de la leche materna, ya que, como hemos visto, se han demostrado tanto los beneficios que tiene un adecuado aporte como los inconvenientes que podrían derivar de su carencia.

En este sentido, y en relación a la variabilidad encontrada en cuanto al contenido en poliaminas de la leche materna, sería recomendable hacer un estudio dentro de la población española, para poder comparar con los resultados que sí han sido publicados en otros países.

AGRADECIMIENTOS

A la Fundación Séneca, Agencia Regional de Ciencia y Tecnología, por la beca concedida a Carlos Gómez Gallego para la realización de la tesis doctoral en la que queda recogida la presente revisión bibliográfica.

REFERENCIAS

- Morrys D and Harada JJ. The participation of polyamines in the proliferation of bacterial and animal cells. *Polyamines in Biomedical Research*, Gaugas, J. M. (ed.), Wiley, New York, 1988, p 1-16.
- Farriol M, Segovia-Silvestre T, Venereo Y, Orta X. Importancia de las poliaminas: revisión de la literatura. *Nutr Hosp* 1999; 14: 101-113.
- Bardocz S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends Food Sci Tech* 1995; 61, 341-346.
- Reynoso Orozco R, Delgado Saucedo JL, Puebla Pérez AM, Calvo Méndez C, Arteaga Nieto P, Santerre A. *Biología celular y molecular de las poliaminas: monografía de los conocimientos básicos*. Scientia-CUCBA 2005; 7 (2): 161-170.
- Larqué E, Sabater-Molina M, and Zamora S. Biological significance of dietary polyamines. *Nutrition* 2007; 23, 87-95.
- Wallace HM, Fraser AV and Hughes A. A perspective of polyamine metabolism. *Biochem J* 2003; 376, 1-14.
- Löser C. Polyamines in human and animal milk. *Br J Nut* 2000, 84, Suppl. 1, S55-S58.
- Kalac P, Krausova P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chem* 2005; 90:219-230.
- Farriol M, Venereo Y, Orta X, Company C, Gómez P, Delgado G, and Rodríguez R. Ingesta de antioxidantes y poliaminas en pacientes con quemaduras graves. *Nutr Hosp* 2004; 19: 300-304.
- Dandriofosse G, Peulen O, El Kheffif N, Deloyer P, Dandriofosse AC, and Grandfils C. Are milk polyamines preventive agents against food allergy. *Proc Nutr Soc* 2000; 59:81-6.
- Moinard C, Cynober L, De Bandt JP. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clinical Nut* 2005; 24, 184-197.
- Gugliucci A. and Menini T. The polyamines spermine and spermidine protect proteins from structural and functional damage by AGE precursors: a new role for old molecules? *Life Sci* 2003;72/23:2603-2616.
- Nishimura K, Murozumi K, Shirahata A, Park MH, Kashiwagi K and Igarashi K. Independent roles of eIF5A and polyamines in cell proliferation. *Biochem J* 2005; 385, 779-785.
- Nishimura K, Shiina R, Kashiwagi K and Igarashi K. Decrease in polyamines with aging and their ingestion from food and drink. *J Biochem* 2006; 139, 81-90.
- Coffino P. Regulation of cellular polyamines by antizyme. *Nature Reviews, Mol Cell Biol* 2001; 2, 188- 194.
- Casal S, Oliveira MBPP and Ferreira MA. Determination of biogenic amines in coffee by an optimized liquid chromatographic method. *J Liq Chromatogr & Rel Technol* 2002; 25 (16), 2535- 2549.
- Baró L, Jiménez J, Martínez-Férez A, Boza JJ. Bioactive compounds derived from human milk. *Ars Pharmaceutic* 2001; 42:1, 21-38.
- Motyl T, Ptoszaj T, Wojtasik A, Kukulska W and Podgurniak M. Polyamines in cow's and sow's milk. *Comp Biochem Physiol*. 1995; 111, 427-133.
- Pollack PF, Koldousky O, Nishioka F. Polyamines in human and rat milk and in infant formulas. *Am J Clin Nutr* 1992; 56:371-375.
- Buts JP, Dekeyser N, Deraedemaeker L, Collete E, Sokal EM. Polyamine profiles in human-milk, infant artificial formulas, and semielemental diets. *J Ped Gast Nut* 1995; 21 (1): 44-49.
- Lavizzari T, Veciana-Nogues MT, Bover-Cid S, Marine-Font A, Vidal-Carou MC. Improved method for the determination of biogenic amines and polyamines in vegetable products by ion-pair high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 2006; 1129: 67-72.
- Gaboriau F, Vaultier M, Moulinoux JP, Delcros JG. Antioxidative properties of natural polyamines and dimethylsilane analogues. *Redox Rep* 2005; 1: 9-18.
- Bachrach U. Polyamines and cancer: Minireview article. *Amino Acids* 2004; 26; 307-309.
- Novella-Rodríguez S, Veciana-Nogués MT, Izquierdo-Pulido M and Vidal Carou MC. Distribution of Biogenic Amines and Polyamines in Cheese. *J Food Sci* 2003; 68: 750-755.
- Soufleros EH, Bouloumpasi E, Zotou A, Loukou Z. Determination of biogenic amines in Greek wines by HPLC

- and ultraviolet detection after dansylation and examination of factors affecting their presence and concentration. *Food Chem* 2007; 101, 704–716.
26. Biol-N'garagba MC and Louisot P. Regulation of the intestinal glycoprotein glycosylation during postnatal development: role of hormonal and nutritional factors. *Biochimie* 2003; 85, 331-352.
27. Biol-N'garagba MC, Greco S, George P, Hugueny I and Louisot P. Polyamine participation in the maturation of glycoprotein fucosylation, but not sialylation, in rat small intestine. *Ped Res* 2002; 51, 625- 634.
28. Romain N, Dandrifosse G, Jeuselte F, Forget G. Polyamine concentration in rat milk and food, human milk and infant formulae. *Ped Res* 1992; 32: 58-63.
29. Buts JP, De Keyser N, De Raedemaeker L. *Saccharomyces boulardii* enhances rat intestinal enzyme expression by endoluminal release of polyamines. *Ped Res* 1994; 36:522-527.

Recibido: 06-01-2008

Aceptado: 15-04-2008

Las dietas cetogénicas: fundamentos y eficacia para la pérdida de peso

Joaquín Pérez-Guisado

Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba. Córdoba. España

RESUMEN. El consenso internacional es que los carbohidratos son la base de la pirámide alimenticia de una dieta saludable, de tal forma que la mayoría de los especialistas de hoy en día piensan que la mejor forma de perder peso es mediante una reducción en el número total de calorías ingeridas diariamente, principalmente las que vienen en forma de grasa. No obstante, esta revisión intentará demostrar que las dietas cetogénicas son desde un punto de vista fisiológico, bioquímico y práctico, un camino mucho más efectivo para perder peso. Además se argumenta cómo este tipo de dietas proporciona ventajas metabólicas como son la capacidad de preservar la masa muscular, reducir el apetito, tener una eficiencia metabólica más baja, producir una activación de la termogénesis y favorecer una mayor pérdida de grasa incluso en presencia de una mayor cantidad de calorías.

Palabras clave: Adelgazar, Atkins, dietas altas en proteínas, dietas bajas en carbohidratos, cetosis, glucolítico, lipolítico, obesidad.

Fundamentos fisiológicos y bioquímicos de las dietas cetogénicas

Cuando una dieta tiene un predominio de carbohidratos, el cuerpo los utiliza como la principal fuente de energía en lugar de la grasa. Por el contrario, la ausencia de carbohidratos en la dieta acelera el uso de la grasa. Esto es debido a que la insulina bloquea la lipólisis (mediante un bloqueo de la lipasa del adipocito) y permite la entrada de glucosa al interior de la célula grasa. Esta glucosa es convertida en triglicéridos dentro del adipocito, a través de su transformación en acetil-CoA y alfa-glicerofosfato (las moléculas de Acetil-CoA se combinan entre sí para formar ácidos grasos y dos moléculas de estos ácidos grasos se unen a una de glicerol a través de la diacilglicerol transferasa (DAGT) para formar la molécula de triglicérido). Además, los ácidos grasos procedentes de la grasa de la dieta, necesitan la acción de la glucosa y de la insulina para ser transformados en triglicéridos dentro de la célula grasa, ya que la insulina permite la entrada de glucosa en el adipocito y la glucosa es necesaria para la formación de alfa-glicerofosfato, que es el principal suministro de glicerol a los ácidos grasos para que éstos puedan transformarse en triglicéridos y así ser almacenados (1). El último paso en la síntesis de triglicéridos es por lo tanto la unión de glicerol a los ácidos grasos, una reacción que es catalizada por la

SUMMARY. Ketogenic diets and weight loss: basis and effectiveness. The international consensus is that carbohydrates are the basis of the food pyramid of a healthy diet. Today's specialists believe that the best way to lose weight is by cutting down on calories, essentially in the form of fat. However, this paper will clarify that ketogenic diets are, from a physiological, biochemical and practical point of view, a much more effective way of losing weight, since such diets provide metabolic advantages such as the capacity to preserve muscle mass, reduce appetite, to have a lower metabolic efficiency, produce a metabolic activation of thermogenesis and favour a greater fat loss even with a greater number of calories.

Keywords: Atkins, high protein diets, low carbohydrate diets, ketosis, glycolytic, lipolytic, obesity, weight loss.

diacilglicerol transferasa (DAGT). Si por alguna razón este último paso no se produce, ya sea debido a una deficiencia de glucosa e insulina que asegure el suministro de glicerol o por un fallo en la propia encima DAGT, sería lógico asumir que se producirá una interrupción en la síntesis de triglicéridos. Esto ha sido demostrado en ratones con una deficiencia homocigótica de DAGT, que se caracterizaban por tener menor tejido graso blanco y ser resistentes al desarrollo de la obesidad dietética (2). Por lo tanto, los niveles bajos de insulina en una dieta cetogénica deberían de producir efectos similares, lo cual sería una de las posibles explicaciones, como veremos más adelante, del mayor éxito de estas dietas en la pérdida de peso. También es importante considerar que la glucosa no es la única sustancia que induce la liberación de insulina, ya que este proceso también es estimulado por ciertos aminoácidos como son la arginina y la lisina; hormonas gastrointestinales que se producen durante la ingesta como la gastrina, secretina, colecistoquinina (CCK) y polipéptido inhibidor gástrico (PIG). Además, cuando los aminoácidos se combinan con la glucosa, se produce un efecto sinérgico en el mecanismo de liberación de la insulina que puede provocar que ésta se doble a igual concentración de glucosa (1), es decir, la glucosa acompañada de aminoácidos induce una mayor liberación de insulina que sólo.

Efecto saciante-anorexígeno de las dietas cetogénicas

Otro aspecto importante a tener en cuenta es el efecto saciante de las dietas cetogénicas, debido a que las grasas y las proteínas permanecen en el estómago durante un mayor período de tiempo y por lo tanto son capaces de prolongar la sensación de saciedad si se comparan con los carbohidratos. Además, la colecistoquinina se considera como uno de los más potentes supresores del apetito y esta hormona es estimulada por el consumo de grasas y proteínas pero no por el de carbohidratos (3). En este efecto saciante también intervienen el beta-hidroxibutirato, que es la cetona más abundante y tiene capacidad para inhibir directamente el centro del apetito (4). También, el bajo índice glucémico de las dietas cetogénicas reduce las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas de glucosa, que son mucho más frecuentes con las dietas altas en carbohidratos. Así, evitar episodios de hipoglucemia también reducirá el apetito (5). Otro factor que hay que añadir, es que las proteínas tienen un efecto anorexígeno superior al de los carbohidratos, que pudiera estar mediado por aumento en la sensibilidad del sistema nervioso central hacia la leptina (6) y un descenso en las concentraciones plasmáticas postprandiales de ghrelina (7). La leptina es producida por el tejido adiposo y tiene la capacidad de reducir el apetito a nivel de sistema nervioso central. No obstante, la gente obesa suele tener niveles circulantes de leptina superiores a los normales, debido a que se produce una resistencia a la acción de la misma, que sería algo similar a lo que sucede con la insulina. En relación a la ghrelina, es una hormona producida por las células de la pared gástrica y tiene un efecto contrario al de la leptina, ya que estimula el apetito.

Los carbohidratos podrían contribuir a la obesidad

Teniendo en cuenta todos estos conceptos fisiológicos, sería lógico lanzar la hipótesis de que los carbohidratos solos y en grandes cantidades pueden favorecer la obesidad, de tal forma que una dieta convencional sustentada en los carbohidratos (50-70% de la contribución energética diaria total) que sobrepase las necesidades calóricas diarias de una persona podría tener una mayor facilidad para inducir la obesidad que una dieta baja en carbohidratos; cuando son consumidos junto a las proteínas, los carbohidratos tienen la capacidad de multiplicar su efecto inductor de la obesidad; cuando se consumen con la grasa, los carbohidratos permiten la acumulación de ésta; y finalmente los carbohidratos tienen un menor efecto saciante que los lípidos y las proteínas. Por lo tanto, una dieta sustentada en las proteínas y/o grasas podría ser una buena opción para la pérdida de peso, ya que así se alcanzarían niveles de insulina bajos en sangre que permitiría un cambio metabólico a favor de la utilización de la grasa en lugar de la de los carbohidratos, es decir, pasar de un metabolismo fundamentalmente glucolítico a un metabolismo lipolítico que ataque directamente los depósitos de grasa.

La activación del metabolismo lipolítico desencadena la aparición de cuerpos cetónicos en sangre, que es una respuesta natural al ayuno, ejercicio prolongado y dietas ricas en grasas (8). Por esta razón, desde un punto de vista fisiológico las estrategias para perder peso que se fundamentan en la reducción de la ingesta de grasa y en el mantenimiento de la proporción de carbohidratos como fuente principal de energía, podrían ser menos eficaces para la pérdida de peso y sólo actuarían a través de una simple restricción calórica y no por un cambio metabólico (de glucolítico a lipolítico). Esta menor eficacia sería debida a que la insulina presente en las dietas fundamentadas en los carbohidratos tiene un efecto antilipolítico (1) que seguirá presente aún cuando se trate de una dieta hipocalórica y que por tanto obstaculizará el paso hacia un metabolismo lipolítico, que como veremos más adelante se caracteriza por su menor eficiencia metabólica, hecho que a igual número de calorías favorecerá una mayor pérdida de peso.

Niveles óptimos de carbohidratos en la dieta cetogénica

El cambio metabólico se logra cuando el contenido de carbohidratos de la dieta es lo suficientemente bajo como para causar cetosis (de ahí el nombre de dietas cetogénicas o muy bajas en carbohidratos). En cuanto al nivel de carbohidratos que debe de tener una dieta para considerarse cetogénica, hay que hacer puntualizaciones, ya que esto dependerá del fin de dicha dieta. Si una dieta cetogénica es utilizada para perder peso, la cantidad de carbohidratos ingerida deberá de ser inferior a 0.2-0.4g/kg de peso y día, pudiéndose consumir grasas y proteínas sin restricción alguna. Por el contrario, cuando la dieta cetogénica se utiliza para el tratamiento de la epilepsia en niños, esta dieta debe de ser mucho más restrictiva para poderse conseguir una cetosis mucho más fuerte, de tal forma que el contenido en carbohidratos debe de ser muy bajo: inferior a 10 g al día. Además, esta dieta cetogénica es también baja en proteínas y muy alta en grasas de tal forma que la relación grasas-no grasas (proteínas+carbohidratos) es del orden de 4:1 (9-12).

A igualdad de calorías la dieta cetogénica es más eficiente en la pérdida de peso

El hecho de que a igual número de calorías, la dieta cetogénica sea más efectiva que una dieta baja en grasas (13-16), sólo puede ser explicado por la menor eficiencia metabólica de ésta. Esto es debido, a que desde un punto de vista fisiológico, existe una asociación entre los niveles plasmáticos y los niveles urinarios de cetonas (17) además de que la acetona se caracteriza por ser volátil y por tanto eliminarse en parte a través del aliento (1). Esto significaría una pérdida energética a través de la eliminación urinaria y del aliento de las cetonas. Además, si consideramos que las dietas cetogénicas no producen hipoglucemia, sino todo lo

contrario, ya que mejoran el perfil glucémico (17-21), deberíamos asumir que la gluconeogénesis tiene un papel prominente. En este proceso gluconeogénico también hay una importante pérdida energética, debido al hecho de que son necesarios 100 g de proteína de calidad media para formar sólo 57 g de glucosa (22), lo que supondría una pérdida energética de aproximadamente el 43%, si asumimos la equivalencia energética de que 1 g de glucosa aporta aproximadamente la misma energía que 1 g de proteína, es decir 4-5 Kcal/g. De hecho, se ha comprobado, que la rotura endógena de 110 g de proteína, que es necesaria para formar aproximadamente de 60 a 65 g de glucosa, supone una pérdida energética diaria de aproximadamente 400-600 kca/día (22). Además, durante la formación de un mol de glucosa a partir de la alanina, se pierden seis moles de ATP (23). Esta pérdida energética es muy significativa ya que un mol de glucosa da 38 de ATP (1) por lo que la pérdida de seis moles de ATP supondría una pérdida energética de casi el 16% en el proceso gluconeogénico procedente de la alanina, que es metabólicamente más fácil que para otros aminoácidos, debido a que tienen configuraciones químicas que dificultan dicho proceso (1). Por este motivo, una pérdida energética del 43% no debería de sorprendernos.

Esta menor eficiencia metabólica y el efecto anorexígeno de las proteínas podrían justificar que la ingesta proteica esté inversamente asociada a la obesidad abdominal en poblaciones multiétnicas, probablemente en esto influya la predisposición genética a desarrollar resistencia a la insulina, que como bien sabemos se asocia a la obesidad central y a las dietas altas en carbohidratos, mientras que mejora con las dietas ricas en proteínas (24). Junto a la menor eficiencia metabólica, debemos de enfatizar que la insulina es necesaria para la formación de triglicéridos y que las dietas altas en grasas incrementan la pérdida energética a través de la activación de la termogénesis, ya que se ha comprobado que la expresión de las proteínas desacoplantes o termogeninas (UCP), responsables del proceso de termogénesis, se incrementa con dietas ricas en grasas, pues tanto las grasas monoinsaturadas (25), polinsaturadas (26) como saturadas (27) intervienen en su inducción.

Todos estos argumentos explicarían por qué a igualdad de calorías las dietas cetogénicas son más efectivas que las dietas ricas en carbohidratos en la pérdida de peso.

Estudios que corroboran la efectividad de las dietas cetogénicas en la pérdida de peso

A igual número de calorías las dietas cetogénicas son más efectivas en la pérdida de peso que las dietas convencionales altas en carbohidratos y bajas en grasas, además de tener la ventaja añadida de ser más selectivas en las pérdida de grasa y la conservación de la masa muscular (13,28). Benoit y col. demostraron que cuando una dieta cetogénica de 1000 kcal al día (10 g de carbohidratos al día) era seguida durante 10 días,

los sujetos implicados perdían una media de 600 g de peso al día de la cual el 97% era grasa (28). Young y col. (13) compararon tres dietas con la misma cantidad de calorías (1800 kcal/día) pero con diferente proporción de carbohidratos (104 g, 60 g y 30 g respectivamente) y observaron una correlación negativa entre la proporción de carbohidratos en la dieta y la pérdida de peso y una correlación positiva con la pérdida de masa magra. De tal forma que la dieta más baja en carbohidratos era mejor a la hora de perder peso y de conservar la masa muscular. Willi y col. (29) también comprobaron en su estudio, que el uso de una dieta baja en carbohidratos en adolescentes con obesidad mórbida, era un método efectivo para la pérdida de peso y conservación de la masa muscular. Además en otro estudio con adolescentes, Sondike y col. (15) encontraron que una dieta baja en carbohidratos sin restricción calórica en grasas y proteínas era más efectiva en la pérdida de peso y mejora del perfil lipídico sanguíneo que el uso una dieta baja en grasas. Estos autores llegaron más lejos en sus declaraciones afirmando que en adolescentes que habían seguido una dieta baja en carbohidratos sin restricción calórica en grasas y proteínas, a pesar de consumir una media de más de 700 Kcal diarias que el grupo que siguió una dieta baja en grasas, la pérdida de peso fue de más del doble y la mejora en el nivel de triglicéridos más pronunciada (30). Estas afirmaciones también son compartidas por Greene y col. (14), que demostraron que a igual número de Kcal, e incluso incrementando el número de las mismas en 300 o más, las dietas bajas en carbohidratos conseguían una mayor pérdida de peso que las dietas bajas en grasas. Samaha y col. (31) realizaron un estudio de seis meses de duración en el que encontraron que las personas con obesidad mórbida y una alta prevalencia de diabetes tipo II o de síndrome metabólico, perdieron un mayor peso durante este periodo de tiempo en la dieta baja en carbohidratos que la dieta baja en calorías y grasas, con una mejora de la sensibilidad hacia la insulina y los niveles de triglicéridos, incluso después de haber ajustado a la cantidad de peso perdida que como ya sabemos es un factor que puede influir en los resultados. Por otro lado, Yancy y col. (32) concluyeron en otro estudio de seis meses de duración que la dieta baja en carbohidratos tenía un mayor porcentaje de adhesión y de éxito en la pérdida de peso si se comparaba con una dieta baja en grasa.

Estudios a largo plazo

La principal limitación que se le atribuyen a los estudios para la pérdida de peso realizados con dietas cetogénicas, es que son estudios que nunca superan los dos años de duración. Sin embargo, también deberíamos de tener en cuenta, que tampoco existen estudios rigurosos en la literatura científica, con dietas convencionales hipocalóricas de forma ininterrumpida que superen dicho periodo. Esto podría tener una explicación lógica, y es que generalmente, no suelen

haber pacientes que estén dispuestos a seguir ningún tipo de dieta de forma ininterrumpida durante un período de tiempo que vaya más allá de 1-2 años. Por lo que no se pueden hacer estudios serios con un número determinado de pacientes que se comprometan a seguir dicha dieta durante un periodo de tiempo tan largo. Esto, probablemente sea debido, a que generalmente en dicho periodo de tiempo, suelen perder el peso deseado o pierden la motivación necesaria para seguir con el mismo régimen alimenticio. Por este motivo, la estrategia seguida por muchos especialistas en nutrición, consiste en llegar a un determinado peso con una dieta más agresiva enfocada para la pérdida de peso, mantener dicho peso durante un determinado tiempo con una dieta de mantenimiento menos restrictiva y más amena, y si el paciente necesita perder más peso volver a introducir la dieta empleada al principio.

Como vimos anteriormente, en estudios de hasta seis meses de duración, las dietas cetogénicas son más efectivas que las dietas convencionales hipocalóricas altas en carbohidratos para la pérdida de peso, sin embargo, como veremos más adelante, cuando aumenta el tiempo de duración, la eficacia de estas dietas se reduce y se equipara a la de las dietas hipocalóricas convencionales. Lo que nunca llegaremos a saber es si esto es debido a la propia naturaleza de la dieta o al incumplimiento estricto de la misma por parte del paciente, hecho que podría ir en aumento a medida que aumenta la duración de dicha dieta. Foster y col. y Stern y col. (33,34) compararon las dietas cetogénicas bajas en carbohidratos frente a las dietas tradicionales (dietas bajas en calorías-grasas y ricas en carbohidratos) para la pérdida de peso durante un año. En ambos ensayos clínicos, la dieta baja en carbohidratos produjo una mayor pérdida de peso que las dietas convencionales durante los primeros seis meses, aunque las diferencias no fueron significativas al año de duración. En ambas dietas los autores afirmaron que la adherencia fue pobre, no obstante los participantes del grupo de las dietas bajas en carbohidratos tuvieron en conjunto unos resultados más favorables al año de duración que las dietas convencionales, ya que presentaron una mayor mejora en algunos factores de riesgo cardiovascular (mayores niveles de HDL y niveles más bajos de triglicéridos) (33,34) y en la mejora del control glucémico tras haber ajustado las diferencias a la pérdida de peso (34). En otro estudio, en el que Dansinger y col. (35) compararon cuatro tipos de dietas (cetogénica, de la zona, de los puntos y Ornish) observaron que tras un año de duración, la adherencia era en general pobre para los cuatro tipos de dieta, aunque las personas que tenían una mayor adherencia a cualquiera de los grupos tenían también una mayor mejora en la pérdida de peso y en los factores de riesgo cardiovascular. Brinkworth y col. (36) en un ensayo clínico en el que compararon dos grupos, uno tratado con una dieta estándar en proteínas y otro con una dieta alta en proteínas, declararon que en el mes 17 de

seguimiento, la adherencia era pobre en ambos grupos. Para finalizar, en otro estudio de 14 meses de duración realizado con pacientes diabéticos obesos, Dasthi y col. observaron que las personas que siguieron la dieta cetogénica tuvieron una mejora progresiva no solamente del peso, sino también en los niveles de glucosa, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, urea y creatinina (37).

Teniendo en cuenta todos estos estudios, el verdadero problema asociado a las dietas de larga duración, ya sean cetogénicas o no, es la baja adherencia debido a que la gente termina por aburrirse con los mismos patrones alimentarios, de tal forma que para conseguir una alta adherencia estas personas necesitan un gran esfuerzo personal. Considerando que la gente con obesidad morbida suele tener asociados problemas cardiovasculares, y que en los países industrializados hay mucha gente con sobrepeso que no llega al grado de obesidad morbida, por lo que sólo necesitarán perder peso durante un corto periodo de tiempo, las dietas bajas en carbohidratos podrían ser de elección en ambos casos gracias a las sustanciales ventajas que presentan frente a las dietas convencionales altas en carbohidratos.

En las personas con normo peso, las dietas bajas en carbohidratos también serían de utilidad porque mejorarán la composición corporal: reducirán la grasa e incrementarán la masa muscular (38). La conservación de la masa muscular asociada a este tipo de dietas parece estar relacionada con las cetonas, ya que se ha comprobado que éstas tienen la capacidad de reducir el catabolismo proteico en situaciones catabólicas como el ayuno (39).

Otra indudable ventaja que presentan las dietas cetogénicas sobre las tradicionales dietas hipocalóricas en los pacientes que las siguen, es la sensación de saciedad y pérdida del hambre que provocan (40,41), mejora en el estado de ánimo, en los niveles de energía, estado mental y físico (41), mientras que las dietas tradicionales hipocalóricas ricas en carbohidratos puede incluso incrementar el apetito (40,41) y se asocian a un empeoramiento tanto en el estado mental como físico (41).

¿Son seguras a largo plazo?

En contra de la opinión general, las dietas cetogénicas empleadas para la pérdida de peso son efectivas y seguras durante largos periodos de tiempo, así Westman y col. (42) afirmaron que las mujeres obesas que siguieron una dieta cetogénica pura sin restricción calórica en grasas y proteínas (carbohidratos <25 g/día) mantuvieron la pérdida de peso y mejoraron el perfil lipídico. Para periodos de un año, comparando una dieta cetogénica pura sin restricción calórica en grasas y proteínas (carbohidratos <30 g diarios) con una dieta hipocalórica convencional baja en grasas-calorías-alta en carbohidratos (<30% energía diaria de la grasa), la dieta cetogénica resultó ser más saludable ya que se asoció a una mayor mejora en factores de riesgo cardiovascular y en el

índice glucémico (34). En otros ensayos clínico de 14 meses de duración (37) con una dieta cetogénica pura sin restricción calórica (carbohidratos <30 g diarios) en pacientes obesos diabéticos se produjo una mejora progresiva no sólo en la pérdida de peso sino también en el perfil lipídico, renal y glucémico.

A pesar de estos estudios, hay científicos que siguen desconfiando de este tipo de dietas porque argumentan que no existen estudios de más de dos años de duración, por lo que el seguimiento de este tipo de dietas durante toda una vida podría acarrear consecuencias muy negativas en la salud de la persona. Frente a esta opinión merece la pena mencionar, que en la evolución de la dieta humana, el ser humano ha seguido a lo largo de la mayor parte de su evolución (aproximadamente 2 millones de años) una dieta cazadora-recolectora en la que los carbohidratos se consumían en muy bajas cantidades y sólo cuando la época del año lo permitía. Mientras que el paso a una alimentación sustentada en los carbohidratos, que actualmente se considera la alimentación "ideal" tiene una duración muy corta en el período evolutivo de nuestra especie (aproximadamente hace unos 6000 años, con la implantación de la agricultura y la ganadería). Este cambio alimenticio se asoció a la obesidad, los problemas cardiovasculares y las pérdidas dentarias, como lo demuestran los hallazgos arqueológicos encontrados en las momias del antiguo Egipto, civilización en la que se pudo constatar de forma muy significativa las consecuencias negativas de dicho cambio. Sin ir más lejos, muchas tribus actuales que seguían dietas cetogénicas y que han adoptado el sistema dietético fundamentado en los carbohidratos, como pueden ser los esquimales (dieta fundamentada en el pescado y mamíferos marinos como la foca), han experimentado un empeoramiento en marcadores plasmáticos aterogénicos y en el desarrollo de enfermedades que antes prácticamente no se conocían en estas poblaciones, como son la diabetes tipo II y la obesidad central (43). También podría influir en este empeoramiento de la salud, el menor contenido de ácidos grasos poliinsaturados que esta población experimentó como consecuencia de dicho cambio alimenticio.

REFERENCIAS

- Guyton AC, Hall JE. Fisiología Médica. 9th ed. Madrid, España: Interamericana McGraw-Hill; 1996: 927-952, 1063-1077.
- Smith S, Cases S, Jensen DR, Chen HC, Sande E, Tow B, et al. Obesity resistance and multiples mechanisms of triglyceride synthesis in mice lacking Ggta. *Nat Genet.* 2000; 25: 87-90.
- Fernández López JA, Remesar X, Alemany M. Tratado de Nutrición. 1^a ed. Madrid, España: Díaz de Santos; 1999: 265-75.
- Arase K, Fisler JS, Shargill NS, York DA, Bray GA. Intracerebroventricular infusions of 3-OHB and insulin in a rat model of dietary obesity. *Am J Physiol.* 1988; 255:R 974-81.
- Melanson KJ, Westerterp-Plantenga MS, Saris WH, Smith FJ, Campfield LA. Blood glucose patterns and appetite in time-blinded humans: carbohydrate versus fat. *Am J Physiol.* 1999; 277:R 337-45.
- Weigle DS, Breen PA, Matthys CC, Callahan HS, Meeuws KE, Burden VR, et al. A high-protein diet induces sustained reductions in appetite, ad libitum caloric intake, and body weight despite compensatory changes in diurnal plasma leptin and ghrelin concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82: 41-48.
- Blom WA, Lluich A, Stafleu A, et al. Effect of a high-protein breakfast on the postprandial ghrelin response *Am J Clin Nutr.* 2006; 83: 211-20.
- Mitchell GA, Kassovska-Bratinova S, Boukaftane Y, Robert MF, Wang SP, Ashmarina L, et al. Medical Aspects of Ketone Body Metabolism. *Clin Invest Med.* 1995; 18:193-216.
- Ballaban-Gil K, Callahan C, O'Dell C, Pappo M, Moshé S, Shinnar S. Complications of the ketogenic diet. *Epilepsia.* 1998; 39:744-48.
- Bergqvist CAG, Chee CM, Lutchka L, Rychik J, Stallings VA. Selenium deficiency associated with cardiomyopathy: a complication of the ketogenic diet. *Epilepsia.* 2003; 44: 618-20.
- Kang HC, Kim JY, Kim DW, Kim HD. Efficacy and safety of the ketogenic diet for intractable childhood epilepsy: Korean multicentric experience. *Epilepsia.* 2005; 46:272-79.
- Kossoff EH, McGrogan JR, Bluml RM, Pillas DJ, Rubenstein JE, Vining EP. A modified Atkins diet is effective for the treatment of intractable pediatric epilepsy. *Epilepsia.* 2006; 47:421-24.
- Young CM, Scanlan SS, Im HS, Lutwak L. Effect on Body Composition and Other Parameters in Obese Young Men of Carbohydrate Level of Reduction Diet. *Am J Clin Nutr.* 1971; 24: 290-96.
- Greene PJ, Devecis J, Willett WC. Effects of Low-Fat Vs Ultra-Low-Carbohydrate Weight-Loss Diets: A 12-Week Pilot Feeding Study. Abstract presented at Nutrition Week 2004, February 9-12, 2004, in Las Vegas, Nevada.
- Sondike SB, Copperman N, Jacobson MS. Effects of a Low-Carbohydrate Diet on Weight Loss and Cardiovascular Risk Factor in Overweight Adolescents. *J Pediatr.* 2003; 142: 253-58.
- Brehm BJ, Spang SE, Lattin BL, Seeley RJ, Daniels SR, D'Alessio DA. The Role of Energy Expenditure in the Differential Weight Loss in Obese Women on Low-Fat and Low-Carbohydrate Diets. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 1475-82.
- Coleman MD, Nickols-Richardson SM. Urinary Ketones Reflect Serum Ketone Concentration but Do Not Relate to Weight Loss in Overweight Premenopausal Women Following a Low-Carbohydrate/High-Protein Diet. *J Am Diet Assoc.* 2005; 105: 608-11.
- Nobels F, van Gaal L, de Leeuw I. Weight Reduction With a High Protein, Low Carbohydrate, Caloric Restricted Diet: Effects on Blood Pressure, Glucose and Insulin Levels. *The Netherlands Journal of Medicine.* 1989; 35: 295-302.
- Dashti HM, Bo-Abbas YY, Asfar SK, et al. Ketogenic Diet Modifies the Risk Factors of Heart Disease in Obese Patients. *Nutrition.* 2003; 19: 901-02.
- Bisschop PH, de Metz J, Ackermans MT, Endert E, Pijl H, Kuipers F, Meijer AJ, et al. Dietary Fat Content Alters Insulin-Mediated Glucose Metabolism in Healthy Men. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73: 554-59.

21. Volek JS, Sharman MJ, Gomez AL. Comparison of a Very Low-Carbohydrate and Low-Fat Diet on Fasting Lipids, LDL Subclasses, Insulin Resistance, and Postprandial Lipemic Responses in Overweight Women. *J Am Coll Nutr.* 2004; 23: 177-84.
22. Fine EJ, Feinman RD. Thermodynamic of weight loss diets. *Nutr Metab.* 2004; 1: 15.
23. Voet D, Voet JG, Pratt W. *Fundamentals of Biochemistry.* 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2004: 457-59.
24. Merchant AT, Anand SS, Vuksan V, Jacobs R, Davis B, Teo K, et al. Protein intake is inversely associated with abdominal obesity in a multi-ethnic population. *J Nutr.* 2005; 135: 1196-201.
25. Rodriguez VM, Portillo MP, Pico C, Macarulla MT, Palou A. Olive oil feeding up-regulates uncoupling protein genes in rat brown adipose tissue and skeletal muscle. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75:213-20.
26. Sadurskis A, Dicker A, Cannon B, Nedergaard J. Polyunsaturated fatty acids recruit brown adipose tissue: increased UCP content and NST capacity. *Am J Physiol.* 1995; 269:E351-360.
27. Portillo MP, Serra F, Simon E, del Barrio AS, Palou A. Energy restriction with high-fat diet enriched with coconut oil gives higher UCP1 and lower white fat in rats. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998; 22: 974-79.
28. Benoit FL, Martin RL, Watten RH. Changes in Body Composition During Weight Reduction in Obesity: Balance Studies Comparing Effects of Fasting and a Ketogenic Diet. *Ann Intern Med.* 1965; 63: 604-12.
29. Willi SM, Oexmann MJ, Wright NM, Collop NA, Lyndon L. The Effects of a High-protein, Low-fat, Ketogenic Diet on Adolescents With Morbid Obesity: Body Composition, Blood Chemistries, and Sleep Abnormalities. *Pediatrics.* 1998; 101: 61-67.
30. Sondike SB, Copperman NM, Jacobson MS. Low Carbohydrate Dieting Increases Weight Loss but not Cardiovascular Risk in Obese Adolescents: A Randomized Controlled Trial. *J Adolesc Health.* 2000; 26: 91.
31. Samaha FF, Iqbal N, Seshadri P, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, et al. A Low-Carbohydrate as Compared With a Low-Fat Diet in Severe Obesity. *N Engl J Med.* 2003; 348: 2074-81.
32. Yancy WS Jr, Olsen MK, Guyton JR, Bakst RP, Westman EC. A low-carbohydrate, ketogenic diet versus a low-fat diet to treat obesity and hyperlipidemia: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2004; 140: 769-77.
33. Foster GD, Wyatt HR, Hill JO, McGuckin BG, Brill C, Mohammed BS, et al. A Randomized trial of a low-carbohydrate diet for obesity. *N Engl J Med.* 2003; 348: 2082-90.
34. Stern L, Iqbal N, Seshadri P, Chicano KL, Daily DA, McGrory J, et al. The effects of low-carbohydrate versus conventional weight loss diets in severely obese adults: One-year follow-up of a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2004; 140:778-785.
35. Dansinger ML, Geeson JA, Griffith JL, Selker HP, Schaefer EJ. Comparison of the Atkins, Ornish, Weight Watchers, and Zone diets for weight loss and heart disease risk reduction. *JAMA.* 2005; 293:43-53.
36. Brinkworth GD, Noakes M, Keogh JB, Luscombe ND, Wittert GA, Clifton PM. Long-term effects of a high-protein, low-carbohydrate diet on weight control and cardiovascular risk markers in obese hyperinsulinemic subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28: 661-70.
37. Dashti HM, Mathew TC, Khadada M, Al-Mousawi M, Talib H, Asfar SK, Behbahani AI, Al-Zaid NS. Beneficial effects of ketogenic diet in obese diabetic subjects. *Mol Cell Biochem.* 2007; 302:249-56.
38. Volek JS, Sharman MJ, Love DM, Avery NG, Gómez AL, Scheett TP, et al. Body Composition and Hormonal Responses to a Carbohydrate Restricted Diet. *Metabolism.* 2002; 51: 864-70.
39. Sherwin RS, Handler RG, Felig R. Effect of ketone infusions on amino acid and nitrogen metabolism in man. *J Clin Invest.* 1975; 55: 1382-89.
40. Yudkin J, Carey M. The Treatment of Obesity by the 'High-Fat' Diet: The Inevitability of Calories. *The Lancet.* 1960; 2: 939-41.
41. McClernon FJ, Yancy WS, Eberstein JA, Atkins RC, Westman EC. The effects of a low-carbohydrate ketogenic diet and a low-fat diet on mood, hunger, and other self-reported symptoms. *Obesity.* 2007; 15:182-87.
42. Westman EC, Yancy WS, Edman JS, Tomlin KF, Perkins CE. Effect of 6-month adherence to a very low carbohydrate diet program. *Am J Med.* 2002; 113: 30-36.
43. Pérez-Guisado J. Arguments in favor of ketogenic diets. *Internet journal of nutrition and wellness.* 2007; 4:2.

Recibido: 05-03-2008

Aceptado: 03-05-2008

Anemia del embarazo en la Provincia de Concepción, Chile: relación con el estado nutricional materno y el crecimiento fetal

*Francisco Mardones S., Eliana Duran F., Luis Villarroel del P., Daniela Gattini V., Daniela Ahumada M.,
Felipe Oyarzún A., Karla Ramírez B.*

Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
Departamento de Bromatología, Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.
Instituciones a las que debe atribuirse este trabajo: Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina,
Pontificia Universidad Católica de Chile

RESUMEN. Estudios realizados en Santiago han determinado que la anemia al inicio del embarazo es un problema de salud pública. No se conoce la situación en el resto del país. El propósito de este estudio fue establecer la prevalencia de anemia en mujeres embarazadas de la provincia de Concepción y evaluar su asociación con su estado nutricional y el crecimiento fetal de sus recién nacidos. Cumplieron con los requisitos de ingreso 1782 mujeres que iniciaron el año 2004 control prenatal en los centros de atención primaria del sistema de salud público de Concepción. La anemia se determinó con los criterios de la OMS ($Hb < 11g / dl$) y del Center for Disease Control de los Estados Unidos de América (CDC) ($Hb <$ percentilo 5 para cada semana de gestación). Se comparó la presencia o ausencia de anemia con las variables independientes antropométricas materno-infantiles, la prematurez y el puntaje Apgar del recién nacido, además de la edad, paridad, morbilidad y hábito tabáquico de la madre. Se realizó un análisis multivariado con regresión logística del posible efecto de la anemia en el crecimiento fetal. La prevalencia de anemia fue de 10,9% y de 14,5% según los criterios OMS y CDC, respectivamente. El estado nutricional de la madre se asoció significativamente con la anemia. Sin embargo, la anemia según OMS y CDC al inicio del embarazo no se asoció con el crecimiento fetal en el análisis multivariado. La anemia materna y es algo superior a la del estudio más reciente de Santiago.

Palabras clave: Anemia, embarazo, nutrición materna, crecimiento fetal.

INTRODUCCION

Durante el embarazo existe un alto requerimiento de hierro, lo que constituye un importante riesgo de desarrollar anemia ferropriva (1). Los requerimientos de hierro aumentan tres veces con la expansión de la masa de células rojas y por el crecimiento de la unidad feto-placentaria. La deficiencia de hierro en mujeres embarazadas es uno de los problemas nutricionales más comunes en el mundo, alcanzando 20% en países industrializados (2). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 52% de las embarazadas en los países en desarrollo presentan anemia y que la mitad de ellas

SUMMARY. Maternal anemia in Concepción province, Chile: association with maternal nutritional status and fetal growth.

Previous studies in Santiago, Chile have established that anemia in the earliest stages of pregnancy is a public health issue. The situation in other parts of the country is unknown. The purpose of this study is to establish the prevalence of anemia in pregnant women in the province of Concepcion and evaluate its association with maternal nutritional status and fetal growth. The study included 1782 women with singleton pregnancies who began prenatal check-ups in 2004 at the public primary health care centers. Anemia was established using the following criteria: from WHO ($Hb < 11g / dl$) and from the USA Center for Disease Control (CDC) ($Hb <$ percentile 5 for each gestational week). Anemia prevalence was compared in relation to independent study variables: maternal age, parity, morbidity and smoking habit, and mother and child anthropometry. A multivariable logistic regression model studied the possible effect of anemia on fetal growth. The prevalence of anemia was 10.9% and 14.5% using the WHO and CDC criteria, respectively. The mother's nutritional status was significantly associated with anemia. However, anemia according to WHO and CDC criteria at the beginning of pregnancy was not significantly associated to fetal growth in the univariate and multivariate analyses. The prevalence of anemia in the province of Concepcion constitutes a public health problem that needs to be addressed and it is slightly higher to that recently observed in the county of Puente Alto, Santiago.

Key words: Anemia, pregnancy, maternal nutrition, fetal growth.

corresponde a carencias de hierro (3).

En Chile los datos de prevalencia de anemia en el embarazo son escasos. El primer estudio que fue publicado en 1984 detectó en el Servicio de Salud Metropolitano Sur-Oriente de Santiago (SSMSO), que atiende algo más de un millón de habitantes, una prevalencia de anemia de 18,7% (4). A fines de los 80, en una población similar de embarazadas adultas del SSMSO, pero sólo de bajo peso/talla, se demostró anemia en 25,4% de los casos (5). Ambos estudios revelan una prevalencia cercana al 20%, situación similar a la de países desarrollados.

El estudio más reciente, publicado el 2004 y efectuado en la comuna de Puente Alto (también ubicada en el SSMSO), indicó una prevalencia de anemia en el embarazo de 13,4%, con un descenso respecto a los estudios realizados en los años 80 (6). No obstante, la prevalencia actual de anemia en el embarazo no se ha establecido a nivel poblacional en otros lugares diferentes a Santiago.

Estudios observacionales han sugerido que la deficiencia de hierro se asocia con el parto prematuro y con el bajo peso al nacer (7). No se ha estudiado la posible influencia de la anemia en el crecimiento fetal en nuestro país.

Según la Encuesta de Caracterización Socioeconómica Nacional (CASEN) del año 2006, la proporción de pobreza total en Chile fue de 13,7% y en la provincia de Concepción fue de 18,8%, indicando que existe una brecha de pobreza entre esta zona con el resto del país (8).

Este estudio pretendió establecer la prevalencia de anemia en embarazadas de la provincia de Concepción, Chile, utilizando dos criterios para definir anemia materna (9, 10). Se incluyó también el estudio de la asociación entre la anemia al inicio del embarazo, según los dos criterios antes señalados (8, 9), con el estado nutricional materno y el crecimiento fetal.

METODOS

Se realizó un estudio prospectivo correlacional desde el primer control de embarazo hasta el parto, y se registró información de la madre y del recién nacido proveniente de los exámenes habituales hematológicos y antropométricos.

Los datos provienen de las mujeres que iniciaron su control de embarazo entre enero y abril de 2004, en los 29 centros de salud y consultorios urbanos de la provincia de Concepción, ubicada a 519 km al sur de Santiago, Chile. Se incluyeron los establecimientos de salud urbanos de las siguientes comunas que pertenecen a esta provincia: Concepción, San Pedro de la Paz, Chiguayante, Hualqui, Tomé, Penco, Coronel, Talcahuano y Lota. Los partos ocurrieron en las Maternidades de las ciudades de Concepción y Talcahuano.

Las mediciones antropométricas en el primer control de embarazo y las siguientes fueron hechas por auxiliares del programa maternal. La estandarización de procedimientos, el entrenamiento del personal auxiliar para estas mediciones y la extracción de datos de las fichas de control prenatal de cada consultorio fue realizado por Nutricionistas docentes de la Universidad de Concepción.

El criterio de ingreso fue mujeres de 18 años y más, con embarazo único. Los casos sin datos completos en algunas de las variables del estudio fueron excluidos del mismo. La toma de muestras de sangre para estudiar los niveles de hemoglobina (Hb) es una norma obligatoria para todas las embarazadas en los consultorios, que se aplica en el primer control del mismo. Entre los datos recolectados se encuentran los niveles de Hb

(Hb/dL), peso al inicio del control de embarazo (kg más un decimal), talla (cm más un decimal), edad materna (años cumplidos), paridad (número de partos previos) y edad gestacional (semanas completas), al momento de las mediciones antropométricas y hematológicas. La edad gestacional se estimó según fecha de última regla (FUR) y en los casos dudosos según ecografía temprana antes de 20 semanas para luego estimar la FUR operacional. Además se registró el diagnóstico materno de patologías del embarazo y la presencia de hábito de fumar.

Los análisis de sangre se llevaron a cabo en laboratorios certificados por el Instituto de Salud Pública (ISP) en los respectivos hospitales de la provincia, donde la Hb se determinó según el método de la cianmetahemoglobina. Para definir anemia se utilizó el criterio de la práctica habitual que ha sido propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es decir, $Hb < 11 \text{ g/DL}$ (9). También se utilizaron los valores de Hb ubicados bajo del percentilo 5 en cada semana de gestación que fueron propuestos por el Center for disease Control (CDC) en los Estados Unidos de América (10).

El peso materno se registró en balanza de palanca. La talla materna se determinó con un cartabón estandarizado con la mujer descalza durante los controles prenatales regulares. Se evaluó la relación peso/talla expresado como índice de masa corporal (IMC) al inicio del embarazo. El estado nutricional materno se determinó de acuerdo a curvas chilenas para embarazadas (11).

Los niños fueron secados y pesados inmediatamente después del parto en pesas digitales auto calibradas (Tanita 1583 con precisión de en 10 g o Seca 345 con precisión de 20 g). Se midió la longitud coronilla-talón del recién nacido con un neonatómetro y la circunferencia craneana mediante cinta métrica, ambos valores en cm aproximados al decimal más cercano. Se evaluó la vitalidad del recién nacido con el puntaje de Apgar al minuto y a los cinco minutos.

Para definir restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) se utilizó el criterio de Tanner y Thomson sobre adecuación del peso al nacer para cada edad gestacional, utilizando el percentilo 10 como punto de corte (12); este uso del término RCIU como equivalente a pequeño para la edad gestacional es el habitual en las maternidades chilenas (13). Otros indicadores de crecimiento fetal reducido fueron: peso $< 2.500 \text{ g}$ y peso $< 3.000 \text{ g}$.

Este es el primer estudio sobre la prevalencia de anemia en mujeres embarazadas en el servicio de salud de la provincia de Concepción utilizando los criterios OMS y CDC. Los datos estudiados pertenecen al universo de mujeres que ingresaron a control de embarazo en tres meses del año 2004. Para el análisis se eliminaron los casos sin datos completos.

Para determinar la posible asociación de la anemia con las variables independientes, se utilizaron: la prueba t de Student para muestras independientes en la comparación de prome-

dios, la prueba de chi-cuadrado para la comparación de proporciones y el análisis de la varianza (ANOVA) para la comparación de más de dos promedios. Para la corrección por las comparaciones múltiples se usó el método de Bonferroni. Para determinar la asociación conjunta de la anemia y las demás variables en estudio con el crecimiento fetal reducido, se utilizó análisis de regresión logística binaria. Se consideró significativo todo valor p inferior o igual a 0.05. Los análisis estadísticos se hicieron usando el programa estadístico SPSS 15.0 para Windows.

Este estudio fue aprobado por el comité de Ética de la Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

RESULTADOS

Se reclutaron 2171 mujeres embarazadas de la Provincia de Concepción, que cumplieron con los requisitos de ingreso. En 1782 de ellas la información sobre las variables en estudio fue registrada en forma completa. Para 389 mujeres los datos fueron incompletos por lo que fueron excluidas del análisis final; los datos faltantes fueron el peso al nacer, la edad gestacional de parto y la Hb. En la Tabla 1 se comparan ambos grupos en las principales variables al ingresar al control de embarazo, no presentando diferencias estadísticamente significativas.

TABLA 1
Características generales del grupo de embarazadas incluidas y excluidas del estudio

	Mujeres incluidas (n = 1782 casos)		Mujeres excluidas (n = 389 casos)		Diferencia
	Promedio	DS	Promedio	DS	Valor p (bilateral)
Edad (años)	27,0	6,8	27,1	6,7	0,724
Paridad (n)	1,07	1,1	1,04	1,1	0,639
Talla materna (cm)	156,1	5,9	156,4	5,4	0,418
Peso pre-embarazo (kg)	61,7	11,7	61,8	11,8	0,767
IMC pre-embarazo	25,2	4,5	25,2	4,7	0,995

Las 1782 mujeres incluidas, con edad entre 18 y 46 años, presentaron además las siguientes características (promedio \pm DS): a) edad gestacional (semanas) al momento del examen de hemoglobina: $14,5 \pm 7,2$; b) edad gestacional (semanas) al momento del parto: $38,7 \pm 1,7$; c) peso recién nacido (g) 3393 ± 525 ; d) circunferencia craneana (cm): $34,6 \pm 2,1$; e) puntaje Apgar al minuto: $8,5 \pm 1,0$; y f) puntaje Apgar a los 5 minutos: $9,3 \pm 0,8$.

Según el criterio de la OMS la prevalencia de anemia llegó a 14,5%, mientras que al aplicar el criterio CDC esta fue 10,9%. Sesenta y cinco casos adicionales fueron observados según el criterio tradicional de la OMS. No hubo diferencias significativas al evaluar la presencia de anemia por grupos etareos y paridad, tanto con el criterio OMS como con el criterio CDC.

La comparación del promedio de las variables antropométricas neonatales entre los hijos de las mujeres con y sin anemia resultó no significativa utilizando ambos criterios de anemia (Tabla 2). La comparación de los grupos con presencia o ausencia de anemia en relación a la prematuridad, peso < 2.500 g y peso < 3.000 g del RN tampoco presentó diferencias significativas.

Las embarazadas que presentaron alguna morbilidad fueron 284 (15,9%), siendo más frecuentes las infecciones del tracto urinario (ITU) y la diabetes gestacional (DG) con prevalencias de 3,3% y 3,1%, respectivamente. El estudio de la asociación entre el diagnóstico de anemia según los criterios OMS y CDC con el conjunto de las patologías no detectó

diferencias significativas entre las anémicas y las no anémicas, ello tampoco ocurrió con las dos patologías más frecuentes (ITU y DG). Según el criterio OMS, las proporciones de embarazadas anémicas en las madres con morbilidad fueron 12,0% y en madres sin morbilidad 15,0% (p: 0,199). Según el criterio CDC, las proporciones de embarazadas anémicas en las madres con morbilidad fueron 9,9% y en madres sin morbilidad 11,1% (p: 0,544).

Las fumadoras de uno o más cigarrillos al día llegaron a 201 casos (11,3%). La prevalencia de anemia según los criterios OMS y CDC fue similar entre las que fumaron y no fumaron durante el embarazo. Según criterio OMS 13,9% y 14,6%, respectivamente (p: 0,915). Según criterio CDC 10,4% y 10,9%, respectivamente (p: 0,830).

En los modelos de regresión logística relativos a la influencia de la anemia materna con los dos criterios (OMS y CDC) sobre el estado nutricional del RN, la asociación con la anemia materna no arrojó resultados significativos. Según criterio OMS, los valores de p fueron: 0,555, 0,342 y 0,942, respectivamente. Según criterio CDC, los valores de p fueron: 0,435, 0,967 y 0,954, respectivamente. Al ajustar por otras variables independientes (edad, paridad, talla materna, peso materno pre-parto, peso materno del último control, valor de Hb, presencia de morbilidad y hábito tabáquico) en tres modelos de regresión logística multivariada, no se modificó lo antes señalado.

TABLE 2
Promedios y DS de las variables antropométricas del recién nacido (RN) de acuerdo a la presencia de anemia según criterios OMS y CDC al inicio de los controles del embarazo en 1.782 mujeres.

Variables del RN	Presencia de anemia materna por criterio		n (Total: 1782)	Promedio	DS	Valor p
	OMS					
Peso (g)	No		1523	3393	531	0,966
	Si		259	3392	495	
Talla (cm)	No		1523	49,9	2,9	0,837
	Si		259	49,9	2,2	
Circunferencia Craneana (cm)	No		1523	34,6	2,0	0,335
	Si		259	34,7	2,8	

Variables del RN	Presencia de anemia materna por criterio		n (Total: 1782)	Promedio	DS	Valor p
	OMS					
Peso (g)	No		1588	3393	528	0,951
	Si		194	3395	508	
Talla (cm)	No		1588	49,9	2,9	0,782
	Si		194	49,9	2,1	
Circunferencia Craneana (cm)	No		1588	34,6	2,1	0,438
	Si		194	34,7	2,3	

La asociación entre la presencia de anemia materna por criterio OMS y CDC con los indicadores de prematuridad y los puntajes de Apgar bajo al minuto y a los 5 minutos no encontró diferencias significativas (Tabla 3).

TABLE 3
Proporción de recién nacidos con prematuridad y puntaje Apgar bajo al minuto y a los 5 minutos de vida de acuerdo a la presencia de anemia según criterios OMS y CDC al inicio de los controles del embarazo en 1.782 mujeres

Datos del Recién nacido	Anemia materna por Criterio OMS (%)	Valor p	Anemia materna por Criterio CDC (%)	Valor p
>= 34 semanas	14,4	0,805	10,9	0,744
<34 semanas	15,2		9,1	
>= 38 semanas	14,4	0,770	10,5	0,250
<38 semanas	15,0		13,0	
Apgar 1' >= 7	14,5	1,000	11,0	0,360
Apgar 1' < 7	14,1		7,7	
Apgar 1' >= 4	14,5	1,000	10,9	0,714
Apgar 1' < 4	15,4		7,7	
Apgar 5' >= 7	14,5	0,645	10,8	0,250
Apgar 5' < 7	20,0		20,0	
Apgar 5' >= 4	14,5	1,000	10,8	0,879
Apgar 5' < 4	12,5		12,5	

En la Tabla 4 se presenta la prevalencia de anemia según los criterios OMS y CDC de acuerdo al estado nutricional de la madre al primer control. Se observó que las embarazadas enflaquecidas o de bajo peso presentaron una mayor preva-

lencia de anemia que las otras categorías de estado nutricional materno.

TABLA 4

Prevalencia de Anemia de acuerdo a la presencia de anemia según criterio OMS y CDC al inicio de los controles del embarazo en 1.782 mujeres *

Estado nutricional de Ingreso	Anemia OMS				Total	%
	Si	%	No	%		
Bajo Peso	50	28,9 *	123	71,1	173	
Normal	96	14,4	570	85,6	666	
Sobrepeso	51	11,6	390	88,4	441	
Obesas	62	12,4	440	87,6	502	
Total	259	14,5	1523	85,5	1782	

* P < 0,0001.

Estado nutricional de Ingreso	Anemia CDC				Total	%
	Si	%	No	%		
Bajo peso	31	17,9 *	142	82,1	173	9,7
Normal	85	12,8	581	87,2	666	37,4
Sobrepeso	44	10,0	397	90,0	441	24,7
Obesas	34	6,8	468	93,2	502	28,2
Total	194	10,9	1697	89,1	1782	100

* P < 0,0001

DISCUSION

La eliminación de casos sin datos completos no representó un sesgo en este estudio porque importantes variables fueron similares a las del grupo en estudio. Por ejemplo, el IMC materno no tuvo diferencias; luego la distribución del estado nutricional materno en la Tabla 4 reveló también una alta proporción de mujeres obesas, coincidiendo con los datos nacionales (11, 14). El entrenamiento del personal por docentes de la carrera de Nutrición y Dietética en conjunto con el registro centralizado de la misma por este grupo de Nutricionistas debe haber mejorado la calidad de los datos recopilados a nivel de los consultorios, aunque llama la atención la dificultad para la obtención de algunos datos neonatales que quedaron incompletos, lo que sugiere una coordinación deficiente con las maternidades probablemente en cuanto a la identificación de las madres de este estudio. Sin embargo otras similitudes entre este estudio y varios otros recientes avalan la calidad de los datos obtenidos. Por ejemplo, para el caso de los promedios de peso y talla al nacer así como para la edad gestacional de parto, los datos nacionales que se han reportado recientemente no presentan diferencias con este estudio (15, 16). También en el caso de los valores promedios de antropometría materna, de circunferencia craneana, de apgar al minuto y a los cinco minutos, hay coincidencia con publicaciones nacionales recientes (12, 17).

La prevalencia de anemia obtenida según el criterio OMS es algo superior a la de 11,4% observada con el mismo crite-

rio en la comuna de Puente Alto el año 2003 (6), lo que podría estar explicado por la antes señalado mayor proporción de pobreza en la provincia de Concepción (8); la asociación con el nivel socioeconómico se comenta también en el párrafo subsiguiente. La comuna de Puente Alto, ubicada dentro del SSMSO antes indicado, tiene algo más de 500 mil habitantes, mientras que la provincia de Concepción tiene 912.889 habitantes según datos recientes (18). Por tanto este estudio también entrega información de anemia en las embarazadas del sistema público de salud para una importante población del país; el sistema público de salud en Chile atiende alrededor del 70% de la población total de 16 millones de habitantes (18, 19).

Los resultados señalados de los estudios de Puente Alto y de Concepción sugieren una reducción de la prevalencia de anemia en embarazadas en los últimos 15 años con respecto a los datos de Santiago. Efectivamente en el SSMSO los estudios anteriores de los años 80 indicaron que la prevalencia de anemia con el criterio de la OMS fluctuó alrededor de 20% (4, 5). Esta reducción podría estar reflejando el impacto favorable de varias medidas de salud pública. Ellas son: a) la fortificación de la harina de trigo para consumo humano con hierro, vigente desde el año 1952 (20); b) la distribución de tabletas de sulfato ferroso a mujeres beneficiarias del sector público de salud, medida establecida por el MINSAL el año 1991; c) la reciente fortificación a nivel nacional de la harina de trigo con ácido fólico desde el año 2000, contribuyendo particularmente en la reducción de la anemia megaloblástica (21, 22). La disminución de la anemia materna que se ha observado en Chile aparentemente por la suplementación con hierro, sin y con ácido fólico, que ha ocurrido durante los últimos 50 años, está también sustentada por los resultados de una revisión de 44 ensayos controlados, incluyendo a 12.706 mujeres, sobre la suplementación rutinaria de solo hierro o combinado con ácido fólico, que mostró una tendencia a aumentar los niveles de hemoglobina y a disminuir la anemia materna (23).

Diversos estudios refieren una asociación entre el nivel socioeconómico y la prevalencia de anemia (2). La reducción nacional de la prevalencia de anemia en los últimos 15 años también podría estar asociada al mejor ingreso económico observado en este tiempo. La población que vive bajo la línea de la pobreza ha disminuido de 40% al final de los años 80 a 13,7% en el 2006 (8). Esto ha significado un aumento de la disponibilidad de carne desde 55,7 kg/año/persona a 67,2 kg/año/persona desde el año 1993 al 2003 (24); la carne contiene hierro hem con reconocida alta biodisponibilidad (3).

La anemia según los criterios OMS y CDC tuvo valores cercanos y no se asoció con la restricción del crecimiento fetal, con la prematuridad o los con puntajes bajos de Apgar; no lo hizo además con la morbilidad materna y la presencia de

tabaquismo. Tampoco se asoció en los modelos de regresión logística con los indicadores de restricción de crecimiento fetal estudiados. Sin embargo, el estado nutricional de la embarazada según IMC si se asoció significativamente con la presencia de anemia materna, indicando que estos diagnósticos de anemia son validados por esta relación con las madres de bajo peso que son las más pobres en Chile (11). No se dispuso de argumentos para proponer reemplazar el criterio OMS por el criterio CDC. La ventaja actual del criterio OMS es que con el se mantiene la comparación con la serie histórica.

La falta de correlación de la anemia materna con las variables neonatales podría estar explicada por un tamaño muestral insuficiente, especialmente considerando la relativamente baja prevalencia de anemia observada (23). Por otra parte, el promedio de Hb ($12,2 \pm 1,1$) fue alto comparado con otros estudios (5, 25), indicando que no se presentaron casos de anemia severa, aspecto que puede haber contribuido a que no se observe asociación con el crecimiento fetal. Es importante señalar que la evaluación de anemia se realizó sólo al inicio del embarazo, por lo que una segunda evaluación hacia el final de la gestación, podría mostrar una posible influencia de la anemia sobre el crecimiento fetal. Cabe destacar que la revisión antes citada de 44 ensayos controlados concluyó que la información obtenida sobre la suplementación con hierro, sin y con ácido fólico, es insuficiente para evaluar su posible efecto en el crecimiento fetal (23).

Según los criterios de la OMS la anemia es considerada un problema de salud pública cuando su prevalencia está sobre 5% (3). Aun cuando los resultados de este estudio indican una disminución de la anemia en Chile, la situación de las embarazadas sigue siendo un problema nacional de salud pública.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado por los docentes de la carrera de Nutrición y Dietética de la Universidad de Concepción, tanto en el entrenamiento del personal de salud de los consultorios de la provincia de Concepción como en la recopilación de la información necesaria.

REFERENCIAS

- Bothwell TH. Iron requirements in pregnancy and strategies to meet them. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72 (suppl): 257S-64S.
- Zimmerman MB. Nutricional iron deficiency. *Lancet.* 2007; 370: 511-20.
- Stoltzfus RJ, Dreyfuss ML. Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anemia. INACG, WHO, UNICEF. Washington DC: ILSI press. 1998.
- Lira P, Foradori A, Grebe G, Vela P. Deficiencia de hierro y folatos en mujeres embarazadas de término. *Rev Méd Chile.* 1984; 112: 127-31
- Mardones-Santander F, Rosso P, Stekel A, Ahumada E, Llaguno S, Pizarro F et al. Effect of a milk-based food supplement on maternal nutritional status and fetal growth in underweight Chilean women. *Am J Clin Nutr.* 1988; 47: 413-9.
- Mardones F, Rioseco A, Ocqueteau M, Urrutia MT, Javet L, Rojas I, Villarroel L. Anemia en las embarazadas de puente alto, Chile. *Rev Med Chile.* 2003; 131: 520-25.
- Allen LH. Multiple micronutrients in pregnancy and lactation: an overview. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81 (suppl): 1206S-12S.
- Ministerio de Planificación. Encuesta de Caracterización Socioeconómica Nacional, CASEN 2006. <http://www.mideplan.cl/casen>
- World Health Organization. Nutritional anaemias. Report of a WHO Scientific Group. Technical Report Series No. 405. Geneva: WHO; 1968
- Institute of Medicine, National Academy of Science. Nutrition During Pregnancy. Washington, DC: National Academy Press, 1990
- Mardones F, Rosso P. A weight gain chart for pregnant women designed in Chile. *Matern Child Nutr.* 2005; 1 (2): 77-90
- Tanner JM, Thomson AM. Standards for birth weight as gestation periods from 32 to 42 weeks, allowing for maternal height and weight. *Arch Dis Child.* 1970; 45 (242): 566-9.
- Oyarzún E, Yamamoto M. Influencia de la patología prenatal en el feto y en recién nacido. En: Tapia JL, González, A, eds. Neonatología. Tercera edición. Santiago: Mediterráneo, 2008; 29-44.
- Albala C, Vio F, Kain J, Uauy R. Nutrition transition in Chile: determinants and consequences. *Public Health Nutr.* 2002; 5: 123-8.
- González R, Gómez R, Castro R, Nien JK, Merino P, Etchegaray A, Carsten M, Medina L, Viviani P, Rojas I. A national birth weight distribution curve according to gestational age in Chile from 1993 to 2000. *Rev Med Chile.* 2004; 132: 1155-65.
- Mardones F, Marshall G, Viviani V, Villarroel L, Burkhalter BR, Tapia J-L, Cerda J, García-Huidobro T, Ralph C, Oyarzún E, Mardones-Restat F. Interactive effect of birth weight and gestational age on the individual probability of neonatal mortality. *J Health Popul Nutr*, en prensa, 2007.
- Mardones F, Urrutia MT, Villarroel L, Rioseco A, Castillo O, Rozowski J, Tapia JL, Bastías G, Bacallao J, Rojas I. Effects of a dairy product fortified with multiple micronutrients and omega-3 fatty acids on birth weight and gestation duration in pregnant Chilean women. *Public Health Nutr.* 2008; 11(1):30-40.
- Instituto Nacional de Estadísticas. CENSO 2002. Sitio web: www.inec.cl
- Fondo Nacional de Salud (FONASA), Ministerio de Salud de Chile. Departamento de Gestión Estratégica – Estudios, 2006.
- Pena G, Pizarro F, Hertrampf E. Contribution of Iron of bread to the Chilean diet. *Rev Med Chile.* 1991; 119: 753-7.
- Hertrampf E, Cortés F. Folic acid fortification of wheat flour: Chile. *Nutr Rev.* 2004; 62 (6 pt 2): S44-8.
- Lumley J, Watson L, Bower C. Periconceptional supplementation with folate and/or multivitamins for preventing neural tube defects (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, 2, 2003. Oxford: Update Software. CD00156.
- Pena-Rosas JP, Viteri FE. Effects of routine oral iron supplementation with or without folic acid for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006; CD004736.

24. Mendoza C, Pinheiro AC, Amigo H. Evolución de la situación alimentaria en Chile. *Rev Chil Nutr.* 2007; 34 (1): 62-70.
25. Vanderjagt DJ, Brock HS, Melah GS, El-Nafaty AU, Crossey MJ, Glew RH. Nutritional factors associated with anaemia in pregnant women in northern Nigeria. *J Health Popul Nutr.* 2007; 25(1):75-81.

Recibido:13-03-2008

Aceptado:18-06-2008

Prevalencia de sobrepeso y obesidad en estudiantes adolescentes ecuatorianos del área urbana

Rodrigo Yopez, Fernando Carrasco, Manuel E. Baldeón

Sociedad Ecuatoriana de Ciencias de la Alimentación y Nutrición (SECIAN); Escuela Politécnica Nacional, Quito;
Colegio de Ciencias de la Salud, Universidad San Francisco de Quito. Ecuador

RESUMEN. Se trata del primer estudio nacional para establecer la prevalencia de sobrepeso y obesidad en estudiantes adolescentes en Ecuador. La muestra estudiada fue de 2.829 estudiantes, 1.461 mujeres y 1.368 varones, entre 12 y <19 años. De estos, 1.435 estudiantes estuvieron matriculados en 60 colegios públicos y privados de las seis principales ciudades de la Costa y 1.394 estuvieron matriculados en 60 colegios de las seis principales ciudades de la Sierra. A los participantes se les midió el peso y la talla y se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC). Se diagnosticó con sobrepeso a los adolescentes cuyo IMC estuvo entre los percentiles 85 y <95 y con obesidad a los adolescentes cuyo IMC fue = 95. Los resultados indican que el exceso de peso afecta al 21,2% de los adolescentes: sobrepeso, 13,7% y obesidad 7,5%. El exceso de peso fue significativamente mayor en la Costa, 24,7% que en la Sierra, 17,7% (P 0.001). Igualmente, el exceso de peso fue significativamente mayor en los adolescentes de colegios privados, 25,3% que de colegios públicos 18,9%, (P = 0.001) y fue mas común en las mujeres que en los hombres (21,5% versus 20,8%, respectivamente). El estudio demostró también que el 16,8% de los adolescentes tuvieron bajo peso. En su conjunto, estos datos indican que cerca del 40% de la población estudiada está mal-nutrida siendo la sobre-nutrición, el problema más grave. Se hacen necesarias medidas de intervención inmediatas para prevenir y tratar estos graves problemas de Salud Pública.

Palabras clave: Ecuador, adolescentes, sobrepeso, obesidad, malnutrición.

INTRODUCCION

Aquel aforismo popular que decía “la gordura es hermosa” ha ido perdiendo terreno, para dar paso a otra concepción muy de moda: la que asocia la belleza -especialmente de la mujer- con la delgadez.

Más allá de las preocupaciones en el campo de la estética corporal, la obesidad representa un problema severo de Salud Pública por las siguientes razones: las personas afectadas de obesidad a más de mostrar limitaciones en sus capacidades

SUMMARY. Prevalence of overweight and obesity in Ecuadorian adolescent students in the urban area. This is the first study to establish the prevalence of overweight and obesity among Ecuadorian adolescent students. The population studied was made up of 2.829 students, 1.461 females and 1.368 males between 12 and <19 years of age. One thousand four hundred and thirty five students were registered in 60 schools, public and private, in the six main cities of the Coastal Region; the remaining 1.394 students were registered in 60 schools, public and private, in the six main cities in the Andean Region. Height and weight were measured in all participants and the body mass index (BMI) of each individual was calculated. Overweight was diagnosed in those adolescents whose BMI was between percentiles 85 and <95, and obesity was diagnosed in the subjects whose BMI was >95. Results indicate that 21.2% of adolescents had excess weight: 13.7% were overweight and 7.5% had obesity. Excess weight was higher in the Coast (24.7%) than in the Andean Region (17.7%; P<0.0001). In the same way, excess weight was higher among students attending private schools (25,3%) than in those attending public schools (18,9%; P<0.0001). Data also indicate that excess weight was more common in women than in men, 21,5% versus 20,8%, respectively (P<0.02). The study also indicated that 16,8% of adolescents were underweight. Taken together, these data indicate that 38% of the studied population was malnourished. It is necessary to take measures to prevent and treat these important public health problems in Ecuador.

Key words: Ecuador, adolescents, overweight, obesity, malnutrition.

biológicas, psicológicas y sociales, tienen una expectativa de vida menor que la de las personas con peso normal (1); un buen número acusa los signos y síntomas del llamado síndrome metabólico, siendo serias candidatas a desarrollar graves enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) como hipertensión arterial, diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares que son actualmente las principales causas de enfermedad y muerte en el Ecuador y en el mundo (2). Solamente por problemas cardiovasculares cada año mueren unas 18 millones de personas en el planeta (3). Estas enfermedades, sin embargo, no son los únicos riesgos; hay otros relacionados con problemas respiratorios, gastrointestinales, algunos cánceres y otros más que caen en la esfera de lo psicológico y social (i.e. autoestima baja).

Este trabajo recibió financiamiento de la Fundación Ecuatoriana para la Ciencia y la Tecnología (FUNDACYT) del Ecuador.

El costo económico y social para el individuo, la familia y la sociedad que genera la obesidad y las enfermedades que de ella se derivan es muy alto. En el Ecuador esos valores se desconocen, pero en países industrializados como los Estados Unidos de Norteamérica (E.U.A.) se estima que se gastaron aproximadamente \$123 billones de dólares en el 2001 para tratar la obesidad y los problemas relacionados con ella (1,3). Los enormes costos para el tratamiento de esta enfermedad y las patologías asociadas podrían rápidamente abrumar las débiles economías de los países en desarrollo, como el Ecuador, que todavía tienen que cubrir los altos costos generados por la desnutrición y las enfermedades infecciosas (4, 5).

Para nadie es desconocido que la obesidad es una enfermedad que se ha incrementado marcadamente en los últimos 40-50 años. Este marcado incremento dio lugar para que desde 1997 la obesidad sea considerada un problema de Salud Pública con características epidémicas. En estos últimos años, se han determinado tanto factores genéticos como medioambientales como causales asociados al aumento de la obesidad (6-9).

De manera similar a otros países, en E.U.A el incremento de sobrepeso y obesidad ha sido muy marcado. A inicios del Siglo XXI, el 30% de ciudadanos de ese país tenían obesidad y el 64% sobrepeso (10,11). El incremento en el número de personas con exceso de peso ocurrió tanto en hombres como en mujeres en todos los grupos étnicos estudiados (11). En la misma época, en varios países de América Latina como Argentina, México, Paraguay y Uruguay se estimó que aproximadamente el 50% de la población tenía sobrepeso y el 15% obesidad (12).

El problema del exceso de peso se concentra en las zonas urbanas en donde se expresan con mayor intensidad y frecuencia diversas manifestaciones de las transformaciones económicas y sociales, tecnológicas, culturales, epidemiológicas, alimentarias, y nutricionales que son el telón de fondo del escenario de la obesidad.

Es muy preocupante el hecho de que cada vez sean más numerosos los niños, adolescentes y jóvenes afectados por sobrepeso y obesidad, independientemente de su condición social (13-15). Actualmente hay el doble de niños con sobrepeso en los E.U.A. que hace veinte años. En el mismo país, en niños y adolescentes de entre 6 y 17 años, se han registrado diferencias según su origen (16): los hispanos/mexicanos tienen más obesidad (17%) que los negros (12%) y estos más que los blancos (10%). En Sudamérica, datos de Chile indican que el porcentaje de varones escolares con obesidad creció de 6.5% en 1987 a 13.1% en 1996 y que en las mujeres se incrementó de 7,7% a 14,7% (17). Recientes reportes en Chile indican que la prevalencia, para 2007, alcanzó prácticamente el 20% (comunicación personal, Pablo López Director Sociedad Ecuatoriana de Ciencias de la Alimentación y Nutrición). En México, uno de cada cuatro niños de edades comprendidas entre 4 y 10 años

tiene sobrepeso (18). En el Ecuador, 14 de cada 100 escolares de 8 años tuvo exceso de peso en el 2001 (15).

Se ha demostrado que un tercio de los pre-escolares y la mitad de los escolares con obesidad tendrán obesidad en su adultez y estarán expuestos a un alto riesgo de padecer diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular e hipertensión arterial (20). De manera que la obesidad en la infancia y adolescencia es un factor pronóstico de la obesidad en el adulto. Así, se estima que el 80% de los adultos con obesidad severa tenían obesidad durante la adolescencia.

Es natural que los niños y adolescentes aumenten de peso conforme crecen, puesto que normalmente con el crecimiento aumentan el tamaño y volumen de sus huesos, de sus músculos y, por supuesto, la cantidad de masa grasa. Sin embargo, se han señalado tres períodos que resultan críticos para el desarrollo de obesidad (21): el prenatal, de los 5 a 7 años, y la adolescencia, especialmente en las mujeres. Cuando un estímulo o riesgo opera durante estos períodos críticos el individuo experimenta una “programación” o “huella metabólica” que provoca una alteración permanente de determinados procesos biológicos y acarrea en el largo plazo alteraciones en el perfil lipídico, presión arterial, tolerancia a la glucosa, y riesgo de obesidad (21).

En el Ecuador no existen datos de la magnitud del problema de obesidad en la población de adolescentes. Consecuentemente, el objetivo del presente trabajo fue llenar este vacío.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio de prevalencia de sobrepeso y obesidad en estudiantes adolescentes ecuatorianos se realizó durante los años 2.006-2.007. El universo de estudio estuvo constituido por 503.488 alumnos matriculados en 1.268 colegios de doce ciudades del país. La muestra nacional, representativa, se conformó con 2.829 adolescentes de ambos sexos: 1.368 varones y 1.461 mujeres, entre los 12 y 19 años de edad, habitantes del área urbana de seis ciudades de la Costa, capitales provinciales o cabeceras cantonales: Esmeraldas, Guayaquil, Machala, Manta, Portoviejo y Quevedo y seis de la Sierra: Ambato, Cuenca, Ibarra, Loja, Riobamba y Quito. Los adolescentes de la Costa, matriculados en 60 colegios públicos y privados, sumaron 1.435 y los matriculados en otros 60 colegios de la Sierra, igualmente públicos y privados, sumaron 1.394.

La muestra se conformó a partir de la información del Censo de Planteles Educativos del Sistema Nacional de Estadísticas Educativas que registra a todos los alumnos matriculados en los planteles educacionales del país. El diseño fue de tipo probabilístico, con muestra de conglomerados, estratificada, con selección aleatoria y sistemática. Los dominios de estudio, representativos, fueron las regiones naturales del país: Costa y Sierra. No se incluyó a las regiones

Amazónica e Insular puesto que estas captan tan solo al 4% de los adolescentes ecuatorianos, de manera que las inferencias estadísticas nacionales no resultaban afectadas. Los conglomerados urbanos de la Costa y Sierra seleccionados lo fueron en razón de su elevado porcentaje de matrícula de adolescentes, confiable y suficiente para hacer inferencias y obtener representatividad nacional. La muestra se calculó utilizando las fórmulas del muestreo aleatorio simple, con un 95% de confiabilidad y un margen de error máximo posible del 2%.

Se excluyeron del estudio estudiantes que presentaron enfermedades osteomusculares y bocio evidentes y las adolescentes embarazadas.

En un formulario ad-hoc se registró el código de la matrícula de los 2.829 adolescentes de la muestra, así como su fecha de nacimiento, edad y sexo. Se identificó el régimen socio-económico del colegio: fiscal (gratuito) o privado (pensionado).

Las medidas antropométricas, peso y talla, se tomaron y registraron siguiendo las conocidas normas internacionales de la Organización Mundial de la Salud (OMS), con los adolescentes descalzos y vistiendo ropa interior. Los instrumentos fueron calibrados por el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). El peso se registró en kilogramos y la talla en centímetros. Las mediciones antropométricas fueron hechas por 5 médicos, estudiantes de postgrado de la Maestría de Alimentación y Nutrición de la Universidad Central del Ecuador, previamente entrenadas. El coeficiente de variación entre mediciones fue menor al 3%.

Para el diagnóstico del estado nutricional se utilizó el Índice de Masa Corporal (IMC) que se calculó dividiendo el

peso expresado en kilogramos para la talla expresada en metros, elevada al cuadrado ($IMC = \text{peso kg} / \text{talla m}^2$). Los adolescentes cuyo IMC estuvo entre los percentiles 85 y <95 se diagnosticaron con sobrepeso y aquellos con IMC igual o mayor que el percentil 95, con obesidad. Por otro lado, los adolescentes cuyo IMC estuvo por debajo del percentil 5 fueron diagnosticados con desnutrición.

Los datos se procesaron y analizaron utilizando los programas de computación: Epi-info 6.04, Excel y SPSS 9.0.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se resumen los resultados del estado nutricional de los estudiantes adolescentes ecuatorianos valorados de acuerdo a su IMC, según las características de Región, sexo, edad y tipo de colegio. Los datos demuestran que el 38% de la población estudiada tiene algún grado de malnutrición mientras que el resto tuvo valores de IMC dentro de los rangos considerados normales. Así, el 16.8% tuvieron un IMC por debajo del percentil 5, esto es, bajo peso indicativo de desnutrición crónica. Por otro lado, el 21,2% de los adolescentes presentaron exceso de peso: 13,7% tuvieron sobrepeso y 7,5% obesidad (Tabla 1). En la Tabla 2 se indica que el exceso de peso fue más frecuente en la región de la Costa que en la Sierra, 24,7% versus 17,7%, respectivamente ($P < 0.001$); que el exceso de peso fue más común entre los adolescentes matriculados en colegios particulares que en aquellos que asistían a colegios fiscales 25.3% versus 18.9%, respectivamente ($P < 0.001$) y que en relación al género, el exceso de peso fue más común en las mujeres que en los hombres.

TABLA 1
Estado nutricional de los adolescentes ecuatorianos de ambos sexos, de 12 a <19 años, habitantes de área urbana. Ecuador 2006

Región		TOTAL	%	Sexo		Edad			Tipo de colegio			
				Costa	Sierra	Hombre	Mujer	12-14 años	15-16 años	17-18 años	Fiscal	Particular
Estado nutricional	Bajo peso	472	16.8	262	210	270	202	285	118	69	319	153
	Normal	1755	62.0	818	937	813	942	1035	444	276	1135	620
	Sobre peso	391	13.7	199	192	163	228	243	95	53	229	162
	Obesidad	211	7.5	156	55	122	89	132	56	23	110	101
Total		2829		1435	1394	1368	1461	1695	713	421	1793	1036

TABLA 2
Prevalencia de sobrepeso y obesidad en adolescentes según sexo, región geográfica en que habitan y tipo de colegio al que asisten. Ecuador, 2006

Variable	%	P<	O.R.	I.C. 95%
Sexo Femenino (1 461)	21,5	0.02	1.24	1.03-1.50
Sexo Masculino (n=1 368)	20,8			
Región Costa (1 435)	24,7	0.000	1.48	1.23-1.79
Región Sierra (1 394)	17,7			
Colegio Privado (1 036)	25,3	0.000	1.46	1.21-1.76
Colegio Público (1 793)	18,9			

O.R.= razón de productos cruzados I.C. = intervalo de confianza

DISCUSION

Hasta comienzos del Siglo XXI en el Ecuador no había un solo estudio nacional representativo que informara de la magnitud y características del exceso de peso (sobrepeso y obesidad) en niños, adolescentes, jóvenes, adultos, ni ancianos. Es a partir del año 2.000 que se realizaron en el país los primeros estudios de carácter nacional, para establecer específicamente la prevalencia del sobrepeso y la obesidad en escolares (15, 19). El estudio en escolares, del año 2.001, tuvo como universo, 93.105 niños y niñas entre 7,5 a 8,5 años de edad matriculados en 2.121 escuelas públicas y privadas de las ocho principales ciudades ecuatorianas de la Costa y la Sierra: Ambato, Cuenca, Guayaquil, Manta, Machala, Santo Domingo de los Colorados y Quito. La muestra representativa nacional estuvo conformada por 1.866 escolares. En ese estudio se demostró que la prevalencia de exceso de peso fue del 14%: 8% con sobrepeso y 6% con obesidad. El exceso de peso fue más común en los niños de las escuelas privadas (20,6%) que en los de las escuelas públicas (10,4%) y también fue más frecuente en las mujeres (15,4%) que en los varones (12,2%). Es de interés anotar que en ese estudio con escolares, los problemas de malnutrición por exceso se acercaron en magnitud a los de deficiencia nutricional: 16% en los niños de la muestra (15,19).

Es evidente entonces que el bajo peso era en el año 2.001 el problema dominante en los escolares ecuatorianos; no así en los adolescentes del presente estudio, en quienes el exceso de peso superó al bajo peso. Sin embargo, en ambos grupos etarios coexisten los dos problemas, bajo peso y exceso de peso, tornándose así los problemas de malnutrición por déficit y por exceso en una doble carga para las familias, la sociedad y el Estado.

Tanto en los niños como en los adolescentes ecuatorianos, el exceso de peso es más frecuente en aquellos que estudian en escuelas y colegios del régimen privado, pertenecientes generalmente a estratos socio-económicos medios y altos, pero está presente también en los niños y adolescentes que provienen de familias de estratos bajos, pobres en su mayoría, que asisten a las escuelas y colegios fiscales. Consideramos que la obesidad en la pobreza (22) es un hecho manifiesto en el Ecuador. Diez de cada cien escolares y casi diecinueve de cada cien colegiales que estudian en escuelas y colegios fiscales (gratuitos), en su gran mayoría hijos de familias empobrecidas, tienen exceso de peso.

Es también evidente que la mayor prevalencia de exceso de peso, tanto en escolares como en adolescentes, corresponde a las ciudades de la Costa ecuatoriana. Estudios puntuales realizados por la Sociedad Ecuatoriana de Ciencias de la Alimentación y Nutrición –SECIAN– señalan que el elevado consumo de bebidas azucaradas, el escaso consumo de frutas y verduras y los hábitos sedentarios (más de 28 horas semanales de mirar televisión), que caracterizan a los niños y adolescentes de la región costanera, podrían estar involucrados en la elevada prevalencia del exceso de peso en dicha región, cosa que es significativamente menor en la Región Andina (23-25).

Es de interés comparar los presentes resultados con la situación epidemiológica de los países vecinos con el propósito de establecer semejanzas y diferencias que permitan prevenir y tratar el problema de exceso de peso. Aproximadamente el 15% de adolescentes venezolanos tienen exceso de peso. El sobrepeso afecta más a las adolescentes mujeres (16%) que a los varones (14%) mientras que la obesidad es mayor en los varones (2%) que en las mujeres (1,6%). En Venezuela el exceso de peso predomina en las zonas urbanas, particularmente en las áreas metropolitanas de Caracas y Zulia (26). Datos del 2005 indican que en Colombia, el exceso de peso en adolescentes (10 a 17 años) alcanzó al 10,3%. El exceso de peso fue más frecuente en las áreas urbanas (11,6%) que en las áreas rurales (7,2%) y fue más común en adolescentes mujeres (12,3%) que en los varones (8,1%; 27). En un estudio reportado en el 2.003 en el Perú, se demostró que el sobrepeso y la obesidad fueron mayores en las ciudades de la Costa peruana que en las ciudades de la Región Andina y la Amazonía. La mayor prevalencia de exceso de peso se presentó en Lima en donde el 31,6% de adolescentes varones

tuvieron sobrepeso y el 7,2% obesidad, mientras que el 20,8% de adolescentes mujeres tuvieron sobrepeso y 18,8% obesidad (28). En ese estudio también se determinó que el exceso de peso fue más frecuente en las adolescentes de nivel socio-económico alto. Ciertamente que no es posible hacer una comparación que refleje con fidelidad las particularidades del sobrepeso y obesidad de los adolescentes ecuatorianos frente a sus pares de los países andinos mencionados, puesto que hay diferencias metodológicas evidentes entre los respectivos estudios. En todo caso destacamos que el problema está presente en todos estos países, predominando en área urbana, por lo cual proponemos realizar esfuerzos conjuntos para homologar metodologías tanto para el diagnóstico como para el diseño de las estrategias más aconsejables para prevenir el exceso de peso en los niños, niñas y adolescentes de la región.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a las autoridades de los colegios y a todos los estudiantes participantes; a Ricardo Checa, Johanna Granda, Gabriela Loza, Catherine Paredes y Julieta Robles por su asistencia técnica en la ejecución del proyecto y a Martha Cecilia Yépez por la lectura crítica del manuscrito.

REFERENCIAS

- Fontaine K, Redden D, Wang C, Westfall A, Allison D. Years of life lost due to obesity. *JAMA*. 2003; 289:187-193.
- WHO (World Health Organization). Global strategy on diet, physical activity and health. 2004. (Geneva: WHO, Fifty-seventh World Health Assembly, Resolution WHA57.17)
- Hossain P, Kawar B, Nahas M. Obesity and diabetes in the developing world - a growing challenge. *N Engl J Med*. 2007; 356:213-215.
- Hoerger TJ, Ahmann AJ The impact of diabetes and associated cardiometabolic risk factors on members: strategies for optimizing outcomes. *J Manag Care Pharm*. 2008;14:S2-14.
- Yach D, Stuckler D, Brownell K. Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes. *Nat Med*. 2006; 12:62-66.
- Speakman J. Obesity: the integrated roles of environment and genetics. *J Nutr*. 2004;134:2090S-2105S.
- Farooqi I, Rahilly S. Genetic factors in human obesity. *Obesity Review*. 2007; 8 (Suppl. 1):37-40.
- James PT. Obesity: the worldwide epidemic. *Clin Dermatol*. 2004; 22:276-280.
- Smyth S, Heron A. Diabetes and obesity: the twin epidemics. *Nat Med*. 2006; 12:75-80.
- Ogden CL, Flegal KM, Carroll MD, Johnson CL. Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000. *JAMA*. 2006; 288:1728-32.
- Ogden C, Carroll M, Curtin L, McDowell M, Tabak C, Flegal K. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA*. 2006; 295:1549-55.
- Eberwine D. Perspectivas de salud, Globesidad: una epidemia en apogeo. *Rev Org Panam Sal*. 2002; 7 (3).
- Gutiérrez-Fisac JL. La obesidad infantil: un problema de salud y medición. *Nutrición y Obesidad*. México. 1999; No.2.
- Nicols E, Caballero B. Las enfermedades crónicas no transmisibles: su prevención en la adolescencia. *La Salud del Adolescente y el Joven en las Américas*. Washington DC:OPS, Publicación Científica. 2003; No. 489.
- Yépez R. La obesidad en el Ecuador en tempranas edades de la vida. *Rev Fac Ciencias Médicas*. 2005; 30: 20-24.
- Bowman B, Russell R. Conocimientos actuales sobre nutrición. Washington DC: OPS, Publicación Científica. 2003; No. 592.
- INTA (Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos). Obesidad desde la infancia. INTA [serial on the Internet]. 2005. Available from: http://www.inta.cl/revista/detalle.asp?codigo_revista=2&Id=2 (acceso 12 Marzo, 2008)
- OPS (Organización Panamericana de la Salud). Régimen alimentario, nutrición y actividad física. Washington DC: OPS. 2003.
- Yépez R. Obesidad. Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS) 2007. La equidad en la mira: la Salud Pública en Ecuador durante las últimas décadas. Quito: OPS/MSP/CONASA. 2007.
- Dietz W, Robinson T. Clinical Practice. Overweight in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2005; 352(20):2100-9.
- Dietz W. Critical periods in childhood for the development of obesity. *Am J Clin Nutr*. 1994; 59:955-9.
- Peña M, Bacallao J. Obesidad en la pobreza. Washington DC:OPS, Publicación Científica No. 576. 2000.
- Montalbán M. Régimen alimentario y actividad física de niños y adolescentes escolarizados de la ciudad de Guayaquil. Memorias de las Jornadas Nacionales de la SECIAN. [CD-ROM]. Quito. 2005.
- Segarra E. Régimen alimentario y actividad física de niños y adolescentes escolarizados de la ciudad de Cuenca. *Rev Fac Ciencias Médicas*. U. Cuenca. 2006; 27:67-74.
- Alvear J. Régimen alimentario y actividad física de niños y adolescentes escolarizados de la ciudad de Quito. Memorias de las Jornadas Nacionales de la SECIAN. [CD-ROM]. Quito. 2005.
- FAO. Perfil Nutricional por Países -Venezuela- FAO. Roma. 2000.
- Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia. Bogotá. 2005.
- Pajuelo J, Mosquera Z, Quiroz R, Santolalla M. El sobrepeso y la obesidad en adolescentes. *Diagnóstico*. 2003; 42:17-22.

Recibido:12-03-2008

Aceptado:27-06-2008

Efecto de la recuperación nutricia sobre la concentración de Interleucina-2 en niños con desnutrición grave

Edgar Vásquez-Garibay, Katja Stein, Concepción Méndez-Estrada, Elías Pérez-Becerra, Enrique Romero-Velarde, Isabel Ibarra Gutiérrez, Miguel Ángel Ortiz Ortega, Trinidad García Iglesias

Instituto de Nutrición Humana & Laboratorio de Inmunología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara; Unidad de Estudios de Nutrición Infantil, Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca"; Unidad de Patología Clínica AC, Guadalajara, Jalisco, México

RESUMEN. El niño con desnutrición grave tiene una disfunción de la respuesta inmune que puede aumentar de manera significativa la morbilidad y la mortalidad por infecciones. Por ello, el objetivo del presente estudio fue demostrar el efecto del apoyo nutricional intensivo en la concentración en suero y celular de IL-2 y sub-poblaciones de células CD4⁺, y CD8⁺ T en niños con desnutrición proteínico-energética grave. En un ensayo clínico se incluyeron 10 niños con desnutrición primaria grave, menores de 48 meses de edad, quienes recibieron una fórmula sin lactosa por alimentación enteral continua por dos semanas y dos semanas más *ad libitum*. Se obtuvieron la concentración sérica y celular de IL-2 y las sub-poblaciones de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ en los casos y en un grupo control (n = 13). Con la prueba t de student pareada se compararon los valores inicial vs. final de los sujetos y se utilizó la prueba U-Mann-Whitney para la comparación con el grupo control. Se rechazó la hipótesis nula con una p < 0,05. Se observó un incremento notable inicial vs. final en el porcentaje de expresión celular de IL-2 (p < 0,001) y en la concentración sérica de esta citocina (p = 0,001). Por tanto, cuatro semanas de apoyo nutricional intensivo fueron suficientes para mostrar un incremento significativo en la producción de IL-2, independientemente de los nutrientes involucrados, aunque aparentemente este incremento dependió de la gravedad de la DPE.

Palabras clave: Niños, desnutrición, recuperación nutricia, IL-2.

INTRODUCCION

La etapa lactante se caracteriza por un crecimiento muy acelerado, gran demanda de nutrientes y una mayor susceptibilidad a la Desnutrición Proteínico-Energética (DPE) primaria grave, enfermedad endémica que padecen aún millones de seres humanos en países subdesarrollados (1, 2). La DPE grave afecta la inmunidad celular, la producción de anticuerpos, la secreción de IgA y la producción de citocinas (3). También se ha observado depleción marcada de linfocitos CD4⁺ (4), afectación en la producción de linfocitos, la fagocitosis, la actividad microbicida y la producción de Interleucina-2 (IL-2) (2, 5). La IL-2, es un factor de crecimiento producido por estimulación antigénica de los

SUMMARY. Effect of the nutritional recovery on the concentration of Interleukin-2 in severely malnourished children.

The severely malnourished child has dysfunction of the immune response that may increase the risk of morbidity or mortality due to infectious diseases, therefore, the purpose of this study was to demonstrate the effect of intensive nutritional support on the cellular and serum concentration of IL-2 and CD4⁺, as well as CD8⁺ T cells in children with severe protein energy malnutrition. A clinical assay was carried out in a tertiary care hospital. 10 severely malnourished children < 48 months of age who received formula without lactose via enteral feeding for two weeks and *ad libitum* for an additional two weeks were included. Cellular and serum concentrations of IL-2 and the subpopulation of CD4⁺ and CD8⁺ were obtained. A control group (n = 13) was included. A paired student t test for initial-final determinations and the Mann-Whitney Test for comparison with control group were used, and null hypothesis was rejected with a p value < 0,05. There was a noteworthy increase in the comparison between the initial vs. final percentage of the cellular expression of IL-2 (p < 0,001) and in the serum concentration of IL-2 (p = 0,001). Therefore, four weeks of nutritional recovery significantly restored the production of IL-2, independently of the nutrients involved in the process, although, the rate of restoration seems to depend on the severity of the children primary PEM.

Key words: Children, malnutrition, nutritional recovery, IL-2.

linfocitos T y es producida por las sub-poblaciones de CD4⁺ T y en menor medida de CD8⁺. La IL-2 es responsable de la proliferación de células antígeno-específicas y de su mecanismo autócrino. También puede funcionar como un factor de crecimiento parácrino, estimulando las células T adyacentes mientras que promueve la producción y diferenciación de otras células inmunológicas, particularmente la función citolítica de las células asesinas (6).

Por tanto, el propósito de esta comunicación es reportar el efecto de cuatro semanas de apoyo nutricional intensivo sobre la producción celular de IL-2, su concentración sérica y la proliferación de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ T en niños con DPE primaria grave.

SUJETOS Y METODOS

Se llevó a cabo un ensayo clínico no aleatorizado, de casos consecutivos, donde se incluyeron solo niños que habían sido recién nacidos de término, con peso al nacer > 2500 g, de seis a 48 meses de edad, con DPE primaria grave. Cuando los niños presentaron los índices peso/edad y peso/longitud abajo de - 3 DE de la mediana de referencia (7, 8), o cuando presentaban edema o el cuadro clínico de kwashiorkor o marasmo-kwashiorkor independientemente del déficit peso/edad o peso/longitud fueron incluidos en el estudio. La DPE se definió como primaria cuando la causa de la desnutrición fue una inadecuada e insuficiente ingestión de nutrimentos asociada o no a infecciones repetidas de vías respiratorias superiores o episodios diarreicos frecuentes.

El ensayo clínico se realizó una vez que las condiciones iniciales de gravedad se habían estabilizado y los niños se encontraban libres de infección, diarrea o cualquier enfermedad que pudiera alterar la recuperación nutricia. Los sujetos fueron alimentados con una fórmula láctea de inicio sin lactosa (Nestlé®) con la adición de miel de maíz para incrementar la densidad energética a ~ 0,8 kcal/mL. Al inicio se incluyeron 16 sujetos. Tres fueron excluidos por las siguientes razones: mucoviscidosis, diagnosticada dos semanas después del ingreso, otro por deterioro de su desnutrición y uno más por fallecimiento. Tres fueron excluidos por dificultades técnicas de laboratorio. Con el propósito de comparar los indicadores de respuesta inmune con un grupo testigo, se incluyeron 13 niños no desnutridos, sanos de 12 a 48 meses de edad que acudieron de manera espontánea a la consulta externa del mismo hospital por entidades no infecciosas o enfermedades crónicas que pudieran influir los resultados.

Variables dependientes

Leucocitos cel/ μ L, linfocitos (%), células T CD4⁺ y CD8⁺ (%), proporción CD4⁺/CD8⁺, porcentaje de expresión intracelular de IL-2 y concentración sérica de IL-2 (pg/mL).

Variables independientes e intervinientes

La fórmula láctea de inicio sin lactosa; (Nestlé®), edad (meses); sexo (M/F), el período de recuperación nutricia, tipo de desnutrición, con edema, peso/edad y peso/longitud > - 3 DE (kwashiorkor); con edema, peso/edad y peso/longitud < - 3 DE (marasmo-kwashiorkor) y sin edema, peso/edad, y peso/longitud < - 3 DE (marasmo).

Administración de la fórmula

La fórmula fue colocada en una bolsa de alimentación de 500 mL (Pisa®) e introducida mediante un tubo de alimentación naso-gástrica (D-731 o 732, Desvar de Mexico, S.A.) y dada al niño con bomba de infusión continua (Braun®).

Después del 5° día se incrementó la cantidad de fórmula para suministrar alrededor de 200 kcal/kg/d de energía y 4 g/kg/d de proteínas. Al inicio de la tercera semana, fueron alimentados *ad libitum* con biberón y los niños mayores de 12 meses iniciaron con alimentación complementaria en papilla (cereal, y/o verduras mezcladas con la misma fórmula). Antes y después de cada alimentación el biberón con fórmula y el recipiente con la alimentación complementaria fueron pesados en una balanza analítica (Ohaus®). Cada día se calculó la ingestión total de fórmula, alimentación complementaria, energía y proteínas.

La cantidad de fórmula administrada aseguró la cantidad de agua, energía, proteínas y otros nutrimentos durante las dos semanas de alimentación enteral por lo que no se suministraron otros alimentos. Esto se debió a que en este periodo incluso en lactantes mayores de 12 meses de edad con DPE primaria grave tienen un índice peso/edad muy bajo y prácticamente todos rechazan los alimentos por hiporexia extrema o porque la alimentación por vía oral es muy pobre. Desde el primer día todos los niños recibieron una dosis oral de vitaminas (1 mL) (vitamina A 5000 UI, vitamina D 1000 UI, vitamina C 50 mg, tiamina 1 mg, riboflavina 0,8 mg, niacina 6 mg) y ácido fólico (0,5 mg). A partir del sexto día se agregó hierro elemental a dosis de 3 mg/kg. Después, dependiendo del nuevo peso, se ajustó la ingestión de energía y proteínas a 200/Kcal/d y 4 g/kg/d respectivamente.

Mediciones antropométricas

Al inicio del estudio y después cada semana se llevaron a cabo las siguientes mediciones por dos observadores entrenados y calificados (EVG, KS): Todos los niños fueron pesados y medidos con el mismo procedimiento. Peso: los sujetos fueron pesados sin ropa en una báscula calibrada (Bame model 440, México, con mínimo de 5 g). La longitud de cada sujeto se obtuvo mediante un infantómetro con una lectura cercana a 0,1 cm como se ha descrito (9). Se calcularon los índices peso/edad, longitud/edad y peso/longitud y se expresaron en puntuaciones Z.

Procesamiento de muestras

Las muestras de sangre fueron obtenidas a las 07:00 am por veno-puntura ante-cubital y colectadas en el siguiente orden: Primero, antes del inicio de la intervención, después a las cuatro semanas (dos semanas de alimentación enteral y dos semanas de alimentación *ad libitum*). Se incluyó un grupo control en las condiciones previamente descritas. Se obtuvo sangre periférica para obtener células mono-nucleares a través de gradiente de separación Lymphoprep con una densidad de 1,007 (Nycomed™) y lavadas dos veces con una solución salina buffer de fosfatos (PBS) e inmediatamente después se realizó el cultivo de células. En cada experimento las células mono-nucleares de los sujetos de estudio se compararon con un control.

Citometría de flujo

Para evaluar la expresión de las sub-poblaciones CD4⁺ y CD8⁺, se tomaron 100 µL de sangre total heparinizada y se adicionaron 5µL de anticuerpos monoclonales conjugados con fluoro-cromos: Isotiocianato de fluoresceína (FITC) para el anticuerpo CD3⁺ y fico-eritrina (PE) para CD4⁺. Como control se utilizaron isotipos tipo IgG1 conjugados con los fluoro-cromos previamente descritos, se incubaron durante 20 min. y posteriormente se utilizó un Kit buffer de lisis inmuno-prep (anticuerpos y buffer todos de Beckman- Coulter™). Los resultados se evaluaron por citometría de flujo en un equipo Beckman Coulter EPIX-XL-5 y descritos como porcentaje de expresión.

Cultivo celular y estimulación

Para evaluar la expresión de la IL-2 en células T se realizaron cultivos de células mono-nucleares purificadas con el gradiente previamente descrito. Se sometieron a cultivo durante seis horas en medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con 10% de suero fetal de bovino (SIGMA™), antibiótico 10 U/mL penicillina, 10 µg/mL estreptomina (GIBCO™), y estimulada con PMA (SIGMA™) 50 ng/mL, Ionomicina (SIGMA™) 1 µg, y se adicionaron 250 µg/mL de Ionophoro A (SIGMA™) 23187. A las células estimuladas se adicionaron 5 µL de anticuerpo CD3⁺ conjugada con FITC; posterior a dos lavados se agregó solución buffer de permeabilización que contiene saponina al 0.1% y se incubó por 5 min. Posteriormente, se adicionaron 5 µL de anticuerpo anti IL-2 con fluoro-cromo de PE; las células se lavaron y fijaron con formaldehído al 0.05% y los resultados fueron obtenidos por citometría de flujo en un citómetro (Beckman Coulter EPIX-XL-5).

ELISA

La concentración sérica de IL-2 se cuantificó mediante Kit de Elisa de alta sensibilidad de (R&D™) y se tomó la lectura en un lector de ELISA; los resultados fueron expresados en pg/mL.

Análisis estadístico

Se obtuvieron estadísticas descriptivas y se utilizó la prueba t de Student pareada para la comparación inicial vs. final de los sujetos estudiados y la prueba no-paramétrica Mann Whitney U-Test para la comparación de los sujetos vs. Grupo control en los dos estadios (inicial y final) del ensayo clínico considerando la dispersión de las varianzas. Se utilizaron los programas Excel, Epi-Info 2000, versión 1,0 y SPSS-10 para Windows para la captura, procesamiento y análisis de datos. Se rechazó la hipótesis nula con una $p \leq 0,05$.

Consideraciones éticas

El protocolo para el ensayo clínico fue enviado y aprobado por el Comité de Bioética del Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca". Los padres o personas legalmente responsables fueron informados del protocolo de estudio y una vez seleccionados fueron admitidos en la sala metabólica de la Unidad de Estudios de Nutrición Infantil. Los niños quedaron a cargo de personal especializado las 24 horas del día.

RESULTADOS

Cuatro sujetos presentaron marasmo, tres marasmokwashiorkor y tres kwashiorkor sin observar diferencias en las concentraciones de IL-2 y sub-poblaciones de linfocitos entre los tres tipos de desnutrición, probablemente por el pequeño número de sujetos en cada grupo. La Tabla 1 muestra las características físicas de los sujetos y controles y los índices antropométricos. La edad promedio fue de $20,9 \pm 9,8$ y $25,7 \pm 12,1$ meses de edad en los sujetos y grupo control respectivamente. La comparación de los valores iniciales de expresión de IL-2 (%) y concentración sérica de IL-2 (pg/mL), mostraron que fueron significativamente menores en los sujetos vs. controles ($p = 0,013$), Tabla 2. En la comparación de los valores finales la concentración sérica de IL-2 (pg/mL) permaneció más baja en los sujetos vs. controles ($p = 0,013$), Tabla 3. El cambio más relevante fue el incremento significativo inicial vs. final de IL-2 (%) y suero IL-2 (pg/mL), Tabla 4.

TABLA 1
Características físicas de los sujetos. Promedio \pm DE *

Indicador	Casos (n = 10)		Controles (n = 13)	
Edad (meses)	20,9	9,8	25,7	12,1
Peso (g)				
Al inicio	6441	1230	12006	3460
Cuatro semanas	9039	1704		
Longitud (cm)				
Al inicio	71,2	4,4	83,9	11,3
Cuatro semanas	72,8	4,2		
Peso / Edad (Z)				
Al inicio	- 3,87	0,77	- 0,31	1,12
Cuatro semanas	- 1,86	0,88		
Longitud / edad (Z)				
Al inicio	- 3,18	1,12	- 0,60	0,86
Cuatro semanas	- 2,89	1,07		
Peso / longitud (Z)				
Al inicio	- 2,81	0,83	0,14	1,18
Cuatro semanas	- 0,25	0,95		

* Promedio \pm Desviación estándar

TABLA 2

Sub-poblaciones de linfocitos e IL-2. Comparación inicial:
Promedio \pm EEM *

Indicador	Casos (n = 10)		Controles (n = 13)	
Leucocitos (cel/ μ L)	11970	1670	8938	874
Linfocitos (%)	45,6	5,1	49,4	3,1
CD4+ (%)	42,3	2,7	44,5	4,1
CD8+ (%)	23,4	1,7	25,8	2,8
CD4/CD8	1,89	0,18	2,15	0,49
IL-2 (cel/ μ L)	558 ‡	109	1132	174
IL-2 (%)	12,1 †	2,5	25,0	1,9
IL-2 Sérica (pg/mL)	26,4 **	10,4	109,5	6,7

* Promedio \pm Error estándar del promedio

Casos vs. controles, ‡ p = 0,013; † p = 0,002; ** p < 0,001

TABLA 3

Sub-poblaciones de linfocitos e IL-2. Comparación final:
Promedio \pm EEM *

Indicador	Casos (n = 10)		Controles (n = 13)	
Leucocitos (cel/ μ L)	10880	1251	8938	874
Linfocitos (%)	49,1	3,0	49,4	3,1
CD4+ (%)	37,6	2,4	44,5	4,1
CD8+ (%)	25,5	2,4	25,8	2,8
CD4/CD8	1,67	0,29	2,15	0,49
IL-2 (cel/ μ L)	1079	146	1132	174
IL-2 (%)	23,0	3,9	25,0	1,9
IL-2 Sérica (pg/mL)	79,0 ‡	21,8	109,5	6,7

* Promedio \pm Error estándar del promedio; ‡ Casos vs. Controles, p = 0,013;

TABLA 4

Sub-poblaciones de linfocitos e IL-2. Comparación Inicial
vs. Final. Promedio \pm EEM *
Casos (n = 10)

Indicador	Inicial		Final		P
Leucocitos (cel/ μ L)	11970	1670	10880	1251	0,524
Linfocitos (%)	45,6	5,1	49,1	3,0	0,377
CD4+ (%)	42,3	2,7	37,6	2,4	0,178
CD8+ (%)	23,4	1,7	25,5	2,4	0,325
CD4 / CD8	1,89	0,18	1,67	0,29	0,054
IL-2 (%)	12,1	2,5	23,0	3,9	0,000
IL-2 (cel/ μ L)	558	108	1080	146	0,000
IL-2 (sérica ng/mL)	26,4	10,4	79	21,8	0,001

* Error estándar del promedio

DISCUSION

Después del periodo de recuperación nutricia la concentración sérica de IL-2 (pg/mL) en el grupo de casos permaneció persistentemente más baja que en los controles. Sin embargo, la elevación significativa de los valores de expresión de IL-2 (%) y la concentración sérica de IL-2 (pg/mL) al finalizar las cuatro semanas de recuperación nutricia sugieren que una adecuada recuperación nutricia tiene una influencia decisiva en este proceso pro-inflamatorio de respuesta inmune en lactantes y preescolares con DPE grave, independientemente de reconocer cuál o cuáles son los nutrimentos que más influyen en esta mejoría. Asimismo, se observó una proporción mayor, casi significativa (p = 0,054) de linfocitos T CD4⁺ sobre CD8⁺. Es sabido que estos niños con desnutrición grave están sometidos a la estimulación de múltiples antígenos lo cual activa la secreción de IL-2, y en consecuencia propicia la expansión clonal y la diferenciación celular con acción efectora de las células CD4⁺ sobre macrófagos y linfocitos B, células encargadas de la inmunidad innata y humoral (6).

Se ha observado que bajo condiciones normales de nutrición algunos nutrimentos específicos pueden afectar la concentración de citocinas en seres humanos (10, 11). Lofty et al (12) estudiaron 40 niños, de cinco a 20 meses de edad con DPE grave y 20 niños sanos con buen estado nutricional. Encontraron que las células mono-nucleares de pacientes con DPE produjeron menos IL-1 e IL-2 aunque el número total de linfocitos en estos pacientes era significativamente más elevada que en los niños sanos, indicando que el daño en niños con DPE grave es más numérico que funcional. Asimismo, se ha observado que la suplementación con Vitamina E (presente en la fórmula utilizada), tanto en roedores como en adultos sanos, aumenta la proliferación de linfocitos inducidos por mitógenos, la producción de IL-2 y la proporción y la proliferación de células T CD4⁺/CD8⁺ (13-16). Por otra parte, la disminución de la respuesta inmune mediada por células y el incremento en la frecuencia de infección en sujetos deficientes de zinc podría ligarse al efecto del Zinc en la producción de citocinas, especialmente IL-2 (17). Los niños que reciben suplementación con Zinc tienen un número significativamente mayor de células CD4⁺CD3⁺ en sangre periférica y una mejoría en la inmunidad mediada por células T (18). El Zinc contenido en la fórmula utilizada fue de 0,75 mg/100 kcal.

La evaluación de marcadores de respuesta inmune durante el proceso de recuperación nutricia en niños con DPE primaria grave nos permite entender cómo ciertos métodos de manejo dietético, o bien el uso de alimentos o nutrimentos específicos pueden influir significativamente en la respuesta inmune de una manera directa o indirecta. Esta evaluación nos permitiría identificar cuáles marcadores podrían ser utilizados como

indicadores de recuperación de la DPE primaria grave durante el periodo de apoyo nutricional intensivo. Sin embargo, el reto principal implica reconocer que las adecuaciones nutrimentales o el uso de ciertos alimentos probablemente modifiquen más de un aspecto de la respuesta inmune (19), por lo cual sería necesario controlar el papel que cada nutriente desempeña en los mecanismos de respuesta inmune sin desconocer los efectos potenciales de interacción entre los distintos nutrientes. Desde luego que el estudio de cada nutriente por separado sería prácticamente imposible en humanos y éticamente inadmisibles.

En conclusión, el presente estudio demostró la hipótesis alterna de que un periodo de cuatro semanas de apoyo nutricional intensivo y adecuado con dos semanas de alimentación enteral continua y dos semanas de alimentación *ad libitum*, con el uso de una fórmula láctea de inicio sin lactosa diseñada para lactantes, fue capaz de restaurar la capacidad de expresión celular y mejorar significativamente la concentración sérica de IL-2. No obstante, después del periodo de estudio (cuatro semanas) la concentración sérica de IL-2 fue aún significativamente menor que en los controles de la misma edad. Por tanto, es probable que: a) Se requiera más tiempo para que un niño con DPE primaria grave restaure totalmente la respuesta inmune, especialmente aquella donde participen mediadores como la IL-2; b) Que sea necesario utilizar suplementos con uno o más nutrientes específicos que tengan una influencia directa sobre la producción de IL-2; y c) Que la velocidad de restauración total de la respuesta inmune dependa de la gravedad de la desnutrición del niño.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen sinceramente la dedicación y la asistencia mostrada por las enfermeras de la sala metabólica María Martha Ruelas Buenrostro y Angélica Manzo Deniz, y el excelente apoyo técnico de la Srta. Zaira Isabel Olguín Maciel.

REFERENCIAS

1. Fomon SJ and Nelson SE. Size and growth. En: Fomon SJ. Ed. Nutrition of Normal infants. St Louis, USA: Mosby Year Book, Inc. 1993: pp. 36-83.
2. UNICEF. Estado mundial de la infancia. Ed C. Bellamy. Ginebra., 1998
3. Chandra RK. Protein-energy malnutrition and immunological response. J Nutr. 1992; 52: 462-67.
4. Pizzini RP, Kumari S, Kulkarni AD, Rudolph FB and Van Buren CT. Dietary nucleotides reverse malnutrition and starvation-induced immunosuppression. Arch Surg. 1990; 12: 86-90.
5. Vásquez-Garibay E, Campollo O, Romero VE, Méndez EMC, García IMT, Alvizo MJE et al. Effect of renutrition on natural and cell-mediated immune response in infants with severe malnutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2002; 34: 296-301.
6. Abbas AK and Lichtman AH. Cellular and Molecular Immunology, 5th Edition. Philadelphia, PA, USA: Saunders, 2003: pp. 165, 243-247, 264-266.
7. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana. NOM-031-SSA2-1999, para la atención a la salud del niño. Diario Oficial de la Federación, 22 de septiembre de 2000: pp. 1-42.
8. World Health Organization. Measuring change in nutritional status. Guidelines for assessing the nutritional impact of supplementary feeding programmes for vulnerable groups. Geneva, 1996.
9. Fomon SJ. Nutritional disorders of children. Rockville, Maryland: US Department of Health, Education and Welfare, Bureau of Community Services. 1977: pp. 1-66.
10. Mire-Sluis AR, Gaines-Das R and Thorpe R. Immunoassays for detecting cytokines: what are they really measuring? J Immunol Methods 1995; 186: 157-160
11. Beisel WR (1995). Herman Award Lecture, 1995: infection-induced malnutrition—from cholera to cytokines. Am J Clin Nutr. 1995; 62: 813-9.
12. Lotfy OA, Saleh WA and Barbari M. A study of some changes of cell-mediated immunity in protein energy malnutrition. J Egypt Soc Parasitol. 1998; 28: 413-28.
13. Meydani SN, Meydani M, Blumberg JB, Leka LS, Siber G, Loszewski R et al. Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy elderly subjects. A randomized controlled trial. J Am Med Assoc. 1997; 277: 1380-1386.
14. Lee CY and Man-Fan WJ (1997): Vitamin E supplementation improves cell mediated immunity and oxidative stress of Asian men and women. J Nutr. 1997; 130: 2932-37.
15. Moriguchi S and Itoh T. Vitamin E enhances T cell differentiation through increased epithelial cell function in rat thymus. Nutr Res. 1997; 17: 873-883
16. Sakai S and Moriguchi S. Long-term feeding of high vitamin E diet improves the decreased mitogen response on the rat splenic lymphocytes with aging. J Nutr Sci Vitaminol. 1997; 43: 113-122.
17. Winttergerst ES, Maggini S, Horning DA. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. Ann Nutr Metab. 2006; 50(2): 85-94.
18. Sasawal S, Jalla S, Mazumder S, Sinha A, Black RE and Bhan MK. Zinc supplementation on cell-mediated immunity and lymphocyte subsets in preschool children. Indian Pediatr. 1997; 34: 589-597.
19. Field CJ, Thomson CA, Van Aerde JE, Parrott A, Euler A, Lien E and Clandinin MT. Lower proportion of CD45R0+ cells and deficient interleukin-10 production by formula-fed infants, compared with human-fed, is corrected with supplementation of long-chain polyunsaturated fatty acids. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2000; 31: 291-99.

Recibido: 05-03-2008

Aceptado: 14-06-2008

Arroz parboilizado efeito na glicemia de ratos *Wistar*

Elizabete Helbig, Álvaro Renato Guerra Dias, Rafael Aldrighi Tavares, Manoel Artigas Schirmer, Moacir Cardoso Elias

Universidade Federal de Pelotas – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Pelotas, RS, Brasil

RESUMO. O amido é uma importante fonte energética podendo representar mais de 60% da ingestão calórica na dieta humana. A fração do amido, que é resistente à digestão enzimática, é denominada de amido resistente. Na parboilização de arroz ocorre a retrogradação do amido, com a formação do amido resistente tipo 3 (retrogradado), que apresenta efeitos benéficos à saúde, por atuar como prébiótico. Neste estudo, três amostras de arroz com alta, média e baixa amilose foram selecionadas, com o objetivo de avaliar o efeito de arroz convencional e parboilizado na glicemia de ratos *Wistar*. As amostras com alta e média amilose foram encharcadas durante 6h a 65°C e a amostra com baixa amilose durante 7h a 70°C, posteriormente foram autoclavadas em pressão 0,7 kgf.cm⁻² durante 10 minutos. Utilizou-se 6 ratos *Wistar*, machos, adultos por tratamento. Foram elaboradas 7 dietas experimentais, formuladas de acordo com AIN-93M, dieta controle e, dietas com substituição da fonte de carboidratos por arroz convencional e parboilizado. Determinou-se amido resistente nas dietas e a glicemia foi monitorada por leitura de glicofita, com sangue da parte distal da cauda do rato. Para a curva glicêmica as medidas de glicemia foram feitas em jejum, e ao longo de 90 minutos. Os resultados indicam que não foram encontradas diferenças significativas entre as dietas formuladas com arroz de alta, média e baixa amilose, parboilizado ou convencional na glicemia de jejum e pós-prandial de ratos *Wistar*.

Palavras-chave: Arroz, amido resistente, amilose, parboilização, glicemia, rato.

INTRODUÇÃO

Os carboidratos têm um papel fisiológico essencial para o organismo. A taxa de digestão e absorção pode ser determinada pelo controle metabólico, sendo de grande interesse a utilização biológica dos carboidratos na alimentação humana, especialmente o amido e seu efeito na resposta glicêmica (1). A baixa digestão e absorção de carboidratos são favoráveis na manutenção de desordens metabólicas tais como no diabetes e na hiperlipidemia. Neste contexto, o tratamento de diabetes não-insulino-dependente e a variabilidade na digestibilidade do amido de arroz tem particular interesse (2,3). O arroz é um dos cereais mais cultivados, e um dos principais alimentos energéticos da dieta da população brasileira, sendo consumido preferencialmente na forma de grãos brancos polidos, obtidos por processo convencional de industrialização, apresentando limitado conteúdo de fibra alimentar. O consumo de arroz parboilizado tem crescido substancialmente nos últimos anos,

SUMMARY. The effect of parboiled rice on glycemia in *Wistar rats*. Starch is an important energy source and can represent more than 60% of the calories of the human diet. The starch fraction resistant to enzymatic digestion is called resistant starch. When rice is parboiled, the starch retrogrades with the formation of type 3-resistant starch (retrograded), which presents beneficial effects on the health, since it acts as a prebiotic. In the present study three types of rice were selected, with high, medium and low amylose contents, with the objective of evaluating the effects of conventional and parboiled rice on glycemia in *Wistar rats*. The samples with high and medium amylose contents were soaked for 6 h at 65°C, and the low amylose sample for 7 h at 70°C. The samples were subsequently autoclaved for 10 minutes at 0.7kgf.cm⁻². Six male *Wistar rats* were used for each treatment. Seven experimental diets were elaborated, formulated according to AIN-93M, the control diet and diets substituting the carbohydrate source with conventional or parboiled rice. Resistant starch was determined in the diets and glycemia monitored using glucose paper strips, the sample being blood obtained from the distal part of the rat's tail. For the glycemic curve, glycemia was measured in the fasting state and during 90 minutes post-prandial. The results indicated there were no significant differences between the diets formulated with high, medium and low amylose, parboiled or conventionally prepared, with respect to fasting or post-prandial glycemia in *Wistar rats*.

Keywords: Rice, resistant starch, amylose, parboiling, glycemia, rats.

passando de 12% para aproximadamente 25% em duas décadas (1986 – 2006). O arroz parboilizado em relação ao branco polido apresenta vantagens nutricionais de suma importância, como o aumento de minerais, vitaminas e de substâncias com ação semelhante a das fibras, denominadas de amido resistente (AR), que atua na manutenção da glicemia (4).

Para Freitas (5), várias diferenças no índice glicêmico (IG) e na digestibilidade do amido tem sido encontradas em diferentes fontes de amido e dentro da mesma planta. De acordo com Hu et al. (6), o índice glicêmico (IG) e o conteúdo de amido resistente (AR) são dois importantes indicadores da digestibilidade do amido. Do ponto de vista nutricional, uma baixa resposta glicêmica é considerada benéfica, especialmente para os indivíduos com intolerância à glicose. O arroz é conhecido como de alto índice glicêmico quando comparado a outros alimentos fontes de amido. Entretanto, na literatura existe discordância de valores de índice glicêmico

de arroz. Jenkins et al. (7) encontraram índice glicêmico de 96 para arroz integral e 83 para o branco, já para Miller et al. (8) os valores encontrados variaram de 64 a 93. Segundo Walter et al. (9) o arroz parboilizado apresenta menor índice glicêmico quando comparado ao arroz branco polido.

Apesar de o arroz ser um alimento secular, alguns aspectos nutricionais ainda não são conclusivos. Os carboidratos presentes no arroz não teriam apenas caráter energético, mas também complexas funções fisiológicas. Considerando-se o aumento do consumo de arroz parboilizado e a importância da fração amido resistente na saúde, a pesquisa foi conduzida com três amostras de arroz de diferente teor de amilose, objetivando avaliar a influência do teor de amilose e do processo de parboilização de arroz na resposta glicêmica em ratos *Wistar*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o estudo foi utilizado arroz (*Oryza sativa* L.) com alto (31,57%), médio (21,84%) e baixo (6,31%) teor de amilose.

Foram utilizados ratos adultos machos, da linhagem *Wistar*, com peso médio de $317,89 \pm 17,27$ g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Pelotas, RS.

Procedimentos experimentais

A parboilização foi realizada de acordo com Elias (10), empregando-se temperatura e tempos de encharcamento de 6 horas, a 65°C para alto e médio teor de amilose, enquanto no de baixo teor de amilose foram 7 horas a 70°C. Utilizou-se 0,7 kgf.cm⁻² como pressão de autoclavagem (Autoclave Vertical – Marca Bio Eng – Modelo A50) durante 10 minutos.

Antes do descascamento e após a autoclavagem as amostras foram secas em estufa com circulação forçada de ar (Marca – Nova Ética). O armazenamento foi feito em sala climatizada a 20°C, até o momento da determinação do teor de amido resistente e da cocção para elaboração das dietas experimentais. As amostras aguardaram três dias para a completa estabilização da umidade. O polimento foi previamente definido por calibração em branquímetro de amostras comerciais. O polimento e o descascamento foram realizados em engenho de provas Suzuki, previamente regulado para cada grupo de amostras.

A cocção do arroz foi realizada segundo método proposto por Gularte (11). Para a cocção das amostras, foram utilizados recipientes de alumínio com tampa, aquecidos em chapa com termostato, com água equivalente à relação água/arroz de 2,3:1 (v/v) para o arroz parboilizado e 2,0:1 (v/v) para o arroz convencional.

Após a cocção, os grãos foram transferidos para peneiras de polietileno e secos em estufa com circulação forçada de ar durante 24 horas em temperatura de 60°C.

Ensaio biológico

Na Tabela 1 são apresentadas as dietas experimentais utilizadas no ensaio biológico, que foram elaboradas conforme a formulação da AIN-93M (12) para ratos em manutenção de peso, isocalóricas e isoprotéicas, utilizando-se as amostras de arroz parboilizado polido e branco polido (convencional) como fonte de carboidratos complexos, para a fibra foi considerada somente a fração existente no arroz e o seu respectivo teor de amido resistente. Dietas experimentais: - alta amilose convencional (AAC); - alta amilose parboilizado (AAP); - média amilose convencional (MAC); - média amilose parboilizado (MAP); - baixa amilose convencional (BAC); - baixa amilose parboilizado (BAP) e; - dieta controle (DC).

O ensaio biológico foi conduzido no Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da UFPel, constou de 42 ratos que foram sorteados aleatoriamente para comporem os sete grupos experimentais com seis animais cada um. Os animais permaneceram em gaiolas metabólicas, sob condições controladas de temperatura e umidade relativa, respectivamente ($23 \pm 1^\circ\text{C}$ e 50 a 60%), fotoperíodo de 12 horas, com água e ração oferecidas “*ad libitum*”. A seqüência experimental foi dividida em dois períodos: adaptação, sete dias e tratamento, vinte e oito dias. Os animais foram pesados no início do tratamento (1º dia), no meio (14º dia) e no final do experimento (28º dia), sendo o consumo de dieta monitorado diariamente.

O ensaio biológico foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA-UFPel), em reunião realizada no dia 08/07/2005, Ata 03/2005.

Avaliações

A composição centesimal foi determinada nas amostras de arroz branco polido, parboilizado polido e nas dietas experimentais, segundo os respectivos procedimentos: Umidade: Pearson (13); Proteínas: AOAC (14), utilizando 5,95 como fator de conversão de nitrogênio para proteína; Lipídeos: Bligh & Dyer (15); Cinzas: Lees (16); Fibra Bruta: Angelucci et al. (17); Carboidratos: por diferença, usando a fórmula: 100 – (proteína bruta + lipídeos totais + fibra bruta + cinzas + umidade).

Para a determinação do teor de amilose nas amostras foi utilizado o método proposto por Martinez y Cuevas (18).

As amostras de arroz foram descascadas e polidas em engenho de provas Zacaria, e posteriormente foram moídas em moinho Perten e peneiradas em malha de 60 mesh. Amostras de 100mg foram transferidas para balões de 100 mL, acrescentado 1 mL de álcool etílico 96% GL e 9 mL de solução 1N de NaOH. Os balões foram colocados em banho-maria por 10 minutos a 100°C, seguidos de resfriamento durante 30 minutos, até a temperatura ambiente de 20°C, ajustando-se o volume com água. Foi retirada uma alíquota de 5 mL e transferida para balão de 100 mL, sendo acrescido 1 mL de ácido acético 1N e 2 mL de solução de iodo 2% (p/

v) recém preparada sendo ajustado o volume do balão com água.

Para a curva padrão foram utilizados 40mg de amilose pura submetida ao mesmo procedimento das amostras de arroz. Do balão, alíquotas de 1, 2, 3, 4, e 5 mL foram retiradas e acrescidas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 mL de ácido acético e de 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 e 2 mL de iodo, respectivamente, completando o volume de cada balão com água destilada.

A leitura foi realizada a 610 nm e os resultados de absorbância (A) multiplicados por fator de correção (FC) obtido pela média dos valores lidos com as amostras de amilose pura. O teor de amilose das amostras foi obtido pela fórmula: % Amilose = A x FC

O amido resistente foi determinado através do método proposto por Goñi et al. (19). As amostras de arroz foram incubadas com pepsina (40°C; 1h; pH 1,5) e á-amilase (37°C; 16h; pH 6,9), sendo centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos e descartado o sobrenadante. Os resíduos foram tratados com KOH (2M) e incubados com amiloglicosidase

(60°C; 30 min; pH 4,75), sendo retirada uma alíquota de 1mL do sobrenadante e determinado o teor de glicose livre pelo método enzimático (glicose oxidase/peroxidase/ABTS). Todas as avaliações químicas foram realizadas em triplicatas.

Os níveis de glicemia foram monitorados por leitura de glicofita (ACCU-CHEK® Advantage II), contendo sangue obtido por punção da parte distal da cauda do rato. A leitura foi realizada em glicosímetro específico (ACCU-CHEK® Advantage II - Roche), expressando-se os valores da glicemia em miligramas por decilitro (mg.dL⁻¹). Foram realizadas três medidas de glicemia de jejum, no início (1º dia), no meio (14º dia) e no fim (28º dia) do experimento. Para a obtenção da curva glicêmica as medidas de glicemia foram feitas em jejum e após o consumo de 20g da dieta, coletando-se sangue em 30, 60 e 90 minutos para monitoramento da glicemia pós-prandial. O QEA foi avaliado pela razão entre o ganho de peso e o consumo alimentar durante o experimento (20).

TABELA 1
Composição das dietas experimentais

Ingredientes (g.k ⁻¹)	Dietas						
	AAC	AAP	MAC	MAP	BAC	BAP	DC
Arroz convencional	670,7		670,7		670,7		-
Arroz parboilizado		670,7		670,7		670,7	-
Caseína*	143,0	144,5	143,9	146,5	148,2	151,9	154,0
Proteína do arroz	52,6	53,9	27,6	34,5	40,3	44,2	-
Fibra*	-	-	-	-	-	-	50,0
Fibra do arroz	8,2	8,1	8,1	8,6	8,2	17,8	-
Amido de milho*							465,7
Amido dextrinizado*							141,0
Sacarose*	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Óleo de soja*	37,1	35,8	36,1	33,6	31,8	28,1	40,0
Lípídeos do arroz	2,9	4,2	3,9	6,4	8,2	11,9	-
Mistura mineral*	35,0	35,0	35,0	35,0	35,0	35,0	35,0
Mistura vitamínica*	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
L-cistina*	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Bitartarato de colina*	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Tetrabutylhidroquinona*	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Amido resistente	17,1	21,0	21,5	24,1	19,8	22,3	14,9
Proteínas	121,2	121,7	118,2	119,3	120,0	121,0	121,9
Valor calórico (Kcal.k ⁻¹)	3731,4	3706,1	3812,3	3769,6	3747,2	3690,0	3802,8

AAC: alta amilose convencional; AAP: alta amilose parboilizado; MAC: média amilose convencional; MAP: média amilose parboilizado; BAC: baixa amilose convencional; BAP: baixa amilose parboilizado; DC: dieta controle (AIN-93M, fonte de carboidratos amido de milho e amido dextrinizado, fibra: celulose microcristalina). * Segundo formulação da AIN-93M.

Estatística

Para a avaliação estatística foi utilizada a análise de variância ANOVA, seguida do teste de Tukey, de comparação

de médias, considerando como nível de significância estatística o limite de 95% (p<0,05).

RESULTADOS

No estudo do efeito do processamento de arroz com alto, médio e baixo teor de amilose nos níveis glicêmicos de 42 ratos *Wistar* machos, adultos, foram formuladas dietas experimentais com variação no amido resistente resultantes do processo de parboilização. Na Tabela 2 são apresentados os valores de ganho de peso, consumo alimentar e quociente de eficiência alimentar (QEA).

Observa-se que os animais apresentaram diferença no ganho de peso, sendo os menores valores encontrados para o arroz convencional de alta amilose (29,30 gramas) e de baixa

amilose (29,61 gramas), no entanto não houve diferença estatística quando comparados ao controle (34,10 gramas).

O QEA é um método de avaliação da eficiência alimentar, determina o valor nutritivo da dieta, conferindo ao animal um crescimento adequado, manutenção de peso e um bom estado nutricional. O amido resistente nas diferentes dietas, não alterou a eficiência das mesmas quando comparadas ao controle.

Nas Tabelas 3 e 4 são apresentados os teores de amido resistente nas dietas e os níveis de glicemia de jejum e pós-prandial dos animais.

TABELA 2
Efeito da amilose e da parboilização no ganho de peso (g), consumo de dieta (g) e quociente de eficiência alimentar (QEA) em ratos

Dietas	Ganho de Peso (g)	Consumo de Dieta (g)	QEA
Alta amilose convencional	29,30±3,40 ^c	357,52±12,71 ^{a,b}	0,08±0,009 ^c
Alta amilose parboilizado	36,79±2,48 ^{a,b}	345,33±12,23 ^{b,c}	0,11±0,007 ^{a,b}
Média amilose convencional	37,27±5,27 ^a	365,75±19,79 ^a	0,10±0,010 ^{a,b,c}
Média amilose parboilizado	37,76±4,67 ^a	322,24±26,46 ^c	0,12±0,015 ^a
Baixa amilose convencional	29,61±5,17 ^{b,c}	334,39±22,13 ^{c,d,e}	0,09±0,015 ^{b,c}
Baixa amilose parboilizado	33,61±4,01 ^{a,c}	341,21±18,20 ^{b,c}	0,10±0,013 ^{a,b,c}
Dieta controle	34,10±3,04 ^{a,c}	343,76±3,04 ^{b,d}	0,10±0,007 ^{a,b,c}

QEA: g ganho de peso durante 28 dias/ g de consumo de dieta durante 28 dias.

Dados expressos em média ± desvio padrão.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (p<0,05).

Amilose: alta = 31,57±0,22; média = 21,84±0,20; baixa = 6,31±0,10.

TABELA 3
Glicemia de jejum (mg.dL⁻¹) no tempo inicial, meio e fim do ensaio biológico

Dietas	Glicemia de Jejum (mg.dL ⁻¹)			
	*AR (%)	1º dia	14º dia	28º dia
Alta amilose convencional	1,71±0,10 ^c	70,58±10,25 ^a	64,33±11,35 ^a	69,91±7,54 ^a
Alta amilose parboilizado	2,10±0,10 ^b	73,17±20,43 ^a	67,17±10,20 ^a	74,17±26,39
Média amilose convencional	2,15±0,03 ^{a,b}	65,58±10,40 ^a	64,08±9,40 ^a	59,75±6,52 ^a
Média amilose parboilizado	2,41±0,12 ^a	66,67±7,75 ^a	61,67±8,47 ^a	71,67±9,34 ^a
Baixa amilose convencional	1,98±0,10 ^b	76,17±14,37 ^a	62,08±9,37 ^a	70,17±8,35 ^a
Baixa amilose parboilizado	2,23±0,08 ^{a,b}	63,14±6,27 ^a	64,47±7,89 ^a	59,89±7,10 ^a
Dieta controle	1,49±0,10 ^c	54,67±17,21 ^a	55,67±3,51 ^a	67,67±2,52 ^a

Dados expressos em média ± desvio padrão.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (p<0,05).

*AR: Amido Resistente

Amilose: alta = 31,57±0,22; média = 21,84±0,20; baixa = 6,31±0,10.

TABELA 4
Curva glicêmica (mg.dL⁻¹) das dietas experimentais em ratos machos *Wistar*

Dietas	Glicemia (mg.dL ⁻¹)			
	0 min	30 min	60 min	90 min
Alta amilose convencional	72,2±11,38 ^a	93,2±10,40 ^a	97,5±4,02 ^a	105,0±3,64 ^a
Alta amilose parboilizado	64,6±17,53 ^a	103,7±13,67 ^a	102,5±8,27 ^a	103,5±9,68 ^a
Média amilose convencional	60,2±5,89 ^a	94,7±6,98 ^a	96,3±5,35 ^a	98,9±3,57 ^a
Média amilose parboilizado	71,0±13,24 ^a	91,2±5,91 ^a	99,5±8,54 ^a	104,7±8,54 ^a
Baixa amilose convencional	72,5±9,95 ^a	89,5±6,86 ^a	97,7±4,02 ^a	93,2±8,75 ^a
Baixa amilose parboilizado	57,7±6,80 ^a	92,7±12,42 ^a	95,5±1,29 ^a	95,6±3,90 ^a
Dieta controle	67,5±2,88 ^a	90,2±17,32 ^a	101,7±1,44 ^a	105,5±3,89 ^a

Dados expressos em média ± desvio padrão.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (p<0,05).

Amilose: alta = 31,57±0,22; média = 21,84±0,20; baixa = 6,31±0,10.

Os maiores teores de amido resistente foram observados nas dietas elaboradas com arroz de médio teor de amilose, tanto convencional quanto parboilizado, e no arroz de baixa amilose parboilizado.

Os níveis glicêmicos dos ratos mantiveram-se na faixa de normalidade, demonstrando que independente do tipo de processo a que foi submetido o arroz e do teor de amilose, este alimento foi capaz de manter a glicemia, e ao longo de 90 minutos comportou-se igual ao controle. Observa-se que o teor de amido resistente não interferiu na glicemia.

DISCUSSÃO

Ganho de peso e consumo de dieta

Para o ganho de peso, não houve diferença em comparação com o grupo controle. Quanto ao consumo de dieta, os animais dos grupos alimentados com arroz de médio teor de amilose, obtidos por beneficiamento convencional e parboilizado, apresentaram o maior e o menor consumo, respectivamente, diferindo do grupo controle.

O Quociente de Eficiência Alimentar (QEA) não diferiu significativamente entre as dietas experimentais contendo arroz e o controle, indicando que a presença de carboidratos não digeríveis nas dietas experimentais não alterou a eficiência das mesmas. Estes resultados estão em concordância com Walter et al. (9), que utilizaram dietas suplementadas com amido resistente em ratos. Os resultados para ganho de peso e QEA apresentaram valores baixos para as dietas, indicando que os animais encontravam-se em manutenção de peso em função da idade, e o arroz não modificou a eficiência alimentar destas dietas.

Glicemia de Jejum e Curva Glicêmica

O amido resistente desempenha várias funções benéficas ao organismo e também possui valor energético. Esta energia

é utilizada na fermentação pela microflora do cólon produzindo ácidos e derivados de ácidos orgânicos de cadeia curta como acetato, butirato e propionato (21,22). Estes compostos atuam na redução da hipercolesterolemia, da hiperlipoproteinemia e na prevenção de câncer de cólon pela proteção e importante função no crescimento da mucosa colônica (23).

Os teores de amido resistente nas dietas experimentais apresentaram diferença significativa em relação ao controle. Os maiores valores foram para o arroz parboilizado em todos os níveis de amilose, 2,41% para média amilose; 2,23% para baixa amilose e 2,10% para alta amilose. Os menores valores foram 1,71% para arroz de alta amilose convencional e 1,49% para a dieta controle.

Verifica-se que as dietas experimentais mantiveram normais os níveis de glicemia nos ratos, não apresentando diferença estatística entre os grupos nos três tempos avaliados, indicando que os diferentes níveis de amido resistente presente nas dietas não foram suficientemente capazes de promover uma resposta glicêmica significativa.

Estudos com humanos descrevem variabilidade nas respostas glicêmicas e/ou insulinêmicas na ingestão de amido resistente. Em geral, é aceito que o consumo de amido resistente reduz as concentrações pós-prandiais de glicose e de insulina. Alguns grupos de pesquisadores (24,25) reportam um decréscimo na glicemia pós-prandial ou resposta insulinêmica associada à ingestão de amido resistente em comparação ao amido digerível consumido, enquanto outros pesquisadores não encontraram mudanças (7,21).

Segundo Raben (24) e Hoebler (26), o conteúdo de lipídeos da dieta tem significativo impacto na resposta glicêmica da alimentação. Em estudos de dietas com e sem lipídeos com variações no conteúdo de amido resistente resultaram em dificuldade de interpretação dos dados. Também a fonte do amido resistente pode influenciar na resposta glicêmica/

insulinêmica, devido as suas diferentes propriedades físico-químicas (22).

O amido resistente não apresentou efeito na curva glicêmica ao longo de 90 minutos em ratos, provavelmente pela pequena quantidade presente nas dietas, indicando que o teor de amilose, bem como o tipo de processamento (convencional ou parboilização) tem o mesmo comportamento na glicemia. Segundo Englyst et al. (27) os carboidratos de baixa ou lenta digestão, e os classificados como amido resistente, são digeridos ou não, lentamente no intestino delgado e, como resultado reduzem a glicemia pós-prandial. Os alimentos de baixo índice glicêmico são resultantes de muitos fatores incluindo a forma e a natureza do amido. É evidente que as baixas absorção e digestão de carboidratos da dieta são favoráveis na manutenção de distúrbios metabólicos decorrentes de diabetes e hiperlipidemias (2,28).

Segundo alguns estudos (29,30) ocorre uma melhora do controle glicêmico após a administração de diferentes fontes de fibras. Embora os resultados destes trabalhos não sejam coincidentes em todos os estudos, constatou-se que a fibra solúvel e o amido resistente proporcionam em maior ou menor grau, uma alternativa efetiva e benéfica para o controle dos níveis de glicemia de jejum e pós-prandial. Para Higgins (22), estas evidências estão associadas à relação dose-resposta na ingestão de amido resistente na glicemia pós-prandial, insulinemia, oxidação lipídica e armazenamento de lipídeos.

Os efeitos do amido resistente sobre a resposta glicêmica ainda são conflitantes, embora se tenha o conceito de amido resistente e o conhecimento dos diferentes graus de digestibilidade do amido. Caruso e Menezes (31) demonstraram que cornflakes produziram elevada resposta glicêmica, embora contenham elevado teor de amido resistente e amido rapidamente digerível.

Conforme os resultados apresentados (Tabelas 3 e 4), observa-se que o teor de amilose não interferiu na resposta glicêmica, contrariando Caruso e Menezes (31) que sugerem ser o elevado teor de amilopectina responsável pelo aumento da glicemia, onde a digestão ocorre mais rapidamente devido às ramificações do glicano que contribui para aumentar a superfície exposta à hidrólise enzimática. Para os alimentos ricos em amilose, a resposta glicêmica poderá ser menor em decorrência da formação de complexos entre essa e ácidos orgânicos, lipídios e fatores antinutricionais.

Embora evidentes, os avanços nas pesquisas sobre o efeito do amido resistente na saúde humana, principalmente no metabolismo de carboidratos, ainda existe necessidade de continuar as pesquisas sobre este assunto, para obter correlações seguras entre os valores determinados *in vitro* com aqueles observados *in vivo*, em animais de experimentação, e assim extrapolar para seres humanos. No presente estudo, os resultados obtidos em ratos Wistar devem ser considerados haja vista a similaridade metabólica de roedores e humanos.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o teor de amilose e o processo de parboilização do arroz não interferem no ganho de peso, no consumo de dieta e no quociente de eficiência alimentar. A glicemia de jejum e ao longo de 90 minutos não é afetada pelo teor de amilose e nem pelo processo de beneficiamento industrial do arroz. Desta forma, a utilização de arroz como fonte de carboidratos na dieta é capaz de manter em níveis normais as concentrações sanguíneas de glicose.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de doutorado e, ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo financiamento do projeto de pesquisa, ao IRGA (Instituto Rio-Grandense do Arroz), Granja Quatro Irmãos, do grupo JOSAPAR (Joaquim Oliveira Participações Ltda.) e Indústria Comércio e Representações Líder Ltda. pela doação das amostras de arroz.

REFERÊNCIAS

- Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Franceschi S, Hamidi M, Marchie A, Jenkins AL, Axelsen M. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr* 2002;76:266-273.
- Wolever TMS, Mchling C. High-carbohydrate-low-glycemic-index dietary advice improves glucose disposition index in subjects with impaired glucose tolerance. *Br J Nutr* 2002;87:477-487.
- Urooj A & Puttaraj S. Glycaemic responses to cereal-based Indian food preparations in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and normal subjects. *Br J Nutr* 2002;83:483-488.
- Amato GW, Elias MC. Parboilização do arroz. Ed., Porto Alegre: Ricardo Lenz, 2005.
- Freitas MCJ. Amido resistente: propriedades funcionais. *Rev Nutr Br* 2002;1:40-48.
- Hu P, Zhao H, Duan Z, Linlin Z, Wu D. Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylose contents. *J Cereal Sci* 2004;4:231-237.
- Jenkins DJ, Vuksan V, Kendall CW, Wursch P, Jeffcoat R, Waring S, Mehling CC, Vidgen E, Augustin LS, Wong E. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. *J Am Coll Nutr* 1998;17:609-616.
- Miller JB, Pang E, Bramall L. Rice: a high or low glycemic index food? *Am J Clin Nutr* 1992;34:1034-1036.
- Walter M, Silva LP, Perdomo DMX. Resposta biológica de ratos ao amido resistente. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2005;64(2):252-257.

10. Elias MC. Espera para secagem e tempo de armazenamento na qualidade de arroz para semente e indústria. 1998. 164f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
11. Gualarte MA. Metodologia analítica e características tecnológicas e de consumo na qualidade do arroz. 2005. 95f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
12. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr, GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents; final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee and the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993;123(11):1939-1951.
13. Pearson D. Técnicas de laboratório para el analisis de alimentos. Zaragoza: Acribia. 1976.
14. AOAC. Official Methods of Analysis International. 16 ed., Washington DC: Cunniff, 1995.
15. Bligh EG & Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959;37:911-917.
16. Lees R. Manual de análises de alimentos. Zaragoza: Acribia. 1979.
17. Angelucci E, Carvalho CRL, Carvalho PRN, Figueiredo IB, Mantovani DMB, Moraes RM. Manual técnico de análises de alimentos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos. 1987.
18. Martinez CY, Cuevas F. Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz. Guia del estudio. Cali: CIAT. 1989.
19. Goñi I, Garcia-Diaz L, Mañas E, Saura-Calixto F. Analysis of resistant starch: A method for foods and food products. *Food Chem* 1996;56(4):445-449.
20. Pellet PL, Young VR. Nutritional evaluation of protein foods. Tokyo: The United Nations University. 1980.
21. Behall KM, Scholfield DJ. Effect of starch structure on glucose and insulin responses in adults. *Am J Clin Nutr* 1988;47:428-432.
22. Higgins JA, Higbee DR, Donahoo WT, Brown IL, Beel ML, Bessesen DH. Resistant starch consumption promotes lipid oxidation. *Nutr Metab* 2004;1(8):1-11.
23. Roberfroid MB. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. *J Nutr* 1999;129(7):1398-1401.
24. Raben A. Resistant starch the effect on postprandial glycemia, hormonal response, and satiety. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:151-163.
25. Heijnen ML, Van Amelsvoort JM, Weststrate JA. Interaction between physical structure and amylase: amylopectin ratio of foods on postprandial glucose and insulin responses in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr* 1995;49:446-457.
26. Hoebler C, Karinthe A, Chiron H, Champ M & Barry JL. Bioavailability of starch in bread rich in amylose: metabolic responses in healthy subjects and starch structure. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:360-366.
27. Englyst HN, Hudson GJ. The classification and measurement of dietary carbohydrates. *Food Chem* 1996;57(1):15-21.
28. Asp NG. Nutritional classification and analysis of food carbohydrates. *Am J Clin Nutr* 1994;59:6795-6815.
29. Lajolo FM, Menezes EW. Dietary fiber and resistant starch intake in Brazil: recommendations and actual consumption patterns. In: *Dietary Fiber*. New York: Ed. Handbook, 2001.
30. Parks EJ. Dietary carbohydrates effects on lipogenesis and the relationship of lipogenesis to blood insulin and glucose concentrations. *Brit J Nutr* 2002;87(2):247-253.
31. Caruso L, Menezes EW. Índice glicêmico dos alimentos. *Nutrire* 2000;19/20:49-63.

Recibido: 20-09-2007

Aceptado: 22-02-2008

Conjugated linoleic acid supplementation modified the body composition and serum leptin levels in weaning rats

Adriana Prais Botelho, Lilia Ferreira Santos-Zago, and Admar Costa de Oliveira

Laboratory of Lipids, Department of Food and Nutrition, College of Food Engineering,
State University of Campinas. Brasil

SUMMARY. Dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) may reduce body fat mass and increase lean body mass in various species. The objective of this study was to study the effects of conjugated linoleic acid (CLA) supplementation on body composition, serum leptin and triacylglycerol levels in Wistar rats. Rats received linoleic acid (group C) or conjugated linoleic acid (group AE, supplemented with AdvantEdge® CLA, and group CO, supplemented with CLA One®) in the concentrations of 2% of daily feed consumption. Serum leptin and triacylglycerol levels of rats were measured by means of commercial kits. After 42 days of supplementation, rats in the control group exhibited body fat contents of 53.94 ± 6.80 g, and those in groups AE and CO had 45.43 ± 4.86 g and 43.75 ± 1.93 g, respectively, corresponding to a mean body fat reduction of 18%. Water, whole body protein and ash contents of rats supplemented with CLA were statistically higher relative to control group content (corresponding to a mean increasing of 7.65%; 6.5% and 12.35%, respectively). Experimental groups AE and CO, which received CLA supplementation, had statistically lower serum leptin levels (3.45 ± 0.46 ng/mL and 3.08 ± 0.19 ng/mL, respectively) relative to the control group (4.21 ± 0.22 ng/mL) which received linoleic acid. Triacylglycerol levels did not change after CLA supplementation ($p > 0.05$). Supplementation with conjugated linoleic acid in the concentration of 2% of mean daily feed consumption was able to change body composition of rats after 42 days of experimentation.

Key words: Conjugated linoleic acid, supplementation, nutrition, body composition, leptin, lipid profile.

RESUMEN. La suplementación con ácido linoléico conjugado modificó la composición corporal y los niveles séricos de leptina en ratas recién destetadas. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos del suplemento con ácido linoléico conjugado (CLA) sobre la composición corporal, leptina en suero y niveles de triacilglicerol en ratas Wistar. Las ratas recibieron ácido linoléico (grupo C) o ácido linoléico conjugado (grupo AE, suplementado con AdvantEdge® CLA, y grupo CO, suplementado con CLA One®) en una concentración de 2% del consumo diario de alimentación. Los niveles de leptina en suero y triacilglicerol de las ratas fue medido por medio de kits comerciales. Después de 42 días de suplementación, las ratas del grupo de control exhibieron contenidos de grasa corporal de 53.94 ± 6.80 g, y los de los grupos AE y CO tuvieron 45.43 ± 4.86 g y 43.75 ± 1.93 g, respectivamente, lo que corresponde a una reducción media de la grasa corporal del 18%. El agua, la proteína corporal total y el contenido de cenizas de las ratas suplementadas con CLA fueron estadísticamente superiores en relación al contenido del grupo control (lo que corresponde a un aumento medio de 7.65%; 6.5% y 12.35%, respectivamente). Los grupos experimentales AE y CO, que recibieron suplementación con CLA, tuvieron niveles de leptina en suero estadísticamente menores (3.45 ± 0.46 ng/mL y 3.08 ± 0.19 ng/mL, respectivamente) en relación al grupo control (4.21 ± 0.22 ng/mL) que recibió ácido linoléico. Los niveles de triacilglicerol no cambiaron después del suplemento con CLA ($p > 0,05$). La suplementación con ácido linoléico conjugado en una concentración de 2% del promedio del consumo diario de alimento fue capaz de cambiar la composición corporal de las ratas después de 42 días de experimentación.

Palabras clave: Acido linoléico conjugado, suplementación, nutrición, composición corporal, leptina, perfil lipídico.

INTRODUCTION

Conjugated linoleic acids (CLA), a compound naturally found in small amounts in a large variety of foods, is a group of geometrical and position isomers of linoleic acid with conjugated double bonds (1,2). CLA can be synthesized by rumi-

nants by the biohydrogenation of unsaturated fatty acids by bacteria present in the rumen, in a way that the predominant isomer is *cis-9, trans-11* (1,3). The *cis-9, trans-11* CLA isomer can be produced in mammary glands by the delta 9 desaturase path. The *trans-10, cis-12* isomer is also believed to be one of the isomers synthesized in the rumen of polygastric animals (4). Thus, significant concentrations of CLA, especially *cis-9, trans-11* CLA, can be found in meats, milk, and their products.

Interest for conjugated linoleic acid (CLA) arose in 1979 when researchers found antimutagenic and anticarcinogenic substances, among them CLA, in grilled meats (5,6). Subse-

Financial support: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo for the financial support (Process no. 03/07648-4), and to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico for the scholarship granted (APB) (Process no. 133874/2003-6).

quently, numerous studies associate CLA consumption with beneficial effects to human health, among them anticarcinogenesis, body composition change, atherosclerosis reduction, immune system modulation, and bone mineralization enhancement (7,8). The commercially available CLA mixtures are manufactured by alkali isomerization of linoleic acid or linoleic acid rich oils such as safflower oil and sunflower oil (9). These numerous mixtures of CLA and its isomers have been studied for their physiological effects. The *cis-9, trans-11* and the *trans-10, cis-12* isomers have distinct biological activities. It is believed that the isomer *trans-10, cis-12* CLA, with the most significant biological activity, is more closely related to lipid and glucose metabolism and body fat reduction (10), whereas the *cis-9, trans-11* isomer is associated to antioxidant and anticarcinogenic effects (11,12). CLA was first reported to influence body composition in a study with mice fed 0.5% CLA (50% *cis-9,trans-11* and 50% *trans-10, cis-12*), resulting in a decreased body fat mass and an increased lean body mass (13). Although CLA supplementation is able to increase lean mass and decrease body fat in different experimental models (13-17), mechanisms proposed to explain these changes are still controversial. CLA ingestion has been associated to a decrease in pre-adipocyte proliferation and differentiation, increase fatty acid oxidation (as evidenced by increased carnitine palmitoyltransferase activity), reduction of esterification of fatty acids into triacylglycerols, increase of energy expenditure, and changes in the activity of enzyme lipoprotein lipase, and the hormone leptin, among others (18, 19).

The objective of the present work was to assess the effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, and serum leptin and triacylglycerol levels in Wistar rats.

MATERIALS AND METHODS

Supplements and reagents. Conjugated linoleic acid supplements used in the study were AdvantEdge® CLA 75% (EAS™, Golden, CO, USA) and CLA One® Free Fatty Acid Oil 75% (Pharmanutrients, Gurnee, IL, USA). Linoleic acid 60% supplement and all other reagents were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Fatty acid composition of the linoleic acid supplement 60% Sigma (code L 1376) and the commercial conjugated linoleic acid mixtures 75% AdvantEdge®, CLA and 75% CLA One® Free Fatty Acid Oil 1CLA1-FFBL-KG, expressed in g/100 g of fatty acids, can be seen in Table 1.

Animals and diet. The animals were 30 healthy albino male recently-weaned Wistar rats aged 21 to 23 days, with mean weight 60.0 ± 3.51 g, from the Multidisciplinary Center for Biological Investigation (CEMIB/UNICAMP). The powdered diet was prepared according to American Institute of Nutrition (20), AIN-93G, with a protein concentration of 12% (21). This work has

been approved by Animal Experiment Ethics Commission (CEEA – IB/UNICAMP, Protocol n° 564-1).

Experimental conditions. Animals were housed individually in steel cages and had free access to water and food at all times. Temperature and relative humidity were in the range of $22 \pm 1^\circ\text{C}$ and 60-70% respectively, and 12 h light:dark cycle. After 7 days adaptation period rats were divided into 3 groups of 10 animals each, in order to achieve body weight homogeneity within and across groups and supplemented for 42 days. Commercial mixtures of conjugated linoleic acid AdvantEdge® (EAS™) and CLA One® (Pharmanutrients) were fed to groups AE and CO respectively, and linoleic acid to the control group (C), in the concentration of 2% of daily feed consumption. During the assay, food and water consumption, as well as animal weight gain, were checked every two days. The choice of supplement concentration for the present study was based on results from a preliminary assay by the same research team with three CLA concentrations. The main objective of the previous assay was to standardize CLA supplementation conditions. Growing male Wistar rats were supplemented for 21 days with commercial conjugated linoleic acid mixture 75% AdvantEdge®, CLA (EAS™) at the concentrations of 1%, 2% and 4% of the daily feed consumption, having linoleic acid as a control. The concentration adopted for the present assay – 2% of feed consumption – was chosen on the basis of results and operational conditions of supplementation from the preliminary assay (22).

Supplementation. Animals were supplemented by orogastric intubation with 1 mL disposable syringes and *gavage* needles. The amount of supplement was calculated every other day on the basis of the average feed consumption of each group, so that supplementation followed normal feed ingestion. The amount of supplement varied from 0.25 a 0.49 mL and was calculated based on density. Supplements were aspirated with the syringe and kept away from light till the moment of administration. Rats were removed group by group from the experimental room, placed in plastic boxes, and taken to the supplementation room. This procedure was done daily during daytime and always at the same time, since rodent have nocturnal habits.

Determination of fatty acid profiles of linoleic acid and conjugated linoleic acid mixtures. Methylation followed the Christie method (23). About 50 g of each sample of conjugated linoleic acid supplements and linoleic acid were weighed in conic bottom graduated extraction tubes. Then 2 mL of 1% methanolic sulphuric acid were added. Tubes were capped and shaken in an electric agitator for 1 minute. Tubes remained in water bath at 37°C for 2 hours; 5 mL of sodium chloride 5% were added, followed by 1 minute shaking. 5 mL of

hexane were added, and tubes were again shaken for 30 seconds. The supernatant (hexane and methyl ester) was transferred to another extraction tube to which 4 mL of 5% potassium bicarbonate were added. Tubes were shaken in an electric agitator for 1 minute, and phase separation occurred rapidly. The new supernatant was transferred to another extraction tube containing 1 g of sodium sulphate. The hexane was evaporated with help of a nitrogen flux under water bath at 40 °C. Finally, 2 mL of hexane were added, and the solution was transferred to a chromatography vial, labeled, and stored at -20 °C. Fatty acid profile was determined by gas chromatography with a capillary silica column CP SIL 88 (0.25 mm x 0.25 m x 100 m) and a flame ionization detector (FID). A temperature gradient with initial temperature of 70 °C was used for 4 minutes, followed by an increase at the rate of 13 °C/min

until 175 °C; after 27 min the temperature was raised again at the rate of 4 °C/min, to 240 °C where it remained for 4 minutes, totalizing 70 min for the whole run. Injector and detector temperatures were 250 and 300 °C respectively. Injection was in split mode with a ratio of 50:1. Drag gas was hydrogen with a flux of 1.8 mL/min, and pressure of 36.3 psi at the column head (24). Results were expressed in percentage of total fatty acids. The standard adopted was CRM-164 (Commission of the European Communities, Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium), which has certified values for 11 fatty acids; they were used to establish the correction factor for each certified fatty acid in order to transform the peak expressed in percentage of area into mass (mg/g total fatty acids).

TABLE 1
Fatty acid composition of linoleic acid and commercial conjugated linoleic acid mixtures

Fatty acids	Linoleic acid 60% Sigma	Conjugated linoleic acid 75% AdvantEdge® CLA (EAS™)	CLA One® Free Fatty Acid Oil 75% 1CLA1-FFBL-KG (Pharmanutrients)
(g/100g of fatty acids)			
C8:0	-	0.02	0.06
C10:1	-	0.01	-
C12:0	-	0.01	-
C14:0	0.13	-	-
C16:0 iso	0.02	-	-
C16:0	2.89	2.15	3.86
C16:1 cis-9	0.17	0.01	-
C17:0	0.04	0.03	-
C17:1	0.07	0.01	-
C18:0	0.80	2.96	1.91
C18:1 cis-9	25.90	13.23	16.86
C18:1 cis-11	2.06	1.04	0.94
C18:2 cis-9. cis-12	59.64	0.75	0.93
C18:2 cis-9. trans-11 CLA	0.09	40.12	36.81
C18:2 trans-10. cis-12 CLA	0.08	39.15	36.27
C18:2 cis-11 trans-13 CLA	-	-	1.44
C18:2 trans-11 cis-15	0.82	0.21	0.47
C18:3	-	0.06	0.13
C20:0	1.01	-	-
C20:1	-	0.06	0.13
C20:2	6.18	0.01	-
C20:3	-	0.04	-
C20:4	0.01	-	-
C20:5	0.01	0.02	0.03
C22:0	-	0.04	0.07
Total	100.00	100.00	100.00

CLA: conjugated linoleic acid

Body composition analysis. After exsanguination, animals were killed by cervical displacement, and the whole gastrointestinal tract was removed, cleaned with physiological solution, and returned to the carcass (13). The latter was frozen in liquid nitrogen, sliced, lyophilized, chopped, ground, and stored at -80°C (Freezer Ultra Low REVCO). Water content, ashes and crude protein (N x 6.25) determinations were performed according to methods 930.15, 954.01 and 942.05 respectively, as described by AOAC (25), and fat (ether extract) according to Lees (26).

Serum triacylglycerol and leptin determinations. Blood from the animals was collected under anaesthesia (sodium pentobarbital, 46 mg/kg, Hypnol 3%), by cardiac puncture after a 12-hour fast at the end of the experiment. Blood samples were collected in tubes without anticlotter, remained in water bath at 37 °C for 30 minutes, and were centrifuged at 3000 rpm (Centrifuge Excelsa® II model 206 MP, FANEM) for 10 minutes. Serum was separated and stored at -80 °C until the moment of analyses. Analysis of serum triacylglycerol was done with the enzyme kit GPO-ANA-CAT.59 (Labtest Diagnóstica, Campinas, Brazil) and of serum leptin with the radioimmunoassay Rat Leptin Ria Kit RL-83K (Linco Research, Saint Charles, Missouri, USA).

Statistical analysis. Results are expressed as means ± SD. Data were analyzed statistically by ANOVA using Statistical Analysis System (SAS) (27). The Tukey test was used to test the differences among groups. Differences were considered significant at *P* = 0.05. The degree of association between leptin values and body fat was obtained by the Pearson linear correlation. The joint influence of independent variables on dependent variables was considered, and their forces were classified according to Levin (28), taking into account at least moderate correlation coefficients, both positive and negative, with *r* between 0.5 and 0.95, and between -0.5 and -0.95 respectively (29).

RESULTS

Supplements used in the present research contained 79.27 and 73.08% CLA for the brands AdvantEdge® CLA e CLA One®, respectively, and the proportion between the predominant isomers *cis-9*, *trans-11* and *trans-10*, *cis-12* was approximately 1:1 (Table 1).

Effect of conjugated linoleic acid supplementation on animal performance of rats is shown in Table 2. There were no significant effects of CLA supplementation on initial and final body weights, daily body weight gain, and food conversion efficiency between treatments; with exception of groups AE, which differed in the food intake (*p* ≤ 0.05).

TABLE 2
Mean values ± standard deviation (n=10) of growth performance of experimental and control groups

	C	AE	CO
Initial body weight (g)	91.4 ± 2.8	96.3 ± 6.3	96.7 ± 4.9
Final body weight (g)	284.0 ± 21.7	299.8 ± 14.9	283.7 ± 12.9
Body weight gain (g/d)	5.3 ± 0.9	5.6 ± 0.5	5.6 ± 1.3
Food intake (g/d)	19.4 ± 1.1 ^a	20.8 ± 1.3 ^b	19.8 ± 1.1 ^a
Food conversion efficiency	0.30 0.02	0.31 ± 0.01	0.30 ± 0.01

Values not sharing similar letter in the same line are different (*p* ≤ 0.05) in the Tukey test.

C: control group; AE: group supplemented with AdvantEdge® CLA; CO: group supplemented with One® CLA

Table 3 shows the effect of CLA supplementation on body composition in these animals. Relative to control, the fat content (g) in experimental groups AE and CO was reduced by 16% and 19%, respectively. Hence, despite similar final body weights (Table 2), CLA supplementation resulted in significant less body fat (*p* ≤ 0.05).

By contrast, the whole body protein, carcass water and ash (g) were significant enhanced for CLA-fed rats after 42 days (*p* 0.05) (Table 3).

TABLE 3
Mean values ± standard deviation of body composition on a wet basis of rats in control and experimental groups (n = 10) after 42 days of intervention

	C	AE	CO
Empty carcass weight (g)	254.12 ± 26.62	269.46 ± 17.02	262.3 ± 19.07
Water (g)	144.59 ± 1.92 ^a	157.38 ± 1.07 ^b	153.94 ± 1.67 ^c
Protein (g)	49.62 ± 2.38 ^a	53.27 ± 1.27 ^b	52.73 ± 1.15 ^b
Fat (g)	53.94 ± 6.80 ^a	45.43 ± 4.86 ^b	43.75 ± 1.93 ^b
Ash (g)	8.04 ± 0.39 ^a	9.25 ± 0.54 ^b	8.82 ± 0.47 ^b

Values not sharing similar letter in the same line are different (*p* ≤ 0.05) in the Tukey test.

C: control group; AE: group supplemented with AdvantEdge® CLA; CO: group supplemented with One® CLA

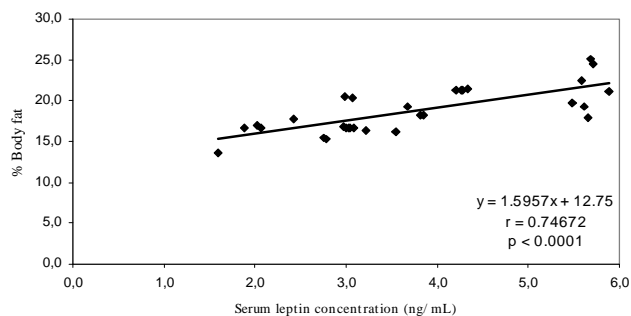
Serum levels of triacylglycerol (mg/dL) and leptin (ng/mL) of rats are presented in Table 4. Triacylglycerol values did not exhibit a statistically significant differences (*p* > 0.05). Leptin values of groups AE and CO were lower than the control group (*p* = 0.05). A moderate positive correlation was found between serum leptin values and body fat content (*r* = 0.74672, *p* < 0.0001) (Figure 1).

TABLE 4
Mean values \pm standard deviation ($n = 10$) of serum leptin and triacylglycerols of control and experimental groups after 42 days of intervention

	C	AE	CO
Triacylglycerols (mg/dL)	142.95 \pm 27.55	152.89 \pm 44.53	168.39 \pm 39.88
Leptin (ng/mL)	4.21 \pm 0.22 ^a	3.45 \pm 0.46 ^b	3.08 \pm 0.19 ^b

Values not sharing a similar letter in the same line are different ($p < 0.05$) in the Tukey test

FIGURE 1
Correlation between higher body fat percentage (%) and serum leptin concentration (ng/mL) of rats in control and experimental groups ($n = 30$) after 42 days of intervention



The present study investigated the effects after 42 days of CLA supplementation on serum triacylglycerol and leptin levels and body composition of rats. After this period of supplementation with two CLA isomer mixtures containing *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 in similar proportions, experimental groups had a body fat reduction and a whole body protein and ash content increase relative to the control group. The leptin concentrations were also suppressed in the supplemented groups. However, CLA supplementation did not change serum triacylglycerol levels.

Regarding animal growth performance, Table 2 shows that rats CLA-supplemented diet exhibited initial and final body weights that were similar from control ($p > 0.05$). By contrast, the data of AE group exhibit slightly enhanced food intake relative to control. In this study the weaning animals received water and food *ad libitum* and some it could result in small differences at some experimental time points. It is known that small differences in food intake do not affect body composition and that other physiological changes, in addition to decreases in leptin concentration, are required to mediate changes of appetite (30,31).

CLA has been found to be able to change body composi-

tion in different experimental models (18), promoting body fat reduction and lean mass increase. In the present study, the control group displayed body fat content of 53.94 ± 6.8 g, and groups AE and CO had 45.43 ± 4.86 g and 43.75 ± 1.93 g resulting in a reduction of 16 and 19%, respectively (Table 3). These data are similar to those of Delany and others (32) who reported a 30% reduction in body fat in mice after CLA supplementation for 39 days. Azain and coworkers (33) also observed a reduction of 13 to 30% in retroperitoneal fat in female rats supplemented with CLA for 35 days. Other works reported more pronounced reductions of body fat: mice lost about 60% of body fat when supplemented with 0.5% of CLA (10,13). It should be pointed out that experimental models used by these researchers exhibited visceral fat accumulation and a slight obesity, differently from animals in the present study. It is known that these experimental models are more responsive of supplementation with conjugated linoleic acid (34).

Being consistent with the reduction of fat deposition, overall body fat content has been shown to be reduced, while water, body protein and ash content was increased after CLA supplementation. Water represents such a large proportion of muscle, that minor increases in muscle synthesis could easily increase water content (35). In the present study, the carcass water content was significantly enhanced for CLA-fed rats compared with control. It was confirmed by the increased of whole body protein in the same groups, that suggest an enhanced lean body mass. The control group displayed a whole body protein of 49.62 ± 2.38 g, and groups AE and CO had 53.27 ± 1.27 g and 52.73 ± 1.15 g resulting in a increased by 7 and 6 %, respectively (Table 3). These data are similar to those of Park and others (13) who reported that a supplementation with 0.5% CLA in the diet increased protein and water contents in both male and female ICR mice. Supplementation of 0.25% CLA containing 79% *trans*-10, *cis*-12 or 0.5% CLA containing 44% *trans*-10, *cis*-12 and 41% *cis*-9, *trans*-11 CLA isomers reduced body fat content and increased body protein, water and ash contents in weanling female ICR mice (10). The mechanism for the increased protein accumulation is unknown, but some authors speculates that the observed effect of CLA on body repartitioning is similar to that reported for carnitine and β -agonists that have been shown to depress fat deposition and stimulate protein accretion consistent with improved nitrogen retention through accelerated fat oxidation (36,37).

Ash content of rats supplemented with CLA were statistically higher ($p = 0.05$) (9.25 ± 0.54 g and 8.82 ± 0.47 g, for groups AE and CO respectively) relative to the control group (8.04 ± 0.39 g) (Table 3). Similar results have been reported by Park and others (13), when mice supplemented with 0.5% of CLA for 32 days displayed a significant increase in ash content. The same research team found a 14.5% increase in

ash content in mice fed with a 0.5% mixture of CLA isomers for 4 weeks (10). Some studies have suggested that CLA supplementation is capable of enhancing bone mineralization (13,38,39). Prostaglandin E₂ (PGE₂) is able to change synthesis of the insulin mediated growth factor, and consequently hamper bone formation. CLA competes with other polyunsaturated fatty acids, thus inhibiting the formation of PGE₂ via cyclooxygenase (38,39). Results obtained in the present work indirectly suggest that CLA supplementation for 42 days enhanced bone mineralization of animals of groups AE and CO, since they exhibited higher ash content than the control group.

There are several possible mechanisms for the reduced fat accumulation in response to CLA feeding, such as a decrease in pre-adipocyte proliferation and differentiation, increase fatty acid oxidation, as evidenced by increased carnitine palmitoyltransferase activity, increase of energy expenditure, reduction of esterification of fatty acids into triacylglycerols, and changes in the activity of enzyme lipoprotein lipase, and the hormone leptin (18,19,40). With regard to serum leptin concentration (ng/mL), it was found that experimental groups AE and CO, which received CLA supplementation, had statistically smaller values ($p = 0.05$) than the control group, which received linoleic acid (Table 4), corresponding to a reduction of 22.4%. Ours results showed that both commercial conjugated linoleic acid mixtures reduced body fat mass and serum leptin concentrations in Wistar rats ($p = 0.05$). Similar results were found by Rahman and collaborators (41), when Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats fed AIN-93G which received 1% of a CLA isomer mixture in the form of triacylglycerol and in the form of free fatty acids, exhibited a significant reduction of serum leptin. Corroborating these results, Akahoshi et al. (42) found a significant reduction of serum leptin values in mice fed 1% of CLA for 8 weeks. More recently, Sprague-Dawley rats had a reduction in serum leptin values after supplementation with 1.5% of a CLA mixture for 3 weeks (43). The decreased levels of serum leptin and body fat mass might be coordinated responses. However, there might be reasons for the effects of CLA on serum leptin concentration. First, CLA incorporated into membrane phospholipids fractions might have effects on signal transducing pathways and modify leptin production (44). Second, CLA could activate peroxisome proliferator activated receptors γ (PPAR γ) might reduce leptin gene expression (45).

Leptin, a protein hormone produced by adipocytes, reflects the body fat content. Thus, obese individuals have higher serum leptin concentration than lean individuals, i.e., there is a positive correlation between serum leptin content and body fat (46). In the present work, animals supplemented for 42 days with 2% of CLA relative to the mean daily feed consumption displayed a moderate positive correlation between serum leptin values and body fat ($r = 0.74672$, $p < 0.0001$) (Figure 1). Akahoshi et al. (42) found the same positive corre-

lation of $r = 0.74$, $p < 0.0001$ between fat content of epididymal adipose tissue and serum leptin.

Antiatherogenic properties were attributed to CLA and are believed to be a result, at least in part, of changes in lipoprotein metabolism (47,48). However, the reported effects of CLA on blood lipids are controversial. Serum triacylglycerol content (mg/dL) presented in Table 4 did not show a statistically significant difference ($p > 0.05$). Likewise, Azain et al. (33) did not observe differences in serum triacylglycerol content in Sprague-Dawley supplemented with 0.25 and 0.5% of CLA for 5 weeks. These results can be explained in terms of physiological effects of CLA on adipocytes. CLA is able to reduce lipoprotein lipase (LPL) activity and intracellular concentrations of triacylglycerol and glycerol. Therefore the unchanged triacylglycerol content in this study could have resulted from the lesser activity of the LPL, making that triacylglycerol remained in circulating lipoproteins (13,49,50).

In conclusion, the results obtained in the present study indicates that supplementation with conjugated linoleic acid in the concentration of 2% of mean daily feed consumption decreased content of body fat and adipose depots, but increased body protein content without growth performance changes, confirming the ability of CLA to modifies body composition in growing rats, when fat deposits are in formation. Metabolic changes that occurred seem to simultaneously promote reduction of lipogenesis and enhancement of lipolysis. Further research is need in order to verify the action mechanisms of CLA in young individuals, in a more profound studies.

ACKNOWLEDGMENTS

To Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo for the financial support (Process no. 03/07648-4), and to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico for the scholarship granted (APB) (Process no. 133874/2003-6). To the Laboratory of Micronutrients of the Pontifical Catholic University of Campinas for the use of the lyophilizer.

REFERENCES

1. Parodi PW. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J Dairy Sci* 1977; 60:1550-1553.
2. Ha YL, Grima NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 1987; 8:1881-1887.
3. Ostrowska E, Walker GP, Doyle PT, Dunshea FR. Milk conjugated linoleic and trans-vaccenic acids are highest in Spring in grazing cows. *Asia Pac J Clin Nutr* 2004; 13:S53.
4. Bauman DE, Baumgard LH, Corl BA, Griinari JM. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proc Am Soc Anim Sci* Available at: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>, 1999.

5. Salas-Salvadó J, Marquez-Sandoval F, Bulló M. Conjugated linoleic acid intake in humans: a systematic review focusing on its effects on body composition, glucose, and lipid metabolism. *Crit Rev Food Sci* 2006; 46:479-488.
6. Yurawecz MP, Sehat N, Mossoba MM, Roach JAG, Kramer JKG, Ku Y. Variations in isomer distribution in commercially available conjugated linoleic acid. *Fett/Lipid* 1999; 101:277-282.
7. Bawa S. An update on the beneficial roles of conjugated linoleic acid (CLA) in modulating human health: mechanisms of action – a review. *Pol J Food Nutr Sci* 2003; 12:3-13.
8. Sebedio JL, Gnaedig S, Chardigny J. Recent advances in conjugated linoleic acid research. *Curr Opin Clin Nutr* 1999; 2:499-506.
9. Choi N, Kwon D, Yun SH, Jung MY, Shin H. Selectively hydrogenated soybean oil with conjugated linoleic acid modifies body composition and plasma lipids in rats. *J Nutr Biochem* 2004; 15:411-417.
10. Park Y, Storkson JM, Ntambi JM, Cook ME, Sih CJ, Pariza MW. Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids* 1999; 34:235-241.
11. Park HS, Cho HY, Ha YL, Park JHY. Dietary conjugated linoleic acid increases the mRNA ratio of Bax/Bcl-2 in the colonic mucosa of rats. *J Nutr Biochem* 2004; 15:229-235.
12. Tanmahasamut P, Liu J, Hendry LB, Sidell N. Conjugated linoleic acid blocks estrogen signaling in human breast cancer cells. *J Nutr* 2004; 134:674-680.
13. Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids* 1997; 32:853-858.
14. Deckere EAM, Amelsvoort JMMV, Mcneill GP, Jones P. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. *Br J Nutr* 1999; 82:309-317.
15. Ostrowska E, Muralitharan M, Cross RF, Bauman DE, Dunshea FR. Dietary conjugated linoleic acid increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J Nutr* 1999; 129:2037-2042.
16. Zambell KL, Keim NL, Loan MDV, Gale B, Benito P, Kelley DS, et al. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition and energy expenditure. *Lipids* 2000; 35:777-782.
17. Sisk MB, Hausman DB, Martin RJ, Azain MJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese Zucker rats. *J Nutr* 2001; 131:1668-1674.
18. Wang YM, Jones PJH. Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. *Int J Obesity* 2004; 28:941-955.
19. Wang YM, Jones PJH. Dietary conjugated linoleic acid and body composition. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:1153S-1158S.
20. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993; 123:1939-1951.
21. Goena M, Marzo F, Fernández-González L, Tosar A, Frühbeck G, Santidrián S. Effect of the raw legume *Vicia ervilha* on muscle and liver protein metabolism in growing rats. *Rev Esp Fisiol* 1989; 45:55-60.
22. Botelho AP, Santos-Zago LF, Reis SMPM, Oliveira AC. Conjugated linoleic acid supplementation decreased the body fat in Wistar rats. *R Nutr* 2005; 18:561-565.
23. Christie WW. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J Lipid Res* 1982; 23:1072-1074.
24. Sehat N, Kramer JK, Mossoba MM, Yurawecz MP, Roach JAG, Eulitz K, et al. Identification of conjugated linoleic acid isomers in cheese by gas chromatography, silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. *Lipids* 1998; 33:963-971.
25. Cunniff P (ed): "Association Of Official Analytical Chemists - AOAC. Official methods of analysis", 16 ed. Virginia: AOAC International, 1995. v. 1.
26. Lees R: "Laboratory handbook of methods of food analysis", 1st ed. Zaragoza, 1979.
27. SAS Institute Project for Windows: User's Guide: statistics. Version 8.0. Cary: USA inst., 2003.
28. Levin J: "Estatística Aplicada a Ciências Humanas", 1st ed. São Paulo, 1978.
29. Snedecor GW: Métodos de estatística: su aplicación a experimentos en agricultura y biología, 1st ed. Buenos Aires, 1948.
30. Boissonneault GA, Elson CE, Pariza MW. Net energy effects of dietary fat on chemically induced mammary carcinogenesis in F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 1986; 76:335-338.
31. Medina EA, Horn WF, Keim NL, Havel PJ, Benito P, Kelley DS, et al. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids* 2000; 35: 783-788.
32. Delany JP, Blohm F, Truett AA, Scimeca JA, West, DB. Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Am J Physiol* 1999; 276:R1172-R1179.
33. Azain MJ, Hausman DB, Sisk MB, Flatt WP, Jewell DE. Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. *J Nutr* 2000; 130:1548-1554.
34. Wang YM, Jones PJH. Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. *Int J Obesity* 2004; 28: 941-955.
35. Sanders SR, Teachey MK, Ptock A, Kraemer K, Hasselwander O, Henriksen EJ, et al. Effects of specific conjugated linoleic acid isomers on growth characteristics in obese Zucker rats. *Lipids* 2004; 39:537-543.
36. Greife HA, Klotz G, Berschauer F. Effects of the phenethanolamine clenbuterol on protein and lipid metabolism in growing rats. *J Anim Physiol Anim Nutr* 1989; 61:19-27.
37. Ji H, Bradley TM, Tremblay GC. Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed L-carnitine exhibit altered intermediary metabolism and reduced tissue lipid but not change in growth rate. *J Nutr* 1996; 126:1937-1950.
38. Li Y, Watkins BA. Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E₂ biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids. *Lipids* 1998; 33:417-425.

39. Li Y, Seifert MF, Ney DM, Grahn M, Grant AL, Allen KDG, et al. Dietary conjugated linoleic acids alter serum IGF-1 and IGF binding protein concentrations and reduce bone formation in rats fed (n-6) or (n-3) fatty acids. *J Bone Miner Res* 1999; 14:1153-1162.
40. Whigham LD, Watras AC, Schoeller DA. Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: a meta-analysis in humans. *Am.J Clin Nutr* 2007; 85:1203-1211.
41. Rahman SM, Wang YM, Yotsumoto H, Cha JY, Han SY, Inoue S, et al. Effects of conjugated linoleic acid on serum leptin concentration, body-fat accumulation, and β -oxidation of fatty acid in OLETF rats. *Nutrition* 2001; 17:385-390.
42. Akahoshi A, Goto Y, Murano K, Miyazaki T, Yamasaki M, Nonaka M, Yamada K, et al. Conjugated linoleic acid reduces body fats and cytokine levels of mice. *Biosci Biotech Bioch* 2002; 66:916-920.
43. Yamasaki M, Kishihara K, Mansho K, Ogino Y, Kasai M, Sugano M, et al. Dietary conjugated linoleic acid increases immunoglobulin productivity of Sprague-Dawley rat spleen lymphocytes. *Biosci Biotech Bioch* 2000; 64:2159-2164.
44. Ip C, Scimeca JA, Thompson HJ. Conjugated linoleic acid, a powerful anticarcinogen from animal fat sources. *Cancer* 1994; 74:1050-1054.
45. Zhang B, Graziano MP, Doebber TW, Leibowitz MD, White-Carrington S, Szalkowski DM, et al. Down-regulation of the expression of the obese gene by an antidiabetic thiazolidinedione in Zucker diabetic fatty rats and db/db mice. *J Biol Chem* 1996; 271:9455-9459.
46. Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Clin Endocr Metab* 1996; 81:3909-3913.
47. Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 1994; 108:19-25.
48. Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JA, Huth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 1997; 22:266-277.
49. Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res* 2001; 40: 283-298.
50. Szymczyk B, Pisulewski P, Szczurek W, Hanczakowski P. The effects of feeding conjugated linoleic acid (CLA) on rat growth performance, serum lipoproteins and subsequent composition of selected rat tissues. *J Sci Food Agr* 2000; 80:1553-1558.

Recibido: 28-01-2008

Aceptado: 28-06-2008

Factores asociados al uso de suplementos alimenticios en mujeres mexicanas de 12 a 49 años de edad

Fabiola Mejía-Rodríguez, Martha Camacho-Cisneros, Armando García-Guerra, Eric Monterrubio-Flores, Teresa Shamah-Levy, Salvador Villalpando Hernández

Centro de Investigación en Nutrición y Salud (CINyS), Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), Cuernavaca, Morelos, México

RESUMEN. Los objetivos de este análisis son: caracterizar los suplementos alimenticios (SA) de mayor consumo, así como explorar la asociación del consumo SA con características sociodemográficas, antropométricas, y anemia, en una muestra representativa de mujeres, entre 12 a 49 años de edad (n=15,936), incluidas en la Encuesta Nacional de Nutrición, de 1999, en México. Se usó un modelo de regresión logística múltiple para calcular probabilidades (P) de consumo de SA, según características a nivel individual y del hogar, incluyendo términos de interacción ajustando por diseño de la Encuesta. Los SA más consumidos fueron el grupo de vitaminas con minerales (36.7%) y el de vitaminas (34.3%). La mayor probabilidad estadísticamente significativa ($p < 0.05$) de consumo de SA se encontró con estar casada ($P=0.16$; $p < 0.001$), ser derechohabiente de servicios de salud ($P=0.18$; $p=0.010$), tener un nivel de educación superior ($P=0.20$; $p=0.004$) y vivir en la región sur del país ($P=0.20$; $p=0.003$). La anemia modificó la relación entre consumo de SA y nivel socioeconómico ($p=0.016$). Estos resultados sugieren que el consumo de SA está relacionado con mejores condiciones de vida en mujeres mexicanas. Por otro lado, en la región sur hubo más probabilidad de uso de SA comparada con región Norte, lo cual podría estar relacionado con recibir suplementos por medio de programas de ayuda alimentaria. En el presente análisis no pudimos explorar esta posibilidad. Esta información podría servir de base para evaluar tendencias, así como riesgos y beneficios en la salud en esta población del uso de suplementos alimenticios.

Palabras clave: Suplementos alimenticios, vitaminas, minerales, mujeres, México.

SUMMARY. Factors associated with nutritional supplement consumption in Mexican women aged 12 to 49 years. The objectives of this analysis are to identify the types of nutritional supplements (NS) commonly used and explore the associations between NS consumption and socio-demographic characteristics, nutritional status, measured as BMI, and anemia in a nationally representative sample Mexican women aged 12 to 49 years (n=15,936) who participated in the Mexican National Nutrition Survey in 1999. Data on NS consumption and the other characteristics of interest were collected. We calculated the probability (P) of supplement consumption using logistic regression. For the statistical analysis characteristics at the individual and household level were included in the statistical models, and adjusted for the study design. Interaction effects were also explored. Multiple mixed vitamin and mineral supplements were the most commonly consumed (36.7%) followed by vitamins only (34.3%). Married women were significantly ($p < 0.05$) more likely ($P=0.16$; $p < 0.001$) to consume NS compared to unmarried women, as were those with more access to public and private health care ($P=0.18$; $p=0.010$), with higher education level ($P=0.20$; $p=0.004$) and living in the South region ($P=0.20$; $p=0.003$). Anemia modified the association between supplement consumption and socioeconomic status (SES) ($p=0.016$), non anemic women having greater probabilities of NS consumption. These results suggest that NS use among Mexican women is associated with better living conditions. On the other hand, we also found that women living in the South region, the poorest region of the country, had higher probability of NS consumption compared to the North region. This could be related to participation in food assistance programs; however we were unable to explore this potential explanation. This information will be used to further study trends, risks and health benefits in this population of the use of nutritional supplements.

Key words: Nutritional supplement, vitamins, minerals, women, Mexico.

INTRODUCCION

El uso de suplementos alimenticios (SA) presenta un aumento en países desarrollados (1-5). En Japón, dependiendo de la región de la que se trate, la proporción se encuentra entre 10% y 34% para ambos sexos (6); mientras que en los Estados Unidos de América la proporción de mujeres mexicanas que los consumen es de 29% (7). En Cuba se

reporta que 29% de las mujeres usan algún tipo de suplemento alimenticio (8). En México, de acuerdo con los datos de la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999 (ENN-99) el 18% de mujeres de entre los 12 y 49 años de edad son consumidoras de este tipo de suplementos (9).

La ingesta de SA en países desarrollados se ha asociado con una mejor calidad de vida. Principalmente, se ha observado que a mayor educación, ocupación con altos ingresos y

nivel socioeconómico (NSE) alto, aumentan las posibilidades de consumirlos; asimismo, una mejor condición de salud es otro factor determinante de su uso (10-12). Además, se ha encontrado que el mayor consumo lo realizan mayoritariamente las mujeres (11).

En México no se cuenta con algún informe acerca de los factores que condicionen o estén asociados al consumo de suplementos en mujeres en edad reproductiva. Se ha reportado que antes del levantamiento de la ENN-99 los programas de alimentación y nutrición no tenían dentro de sus acciones la repartición de SA, con la excepción del programa de suplementación con megadosis de vitamina A, el cual tiene como población objetivo a niños y niñas prescolares y no a mujeres en edad reproductiva (13,14).

Por otra parte, para 1999, en un análisis sobre uso de SA y la contribución al consumo dietético en mujeres de entre 12 a 49 años de edad, se encontró una asociación con mayor consumo de hierro, folato y vitamina C (15), evidenciando una ingesta, superior al límite recomendado (UL, por sus siglas en inglés) en aquellas mujeres que consumían suplementos, en comparación con las que no realizaron esta práctica. Sin embargo, no se diferenció el consumo por características sociodemográficas en esta población. Por lo tanto, los objetivos del presente estudio fueron explorar el nivel de asociación del consumo de SA con nivel socioeconómico, nivel de educación, presencia de anemia, alfabetismo, estado civil, beneficio de ayuda alimentaria y derechohabencia a servicios de salud, así como caracterizar los SA de mayor consumo en una muestra representativa de mujeres mexicanas de entre 12 a 49 años de edad, incluidas en la ENN-99.

MATERIAL Y METODOS

Los datos para el presente análisis provienen de la información recabada en la ENN-99, efectuada entre octubre de 1998 y marzo de 1999. El procedimiento de selección de las viviendas fue probabilístico, polietápico, estratificado y por conglomerado. Detalles de la Encuesta ya han sido publicados (9,16). Esta encuesta fue representativa tanto para el ámbito nacional, como para las cuatro regiones geográficas de México (norte, centro, Ciudad de México y sur), así como para las áreas rural y urbana del país. El presente análisis contempla a 15,936 mujeres, de las 18,311 de entre 12 a 49 años de edad que en el momento de la entrevista reconocieron no estar embarazadas, y de quienes se obtuvo información completa acerca de consumo de suplementos alimenticios, concentración de hemoglobina, peso y talla, condición socioeconómica, nivel de educación, derechohabencia a servicios de salud, asistencia de programas de ayuda alimentaria, alfabetismo y estado civil.

Colección de datos

Consumo de suplementos. En la ENN-99 se preguntó a las mujeres el nombre de los SA que tenían en el hogar al momento de la entrevista y la frecuencia de consumo de éstos en los últimos seis meses, independientemente de que los hubieran obtenido comercialmente o de forma gratuita. Los suplementos fueron clasificados en seis categorías, de acuerdo con el contenido indicado en la etiqueta comercial del producto: I) vitaminas, II) minerales, III) múltiples vitaminas y minerales, IV) múltiples vitaminas y minerales más energía y macronutrientes, V) naturistas y VI) otros de contenido desconocido o no especificados. La categoría de vitaminas se formó con aquellos que contenían una o más vitaminas de tipo lipo o hidrosoluble, y para la categoría de minerales se consideraron uno o más de los elementos minerales. La categoría de vitaminas y minerales incluye aquellos en los que se indicaba tener vitaminas y minerales juntos en el mismo producto. En la categoría de suplementos con energía o macronutrientes se consideraron cuando se reportaba en su etiqueta tener algún macronutriente (proteínas, hidratos de carbono y lípidos). En la categoría naturistas se consideraron aquellos que la mujer reportó como naturistas y algunos compuestos con principios de la herbolaria. En la última categoría de otros o no especificados se contempló a aquellos suplementos que reportaron haberse consumido y de los cuales no recordaron el nombre comercial, o cuando no se encontró información disponible sobre su contenido. Los detalles de esta clasificación ya han sido publicados (15).

La frecuencia de consumo se categorizó como diaria, 3 a 6 veces, 1 a 2 veces a la semana, o dosis única (considerada como una sola ocasión de consumo en los últimos seis meses). La duración se clasificó en menos de 1 mes, de 1 a 2 meses, de 3 a 4 meses, o más de 4 meses.

Anemia. Se obtuvo una muestra de sangre capilar para medir, en un fotómetro portátil (HemoCue, Angelholm, Sweden) la concentración de hemoglobina. Se clasificó como anemia cuando la concentración de hemoglobina fue menor de 120 g/L (17), ajustando por la altitud sobre el nivel del mar de cada localidad en la que vivían las mujeres, según el método de Cohen y Haas (18). El HemoCue se utilizó de acuerdo con métodos recomendados, calibrando diariamente el instrumento, antes de las mediciones (19).

Medidas antropométricas. El peso y la estatura se obtuvieron de acuerdo con metodologías estándares (20). Se construyó el índice de masa corporal (IMC, kg/m²) y se transformó en una variable categórica, clasificando a las mujeres con bajo peso (IMC<18.5), peso normal (IMC=18.5-24.9), con sobrepeso (IMC=25.0-29.9), y con obesidad (IMC>30) (21).

Condiciones sociodemográficas

Con la información recabada sobre características de la vivienda, servicios básicos y posesión de enseres domésticos se construyó un índice *proxy* de NSE mediante el análisis de componentes principales, tomando el primer factor que explicó 51.6% de la variabilidad, y el cual se dividió en terciles (bajo, medio y alto) (22). Para la conformación del índice se incluyó en el modelo sólo las variables con cargas mayores a 0.7 en el primer factor. Las variables que se incluyeron fueron: material del piso, disponibilidad de agua, posesión de refrigerador, de lavadora y de estufa, y el número de los siguientes aparatos electrónicos en el hogar: radio, televisor, video, teléfono y computadora. El nivel de escolaridad fue clasificado en cinco categorías, según el último grado de estudio cursado: primaria, secundaria, bachillerato o equivalente, nivel superior o más, y sin educación escolar; en esta última categoría se consideró también a aquellas mujeres que informaron no haber concluido la primaria. La asistencia en programas de ayuda alimentaria fue definida en dos categorías: ser beneficiario o no de un programa de abasto de alimentos. El alfabetismo fue dividido en dos categorías: alfabeta, definido como la habilidad para leer o escribir un mensaje, y analfabeta como lo contrario. El estado civil se clasificó en casadas o con pareja formal (incluyó las de unión libre), y en no tener pareja (viudas, separadas, divorciadas y solteras). La variable derechohabiencia a servicios de salud fue dividida en dos categorías: con derechohabiencia (tener acceso privado o público al cuidado de la salud), y sin derechohabiencia.

Cuestiones éticas

El consentimiento informado en forma escrita fue obtenido de las mujeres antes de participar en la encuesta. El protocolo de la ENN-99 fue aprobado por los Comités de Ética, Investigación y Bioseguridad del Instituto Nacional de Salud Pública, de México, ubicado en Cuernavaca, Morelos. Para garantizar la confidencialidad se utilizó un folio de identificación único para cada una de las participantes en la ENN-99.

Análisis de datos

Todos los análisis se ajustaron por el diseño de muestreo de la Encuesta, utilizando el módulo SVY para muestras complejas del programa STATA (Versión 9.2, College Station, Texas, USA, Stata Corp, 2006). Se recalcularon los factores de expansión para esta muestra y, con ello, conservar la representatividad de las mujeres en el ámbito nacional (23). Se presentan la media y la desviación estándar de la concentración de hemoglobina y de la edad de las mujeres, así como la caracterización del consumo de SA de las mujeres mexicanas, mediante proporciones, con sus intervalos de confianza (95%) para el ámbito nacional, y desagregando por las características sociodemográficas.

La asociación entre el consumo de suplementos alimenticios y las variables sociodemográficas se hizo a partir de un modelo de regresión logística múltiple, corrigiendo el efecto del diseño de la Encuesta mediante métodos de linealización. Se partió de un modelo saturado y se eliminaron las interacciones y variables que no fueran estadísticamente significativas; sólo se incluyeron en el modelo aquellas variables que fueran plausibles, considerando sus posibles interacciones. Se consideró un valor $p < 0.05$ como estadísticamente significativo para efectos principales, y una $p < 0.10$ para términos de interacción. El modelo final se evaluó mediante la prueba de bondad de ajuste Hosmer y Lemeshow (24). A partir del modelo de regresión logística obtenido se calcularon las probabilidades ajustadas [P] tanto para los efectos principales, como para los términos de interacción (23,24). Las probabilidades ajustadas se calcularon promediando las posibles combinaciones de los percentiles (25, 50 y 75) de las variables continuas (edad de la mujer, IMC y NSE), con el siguiente perfil: mujeres casadas, sin anemia, con nivel educativo de secundaria, alfabetas, de la región norte, del área urbana, de hogares que no recibieron ayuda alimentaria y que no eran derechohabientes de servicios de salud. Dicho perfil se obtuvo de acuerdo con las características predominantes de la muestra.

RESULTADOS

Consumo de suplementos

La prevalencia de consumo de cualquier tipo de suplemento fue de 18.0 %. Los tipos de suplementos alimenticios más consumidos fueron los de múltiples vitaminas y minerales (36.7%) y los de sólo con vitaminas (34.3%). Después, siguieron los suplementos sólo con minerales (16.9%), y los con múltiples vitaminas y minerales más energía y macronutrientes (4.3%). El tipo menos consumido fue el grupo de naturistas (0.2%), y 13.8% de las mujeres reportó otros tipos de suplementos de contenido desconocido o no especificado. Más de 85% informó consumir diariamente los clasificados como naturistas, los de sólo con minerales y las formas combinadas de vitaminas y minerales.

Variables asociadas al consumo de suplementos

En la Tabla 1, se presentan las características de las mujeres, según el consumo de suplementos alimenticios. Sin hacer ningún tipo de ajuste por otras variables se observa, en términos generales, una mayor proporción de mujeres con IMC normal y con sobrepeso, con NSE alto, en su mayoría, alfabetas y más de la mitad casadas o tienen pareja formal. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre consumidoras y no consumidoras.

TABLA 1
Características de mujeres mexicanas según consumo de suplementos alimenticios

Características	Si consumen (18.1 %, n = 2,728)	No consumen (81.9 %, n = 13,208)	General (100.0 %, n = 15,936)
	Media ± D.E. *		
Edad (años)	29.9 ± 14.9	27.7 ± 13.8	28.1 ± 13.7
Hemoglobina (g/L)	133.6 ± 26.4	135.8 ± 28.3	134.5 ± 28.8
	% (I. C. 95%) †		
IMC (kg/m ²)			
<18.5	3.0 (2.3 – 3.9)	1.4 (1.1 – 1.7)	1.7 (1.4 – 2.0)
18.5 – 24.9	49.9 (47.2 – 52.5)	45.5 (44.2 – 46.8)	46.3 (45.2 – 47.5)
25.0 – 29.9	30.3 (27.9 – 32.8)	30.8 (29.6 – 31.9)	30.7 (29.6 – 31.8)
>30	16.8 (14.9 – 18.9)	22.3 (21.3 – 23.4)	21.3 (20.3 – 22.3)
Anemia (Hb<120 g/L)	17.8 (16.1 – 19.8)	18.0 (17.0 – 19.0)	17.9 (17.1 – 18.9)
Nivel socioeconómico			
Bajo	17.4 (15.4 – 19.6)	28.0 (26.3 – 29.8)	26.1 (24.5 – 27.7)
Medio	27.7 (25.3 – 30.3)	31.8 (30.1 – 33.4)	31.0 (29.5 – 32.6)
Alto	54.9 (51.9 – 57.8)	40.2 (38.5 – 42.0)	42.9 (41.3 – 44.6)
Nivel de educación			
Primaria	32.6 (30.2 – 35.2)	41.0 (39.5 – 42.4)	39.4 (38.1 – 40.8)
Secundaria	25.8 (23.3 – 28.4)	27.6 (26.4 – 28.9)	27.3 (26.2 – 28.5)
Nivel bachillerato o equivalente	22.1 (19.8 – 24.8)	15.5 (14.5 – 16.6)	16.7 (15.8 – 17.8)
Nivel superior	15.0 (12.8 – 17.4)	8.3 (7.4 – 9.3)	9.5 (8.6 – 10.5)
Sin educación	4.5 (3.6 – 5.5)	7.6 (6.8 – 8.6)	7.1 (6.3 – 7.9)
Alfabetas	95.5 (94.4 – 96.3)	92.7 (91.8 – 93.6)	93.2 (92.4 – 94.0)
Reciben ayuda alimentaria	20.2 (17.9 – 22.7)	25.4 (23.8 – 27.1)	24.5 (22.9 – 26.0)
Casadas o con pareja formal	62.8 (60.3 – 65.3)	56.0 (54.8 – 57.3)	57.3 (56.1 – 58.4)
Con derechohabiencia	57.3 (54.5 – 60.1)	46.9 (45.1 – 48.7)	48.8 (47.1 – 50.5)
Area			
Urbana	79.7 (77.5 – 81.8)	75.3 (74.0 – 76.6)	76.1 (74.9 – 77.3)
Rural	20.3 (18.2 – 22.5)	24.7 (23.4 – 26.0)	23.9 (22.7 – 25.1)
Región del país			
Norte	19.0 (17.0 – 21.2)	18.2 (17.2 – 19.1)	18.3 (17.5 – 21.2)
Centro	30.4 (27.4 – 33.5)	31.7 (30.1 – 33.3)	31.4 (29.9 – 32.9)
Area metropolitana y Cd. México	18.7 (16.3 – 21.4)	18.8 (17.5 – 20.2)	18.8 (17.7 – 20.0)
Sur	31.9 (29.1 – 34.8)	31.3 (29.8 – 32.9)	31.5 (29.9 – 32.9)

* Media ± D.E. † % (Intervalos de Confianza al 95%) ajustados por el diseño de muestreo de la ENN-99.

Los coeficientes de regresión del modelo logístico (Tabla 2) mostraron que existe asociación entre el consumo de suplementos alimenticios y las variables explicativas asociadas estadísticamente. Las variables asociadas positivamente al consumo de suplementos fueron: estado civil (mujer casada o con pareja formal) ($p < 0.001$), tener derechohabiencia a servicios de salud ($p = 0.010$), tener un nivel de educación de secundaria ($p = 0.033$), medio superior ($p = 0.002$) y superior o más ($p = 0.004$), y vivir en la región sur del país ($p = 0.003$).

Probabilidades ajustadas de consumo, sin modificadores de asociación

En la Figura 1 se muestran las probabilidades ajustadas, según el modelo de regresión logístico múltiple (Tabla 2), de las variables asociadas estadísticamente con el consumo de suplementos. La mayor probabilidad ajustada de consumo [P] se encontró para las mujeres que reportaron tener un nivel educativo mayor al del bachillerato [P=0.20], para las que viven en la región sur del país [P=0.20], para quienes cuentan con derechohabiencia a servicios de salud [P=0.18] y para aquellas que están casadas [P=0.16].

TABLA 2

Factores asociados con el consumo de suplementos alimenticios en mujeres mexicanas de 12 a 49 años de edad

VARIABLES	Coeficiente	Valor de p^*
Edad (años)	0.0172	0.409
Anemia (hemoglobina <120 g/L)	0.0336	0.640
IMC (kg/m ²)	-0.1050	0.000
NSE, (puntaje)	0.1939	0.049
Casada o con pareja (sí o no)	0.3268	0.000
Derechohabiencia (sí o no)	0.1769	0.010
Alfabeta (sabe leer y escribir)	0.6467	0.184
Ayuda alimentaria (sí o no)	0.1127	0.261
Educación primaria completa	0.3696	0.113
Educación secundaria completa	0.5251	0.033
Educación media superior completa	0.7588	0.002
Educación superior o más	0.7811	0.004
Área urbana (sí o no)	-0.2010	0.040
Región Centro (sí o no)	0.0266	0.788
Región Cd. México (sí o no)	-0.1034	0.396
Región Sur (sí o no)	0.2747	0.003
IMC * edad	0.0011	0.080
NSE * edad	0.0075	0.012
Alfabeta * edad	-0.0207	0.102
Anemia * NSE	-0.1872	0.016
Ayuda alimentaria * Area	-0.2724	0.071

* valor p de modelo de regresión logística ajustado por el diseño de la ENN-99; $F(21,1393) = 15.51$; $p > F = 0.000$; prueba de Hosmer y Lemeshow, $p = 0.34$.

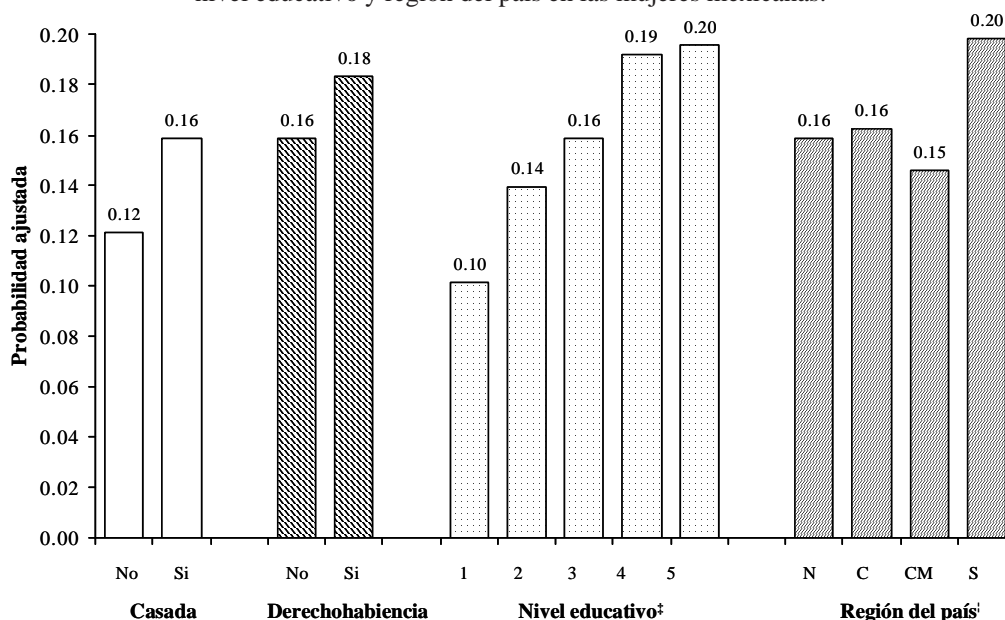
Probabilidades ajustadas de consumo, con modificadores de asociación

En las Figuras de contorno 2.1 y 2.2 se muestran las probabilidades de las variables que modificaron la asociación entre consumo de suplementos y NSE e IMC y edad. Se observa que estas probabilidades de consumo de suplementos son mayores conforme aumenta la edad y disminuye el IMC, por ejemplo, a una edad de 20 años y con IMC de 30, la probabilidad de consumo es de 0.10, mientras que con esa misma edad y con un IMC de 20 la probabilidad de consumo es mayor [$P=0.20$] (Figura 2.1). Se observa también que cuando la edad es mayor y se mejora el NSE hay un aumento estadísticamente significativo ($p=0.012$) en la probabilidad de consumo de suplementos (Figura 2.2).

La probabilidad ajustada de la modificación estadísticamente significativa ($p=0.102$) entre edad y alfabetismo con el consumo de suplementos, mostró que el cambio se da aproximadamente después de los 30 años de edad (Figura 3.1). Este mismo patrón se encuentra en mujeres con mayor NSE y no anémicas, es decir, a mayor NSE, aumenta la probabilidad de consumo significativamente ($p=0.016$), y es superior en las mujeres no anémicas (Figura 3.2). Se observó que las mujeres en el área rural que reciben ayuda alimentaria son las que tienen mayor probabilidad, estadísticamente significativa ($p=0.071$), (Figura 3.3) de consumo de suplementos.

FIGURA 1

Probabilidades ajustadas de consumo de suplementos alimenticios, según estado civil, derechohabiencia, nivel educativo y región del país en las mujeres mexicanas.*



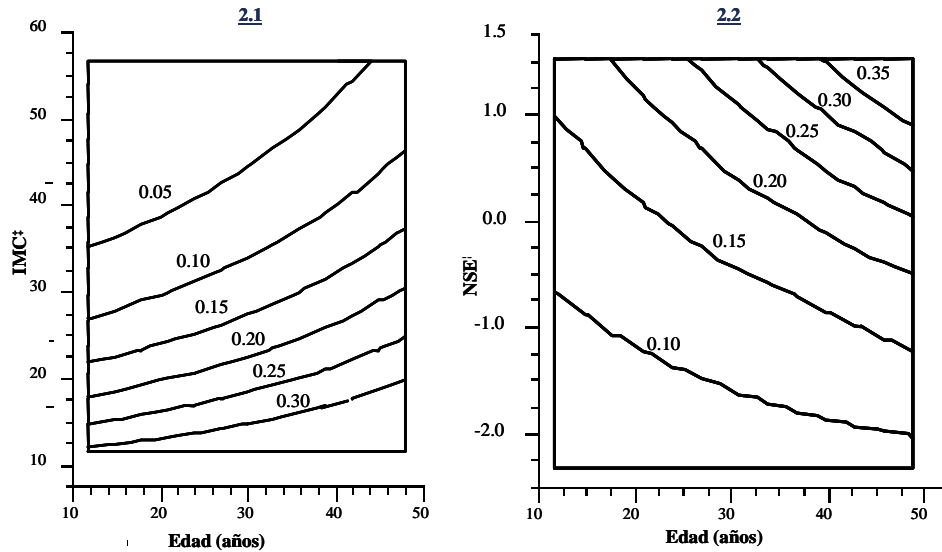
* Categorías de las variables (sin modificadores de asociación) obtenidas del modelo de regresión logística presentado en la Tabla 2.

‡ Nivel educativo: 1= Sin escolaridad, 2=Primaria, 3=Secundaria, 4=Bachillerato, 5=profesional o más.

‡ Región del País: N=Norte, C=Centro, CM= Ciudad de México, S=Sur.

FIGURA 2

Gráficas de contorno para las probabilidades ajustadas de consumo de suplementos alimenticios con las interacciones observadas.*



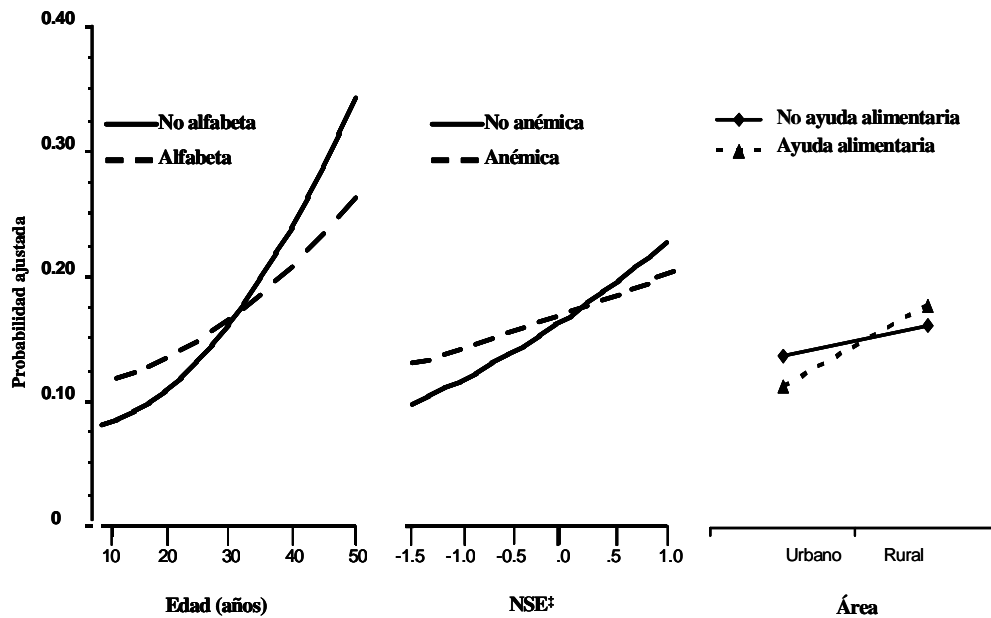
* Interacciones entre el Consumo de Suplementos con IMC y Edad y también con Edad y NSE; obtenidas del modelo de regresión logística presentado en la Tabla 2.

‡ Índice de Masa Corporal (kg/m²) como variable continua.

‡ Nivel socioeconómico como variable continua.

FIGURA 3

Probabilidades ajustadas de consumo de suplementos alimenticios con las interacciones observadas.*



* Interacciones entre el Consumo de Suplementos con la Edad y alfabetismo, con NSE y Anemia y con Área y Ayuda Alimentaria; obtenidas del modelo de regresión logística presentado en la Tabla 2.

‡NSE=Nivel socioeconómico como variable continua.

DISCUSION

Este estudio muestra que en México el consumo de suplementos alimenticios en mujeres de entre 12 a 49 años de edad está asociado positivamente con el estar casada o tener pareja formal, contar con derechohabencia a servicios de salud y tener mayor escolaridad, siendo concordantes las asociaciones con la literatura consultada (10-12). Cabe destacar que también se encontró una asociación de consumo de suplementos con vivir en la región sur del país, en la cual, si bien es la región más pobre, este patrón de consumo podría estar relacionado con la distribución de ayuda alimentaria, pero en este análisis no pudimos establecer esta asociación. Asimismo, el consumo se asocia en forma inversa al IMC de las mujeres y positivamente al NSE y al alfabetismo de éstas. Sin embargo, estas asociaciones son modificadas por su edad, en forma positiva. Asimismo, la relación del consumo de suplemento y el NSE es modificada por la presencia o no de anemia. La asociación entre el consumo de suplemento y el área de residencia de las mujeres es modificada por la ayuda alimentaria que se reciba o no en el hogar.

Consumo de suplementos

El consumo reportado por las mujeres mexicanas de entre 12 a 49 años (18%), corresponde a la mitad del reportado en países desarrollados, el cual se encuentra alrededor de 30% (7-9), considerando que, además, el consumo de suplementos en estos países ha aumentado en los últimos años, tal es el caso de los Estados Unidos de América (25,26). Este diferencial en relación con los países desarrollados puede deberse a la influencia que tienen los medios de comunicación como la televisión, la radio, las revistas, la *internet*, e incluso por el personal de salud que motiva el consumo de suplementos alimenticios (27-29). Los cambios en los estilos de vida en México, más occidentalizados, sugerirían que se puede estar incrementando también el consumo de suplementos, sin embargo, no se tienen estudios que permitan observar este fenómeno.

Los principales tipos de suplementos consumidos fueron aquellos categorizados como vitaminas y la combinación de éstas más minerales, y el menor porcentaje fue para el grupo de naturistas, lo cual es consistente con otros estudios en los que se ha encontrado que el mayor consumo de suplementos en la población general son aquellos compuestos por múltiples vitaminas y minerales (12, 30, 31).

Aun cuando la proporción de consumo de suplementos naturistas es muy baja, 2%, son los de mayor duración de consumo, en comparación con los otros tipos de suplementos. Resultados similares han sido reportados por Gunther y colaboradores (32), quienes encontraron que el consumo de suplementos naturistas estuvo determinado por características de salud y sociodemográficas. Si bien en el presente trabajo

no se analizan en específico las asociaciones de suplementos naturistas, sí se observan asociaciones en el mismo sentido, pero con el consumo de suplementos en general.

VARIABLES ASOCIADAS Y PROBABILIDADES AJUSTADAS AL CONSUMO DE SUPLEMENTOS

No se encontró una asociación directa entre anemia y consumo de suplementos, pero sí encontramos una modificación de la asociación con el nivel socioeconómico. Observamos que a menor NSE, y cuando las mujeres presentan anemia, éstas tienen una probabilidad mayor de consumo, pero el pertenecer a un NSE alto la probabilidad se invierte, siendo las anémicas quienes tienen menor probabilidad de consumo. Congswel y colaboradores (33), hallaron que el uso de suplementos que contienen hierro estuvo asociado con una baja prevalencia de deficiencia de este elemento (6.1%) en mujeres de entre 19 a 50 años de edad. En el presente estudio desconocemos si el consumo de los diferentes tipos de suplementos estuvo relacionado con la deficiencia de micronutrientes. Sin embargo, Mejía Rodríguez y colaboradores (15) asociaron la contribución de suplementos a la dieta en una muestra representativa de mujeres mexicanas no embarazadas y no lactantes, en quienes encontraron que el consumo de suplementos contribuyó a la adecuación de la ingesta de algunos nutrientes (vitaminas A, B6, B12, C y folato; hierro y zinc). No obstante, refirieron que la contribución de los suplementos puede incrementar el riesgo de ingestiones por arriba del límite superior recomendado para otros nutrientes (hierro, folato y Vitamina B6).

En relación con el estado de nutrición de las mujeres, Ishihara y colaboradores (7), reportan que las prevalencias de consumo de suplementos tienden a disminuir conforme aumenta el IMC, lo cual es consistente con lo que observamos, lo que explica que la mayor proporción de mujeres (49.9%) que reconocieron consumir suplementos alimenticios presentan un IMC entre 18.5 a 24.9. Asimismo, observamos que esta asociación es modificada por la edad de las mujeres, es decir, se incrementa la probabilidad de consumo cuando éstas tienen mayor edad y cuando el IMC disminuye. Esta modificación de asociación no ha sido reportada en otros estudios.

El consumo de suplementos en países desarrollados se ha asociado con mayor nivel de educación y con un mejor NSE (4, 5, 10-12, 29), lo cual es consistente con nuestros resultados, en los cuales las mujeres con NSE alto tuvieron más probabilidad de consumir cualquier tipo de suplementos alimenticios. Se observó también que esta asociación es modificada por la edad de las mujeres, para quienes a mayor NSE y más edad se incrementa la probabilidad de consumo de suplementos. Nuestros resultados muestran que la probabilidad de consumo es mayor en mujeres alfabetas a edades tempranas, en relación con las analfabetas, y que a partir de los 30 años de edad esta relación se invierte, siendo mayor la proba-

bilidad en las analfabetas de mayor edad. No se observó una interacción entre nivel de educación y edad.

Por otra parte, el sur de México es la región donde se presentan la mayor prevalencia de anemia, y los mayores niveles de pobreza (34) y de deficiencia de micronutrientes (9). Según los resultados del modelo de regresión encontramos que vivir en esta región del país resultó en una mayor probabilidad de consumo de suplementos [$P=0.20$], en comparación con las otras regiones. Asimismo, la derechohabencia a servicios de salud resultó asociada y la probabilidad fue mayor para quienes contaban con ella. Esperábamos haber encontrado una modificación de la asociación entre anemia y programas de ayuda alimentaria o de derechohabencia a servicios de salud. Sin embargo, no resultó así; lo que encontramos fue una modificación de asociación entre consumo de suplementos con área de residencia y ayuda alimentaria. La probabilidad de consumo es mayor cuando se pertenece al área rural y se cuenta con ayuda alimentaria; no sabemos si por medio de la ayuda alimentaria o derechohabencia a servicios de salud se distribuía algún tipo de suplemento alimenticio, y cuál y cuánta población lo recibían. Sin embargo, de acuerdo con Rivera (13) y Barquera (14), durante los años previos a la aplicación de la ENN-99 los programas de alimentación y nutrición en México no distribuían suplementos, a excepción de la megadosis de vitamina A, que se daba exclusivamente a menores de cinco años de edad, y sólo se recomendaba el uso de suplementos con hierro a mujeres embarazadas. Con base en esto, en el presente análisis no se distingue entre suplementos alimenticios otorgados por algún programa de ayuda alimentaria, institución particular o por aquellos obtenidos comercialmente.

Dicho esto, podríamos suponer que la opción, para la población, de obtener gratuitamente o por donación cualquier tipo de suplemento alimenticio pudo haber sido menor, en comparación con la compra de suplementos comercialmente disponibles, sobre todo porque fueron las mujeres de mayor nivel socioeconómico quienes reportaron mayor consumo. Por otra parte, si se deseara en la actualidad conocer el consumo de suplementos alimenticios en la población mexicana, deberían diseñarse instrumentos y análisis cuidadosos para identificar el beneficio real de éstos en la salud de quienes los consumen y, al mismo tiempo, de los programas privados o gubernamentales que actualmente se desarrollan en el país, en términos de suplementos alimenticios otorgados a poblaciones objetivo.

Una posible limitante del presente estudio estuvo relacionada con que encontramos diferencias entre las mujeres incluidas y excluidas del análisis, pues se excluyó a la mayor proporción de mujeres del NSE alto, principalmente a las de la región sur del país, y por características asociadas con el NSE como son área urbana y rural, y nivel educativo. Sin embargo, consideramos que esto no invalida las asociaciones

observadas. Por el contrario, los errores de tipo aleatorio inherentes al estudio pueden estar sesgando nuestras asociaciones hacia el valor nulo, lo que supondría una subestimación de las asociaciones observadas (35). Asimismo, dado que se observó una asociación positiva importante con NSE, y que en proporción se excluyeron más mujeres de NSE alto, es probable que las prevalencias reales sean mayores a las observadas. Por otro lado, no hubo diferencias estadísticas en variables como IMC, edad de las mujeres o alfabetismo y estado civil en esta misma comparación (datos no presentados).

Otra de las limitaciones la constituyó el que no sabemos si el consumo de suplementos está determinado también por algún padecimiento crónico como, por ejemplo, diabetes o por factores psicosociales, como lo han resaltado diversos autores (5, 26, 30, 31). En este estudio transversal no podemos establecer cierta determinación potencial de alguna enfermedad en particular con el consumo de suplementos.

La asociación de características sociodemográficas con el consumo de suplementos alimenticios se ha establecido en países desarrollados (8, 25, 29, 33). En este estudio encontramos resultados de un país en desarrollo que analiza los factores asociados al uso de suplementos alimenticios en mujeres en edad reproductiva. Asimismo, consideramos que el haber evaluado a mujeres de entre 12 a 49 años de edad es de gran alcance, ya que analizamos el consumo de suplementos en mujeres representativas de la población mexicana en edad reproductiva. Además, que a la par con otros estudios, se ha establecido que el uso de suplementos alimenticios se efectúa primordialmente por mujeres (11,36).

CONCLUSION

Podemos decir que los principales factores asociados al consumo de suplementos en mujeres mexicanas son tener mejores condiciones de vida y vivir en la región sur del país. Sin embargo, deberá tomarse en cuenta que dicha asociación podría estar modificada, por ejemplo, con la presencia de anemia, el estado de nutrición y otras variables sociodemográficas como el nivel socioeconómico, el alfabetismo y el área de residencia de las mujeres. Sería deseable que en futuras investigaciones se consideraran datos de consumo dietético, así como indicadores del estado de nutrición, de micronutrientes y de razones de uso, con el propósito de conocer cambios en la tendencia de consumo de suplementos alimenticios en esta población.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo del Dr. Ignacio Méndez Ramírez, por la asesoría en el análisis estadístico y en la forma de presentar los resultados. También, agradecemos a la Dra. Christine Hotz, por su revisión al manuscrito.

REFERENCIAS

1. Radimer LK. National nutrition data: contributions and challenges to monitoring dietary supplement use in women. *J Nutr*. 2003; 133: 2003S-2007S.
2. Millen AE, Dodd KW, Subar AF. Use of vitamin, mineral, nonvitamin, and nonmineral supplements in the United States: The 1987, 1992, and 2000 National Health Interview Survey results. *J Am Diet Assoc*. 2004;104(6):942-50.
3. McNaughton SA, Mishra GD, Paul AA, Prynne CJ, Wadsworth ME. Supplement use is associated with health status and health-related behaviors in the 1946 British birth cohort. *J Nutr*. 2005;135(7):1782-1789.
4. Kim SH, Han JH, Zhu QY, Keen CL. Use of vitamins, minerals, and other dietary supplements by 17- and 18-year-old students in Korea. *J Med Food*. 2003;6(1):27-42.
5. Jasti S, Siega-Riz AM, and Bentley ME: Dietary supplement use in the context of health disparities: cultural, ethnic and demographic determinants of use. *J Nutr*. 2003; 2010S-2013S.
6. Ishihara J, Sobue T, Yamamoto S, Sasaki S, Tsugane S: Demographics, lifestyles, health characteristics, and dietary intake among dietary supplement user in Japan. *Int J Epidemiol* 2003; 32:456-553.
7. Ervin RB, Wright JD, & Kennedy-Stephenson J. Use of dietary supplements in the United States, 1988-94. National Center for Health Statistic. *Vital Health Stat*. 1999; 11(244).
8. Macias MC, Monterrey GP, Lanyau GY, Pita RG, Sordo QX: Uso de suplementos vitamínicos por la población cubana. *Rev. Cubana Salud Pública* 2003; 29(3):215-19.
9. Rivera Dommarco J, Shamah Levy T, Villalpando Hernández S, González de Cossío T, Hernández Prado B, Sepúlveda J. Encuesta Nacional de Nutrición 1999. Estado nutricional de niños y mujeres en México. Cuernavaca, Morelos, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2001.
10. Galobardes B, Morabia A, and Bernstein M.S: Diet and socioeconomic position: does the use of different indicators matter? *Int J Epidemiol*. 2001; 30: 334-340.
11. Lyle BJ, Mares-Perlam JA, Klein BEK, Klein R, and Greger L: Supplement user differ from nonuser in demographic, lifestyle, dietary and health characteristics. *J Nutr*. 1998; 128: 2355-2362.
12. Foote JA, Murphy SP, Wilknes LR, Hankin JH, Henderson BE, Kolonel LN. Factors associates with dietary supplements among healthy adults of five ethnicities. *Am J Epidemiol* 2003;157:888-897.
13. Rivera DJ. Estrategias y acciones para corregir deficiencias nutricias. *Bol Med Hosp. Infat Mex* 2000;57: 641-649
14. Barquera S, Rivera-Dommarco J, Gasca-García A. Políticas y programas de alimentación y nutrición en México. *Salud Publica Mex* 2001;43:464-477.
15. Mejía-Rodríguez F, Sotres-Alvarez D, Neufeld L, García-Guerra A, Hotz C. Use of nutritional supplements among Mexican women and the estimated impact on dietary intakes below the EAR and above the UL. *J Am Coll Nutr* 2007. 26: 16-23.
16. Resano-Pérez E, Méndez-Ramírez I, Shamah-Levy T, Rivera JA, Sepúlveda-Amor J. Methods of the national nutrition survey 1999. *Sal Publica Mex* 2003;45 suppl 4:S558-S564.
17. World Health Organization. The prevalence of anemia in women: A tabulation of available information. 2nd edition. Geneva: WHO, 1992.
18. Cohen JH, Haas JD. Hemoglobin correction factors for estimating the prevalence of iron deficiency anemia in pregnant women residing at high altitudes in Bolivia. *Pan Am J Public Health* 1999;6:392-399.
19. Neufeld L, García-Guerra A, Sánchez-Francia D, Newton Sánchez O, Ramírez Villalobos MD, Rivera Dommarco J. Hemoglobin measured by Hemocue and a reference method in venous and capillary blood: a validation study. *Salud Publica Mex* 2002;44:219-227.
20. Lohman T, Roche A, Martorell R. Anthropometric standarization reference manual. Champlaign, (IL): Human Kinetics, 1998.
21. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation presented at: The World Health Organization; June 3-5, 1997; Geneva, Switzerland. Publication WHO/NUT/NCD/98.1.
22. Rivera JA, Monterrubio E, González-Cossío T, García-Feregrino R, García-Guerra A, Sepúlveda-Amor J. Nutritional status of indian children younger than 5 years of age in Mexico: Results from of a National Probabilistic Survey. *Salud Publica Mex* 2003; 45 suppl 4: S466-S476.
23. Lehtonen R, Pahkinen E, John Wiley & Sons. Practical methods for design and analysis of complex surveys. Chichester, West Sussex, England; Hoboken, NJ: J. Wiley, 1995.
24. Hosmer DW, Lemeshow MS. Applied Logistic Regression. New York (NY): John Wiley & Sons, 1989.
25. Balluz LS, Kieszak SM, Philen RM, Mulinare J. Vitamin and mineral supplement use in the United States. Results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Fam Med*. 2000 Mar;9(3):258-62. Erratum in: *Arch Fam Med* 2000;9(7):652.
26. Radimer LK National nutrition data: contributions and challenges to monitoring dietary supplement use in women. *J Nutr*. 2003;133: S-2007S.
27. Conner M, Kirk S FL, Cade JE, Barret JH, Enviorenmental influences: Factors influencing a woman's decision to use dietary supplements. *J Nutr*. 2003;133:1978S-1982S.
28. Ávila Curiel A, Shamah Levy T, Chávez Villasana A, Galindo Gómez C: Encuesta urbana de alimentación y nutrición en la zona metropolitana de la ciudad de México 2002. Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán, Instituto Nacional de Salud Pública, México, D.F ,2003.
29. Koplan JP, Annett JL: Nutrient intake and supplementation in the United States (NHANES II). *Am J Public Health*. 1986;76: 287-289.
30. Dwyer JT, Garceau AO, Evans M Do adolescent vitamin-mineral supplements users have better nutrient intakes than nonusers? Observations from the CATH tracking study. *J Am Diet Assoc*. 2001; 101:1340-1346.
31. Stang J, Story MT, Harnack L, and Neumark-Sztainer D. Relationships between vitamin and mineral supplement use, dietary intake, and dietary adequacy among adolescents. *J Am Diet Assoc*. 2000; 100: 905-910.
32. Gunther S, Patterson RE, Kristal AR, Stratton KL, White E. Demographic and health-related correlates of herbal and spe-

- cialty supplement use. *J Am Diet Assoc.* 2004;104(1):27-34.
33. Cogswell ME, Khan-Kettel L, Ramakrishnan U. Iron supplement use among women in the United States: Scienc, Policy and Practice. *J Nutr.* 2003;133: 1974S-1977S.
34. CONAPO; Índices de marginación 2000; CONAPO; México D.F.; 2001; ISBN: 970-628-537-7
35. Nieto J, Szklo M. *Epidemiología intermedia conceptos y aplicaciones*; Ed. Diaz de Santos; 2003; ISBN: 8479785950
36. Yu Sm, Kogan MD, Huang ZJ. Vitamin-mineral supplement use among US women, 2000. *J Am Med Women Assoc.* 2003; 58:157-64.

Recibido:18-10-2007

Aceptado:18-04-2008

Evaluación de los programas pre-requisitos del plan HACCP en una planta de sardinas congeladas

Patricia Rosas y Genara Reyes

Departamento de Tecnología de Alimentos, Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, Universidad de Oriente, Boca del Río, Estado Nueva Esparta, Venezuela

RESUMEN. Las buenas prácticas de fabricación (BPF) y los procedimientos operativos estándares de saneamiento (POES) en planta son considerados los pre-requisitos esenciales para la implementación del sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (HACCP) como una herramienta para la inocuidad de alimentos durante su procesamiento. El objetivo de esta investigación fue la evaluación de las BPF/POES en una línea de sardina (*Sardinella aurita*) entera congelada. Se verificó el cumplimiento de las BPF mediante la planilla de evaluación del MSAS (Ministerio de Salud) de Venezuela y de los POES a través de un cuestionario propuesto por la FDA. Las BPF y los POES fueron evaluados en base a deméritos, se obtuvo un valor en porcentaje por cada pre-requisito y fue referido como efectividad higiénica. Los resultados obtenidos de la evaluación de las BPF indicaron que la planta cumple con la mayoría de las condiciones de edificaciones e instalaciones, equipos y utensilios, requisitos higiénicos de la producción, aseguramiento de la calidad higiénica, almacenamiento y transporte, obteniendo una efectividad higiénica satisfactoria de un 84%. El nivel de cumplimiento de los POES fue de un 53,12% con deméritos en todos los aspectos evaluados, debido a la inexistencia de un documento guía, carencia de controles en el plan de saneamiento y de liderazgo en ejecutar acciones correctivas. Por lo tanto, se diseñó un programa de control sanitario basado en los POES.

Palabras clave: BPF, POES, HACCP, sardina.

INTRODUCCION

Las inspecciones realizadas por la FDA demuestran que una porción significativa de los procesadores de pescados y mariscos operan bajo condiciones deficientes de saneamiento (1). Los brotes asociados con *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* son los que han tenido la mayor ocurrencia en los últimos años en EUA; esto ha ido incrementando la conciencia en los investigadores de que ciertos patógenos pueden persistir en el ambiente de la planta, equipo o manipuladores, contaminar al alimento durante su procesamiento y conducir a enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) (2-4). El sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (HACCP) ha sido reconocido como un plan efectivo para garantizar la inocuidad del alimento y la prevención de las ETA (1,5). Previo a la implementación del plan HACCP específico para el producto y el proceso, se debe cumplir con

SUMMARY. Evaluation of prerequisites programs for a HACCP plan for frozen sardine plant. Good manufacturing practices (GMP) and sanitation standard operating procedures (SSOP) are prerequisites programs for the application of the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) system as a food safety approach during processing. The aim of this study was to evaluate GMP/SSOP prerequisites in processing line of frozen whole sardine (*Sardinella aurita*). The GMP compliance was verified according to a standard procedure of the Ministry for the Health of Venezuela, and the SSOP were assessed according to a checklist proposed by the FDA. GMP and SSOP were evaluated following a demerit-based approach. A percentage value was calculated and referred to as sanitary effectiveness. Results indicated that the plant had a good level of compliance with GMP from assessment of buildings and facilities, equipment and tools, hygienic requisites of the production, assurance of the hygiene quality, storage and transportation, and the percentage of sanitary effectiveness was 84%. The level of compliance for SSOP was 53,12 % with demerits found in all assessed aspects consisting of inexistent guidelines, lack of control in the sanitary plan and lack of leadership in applying corrective actions. Thus, an improvement in the plant sanitation program was designed targeting SSOP.

Key words: GMP, SSOP, HACCP, sardine.

las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) y los Procedimientos Operativos Estándar de Saneamiento (POES), éstos en conjunto constituyen la base para el desarrollo de un programa completo de inocuidad en cualquier línea de producción de alimentos (6). Las BPF y los POES, son establecidos por la normativa venezolana como pre-requisitos del HACCP (6). Las BPF están definidas como el conjunto de medidas preventivas o de control utilizadas en la fabricación, envasado, almacenamiento y transporte de alimentos manufacturados a fin de evitar, eliminar o reducir los peligros, garantizando la inocuidad y salubridad de los mismos, demarcadas dentro de los aspectos de edificaciones e instalaciones, requisitos de diseño y construcción, área de fabricación, abastecimiento de agua, manejo de residuos, instalaciones sanitarias, equipos y utensilios, capacitación y educación del personal, prácticas higiénicas, requisitos higiénicos de producción, operaciones de producción, registros

de fabricación y distribución, almacenamiento, transporte y programa de saneamiento (7). Los POES, son documentos específicos para cada planta que describen los procedimientos asociados con la manipulación sanitaria de los alimentos, el aseo del ambiente y las actividades realizadas para conseguirlo (1). Los POES incluyen 8 aspectos referentes a la inocuidad del agua, limpieza de las superficies de contacto con el alimento, prevención de la contaminación cruzada, higiene de los empleados, prevención de la contaminación por agentes químicos adulterantes, agentes tóxicos, salud de los empleados, control de plagas y vectores (8). Las medidas de control establecidas por las BPF y los POES deben ser vigiladas dentro de una rutina diaria, a fin de prevenir la ocurrencia de ETA (1). En Venezuela, la aplicación del HACCP es de acatamiento voluntario, sin embargo, las exigencias del mercado han llevado a instaurar los pre-requisitos para este sistema en pequeñas, medianas y grandes industrias de alimentos (9). La industria procesadora en todo el mundo ha venido incrementando su demanda de productos pesqueros a través de los años. Las condiciones del mercado, las exigencias de los consumidores, la aparición de brotes epidémicos, entre otros aspectos, han permitido el desarrollo y evolución de sistemas de inspección, técnicas, criterios de calidad y control del producto final (10). La calidad del pescado fresco es afectada por la manipulación, tiempo y temperatura, producción de histamina, almacenamiento a bajas temperaturas, limpieza, saneamiento y las condiciones de fabricación de las instalaciones procesadoras (11). El objetivo de esta investigación fue la evaluación de las BPF y POES en una planta procesadora de sardinas enteras congeladas.

MATERIALES Y METODOS

Evaluación de las BPF y POES

Se evaluaron las condiciones operativas en relación con el cumplimiento de las BPF y de los POES en una planta procesadora de productos pesqueros ubicada en la Isla de Margarita (Venezuela). Se observaron las condiciones higiénicas *in situ* de las instalaciones de la planta, equipos, manipuladores, operaciones y superficies de contacto con el pescado, para lo cual se aplicó el formulario del MSAS (1996) para verificar el cumplimiento de las BPF, el cual consta de 53 preguntas relacionadas con los aspectos indicados en la Gaceta Oficial N° 36.081 (7). Se evaluó el cumplimiento de los POES, mediante un cuestionario de 32 preguntas enmarcadas dentro de lineamientos de la FDA-ANHPM (1) con la misma designación de respuestas empleadas en la evaluación de las BPF, las cuales se expresaron en porcentajes.

Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos se realizaron en un laboratorio de referencia nacional ubicado al lado de las instalaciones de

la planta. En un mismo día, al azar, se tomó una muestra representativa del hielo y del agua de servicio de la planta y se transportó al laboratorio en cava con hielo, se realizó un muestreo por mes durante el periodo de estudio de 3 meses. Cabe destacar, que la empresa no posee planta de fabricación de hielo sino que lo adquiere de proveedores particulares.

La identificación y preparación de las muestras se realizó según la Norma COVENIN 2614 (12). Todos los análisis microbiológicos de las muestras y/o sus diluciones sucesivas sembradas en placas con los diferentes medios se realizaron por duplicado y en el caso de número más probable (NMP) de coliformes se utilizaron series de 5 tubos. La calidad sanitaria del agua se determinó utilizando el NMP de bacterias coliformes totales (CT) según la Norma COVENIN 3047 (13), el NMP de coliformes fecales (CF) y el NMP de *Escherichia coli* según la Norma COVENIN 1104 (14). A las muestras de agua y de hielo también se les realizó el recuento de colonias de bacterias aerobias mesófilas en Agar de Recuento Estándar (PCA) y las placas se incubaron a $32 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 h, según la Norma COVENIN 902 (15). La determinación del NMP de *Pseudomonas aeruginosa* se realizó según la Norma COVENIN 2986 (16).

Diseño del programa de saneamiento (POES)

Se empleó el Manual de Procedimientos de Control Sanitario para el Procesamiento de Pescados y Mariscos bajo los lineamientos de la FDA-ANHPM (1) para elaborar los formatos para cada aspecto de los POES. En dichos formatos, se definieron los aspectos a tratar, la delimitación del alcance y/o área de saneamiento, el tratamiento aplicado, los materiales y equipos necesarios, la frecuencia del tratamiento, se estableció el monitoreo, las medidas correctivas y se delimitó la responsabilidad en cada procedimiento. Además se elaboraron los registros diarios de control, los cuales están identificados por aspecto, fecha, hora, frecuencia, evaluación del procedimiento como satisfactorio o no y los datos o mediciones con su respectivo límite.

RESULTADOS

Evaluación del cumplimiento de las buenas prácticas de fabricación (BPF)

Por razones de espacio se omite el formato empleado en la evaluación de las Buenas Prácticas de Fabricación, Almacenamiento y Transporte de Alimentos del MSAS (1996), el cual consta de 53 preguntas enmarcadas en los siete aspectos considerados en la norma. Se obtuvieron 42 respuestas "Conformes" (C), ocho respuestas "No Conformes" y tres respuestas se consideraron como "No Aplicables" (NA) debido a que no se ajustan al tipo de procesamiento e instalaciones de la planta en estudio. Estos resultados permitieron calcular la Efectividad Higiénica (EH), la cual fue de un 84%. Los

aspectos no conformes se refieren a las instalaciones y edificaciones, las cuales no impiden el ingreso de contaminantes (lluvia, polvo, plagas, etc.) a la planta. La puerta principal de ingreso de materia prima a la planta permite el ingreso de insectos, roedores, polvo, corrientes de aire contaminado, etc. poniendo en riesgo la calidad del producto y del proceso.

Evaluación del cumplimiento de los procedimientos de operaciones estándar de saneamiento en planta (POES)

La evaluación del cumplimiento de los POES se realizó mediante la aplicación de un cuestionario con preguntas referentes a los ocho aspectos involucrados, que por razones de espacio se omite, cuyos resultados expresan un porcentaje de cumplimiento del 53,12 %. En la evaluación del POES N° 1 se aprecia cumplimiento parcial, como se explica a continuación.

Análisis microbiológico de agua y hielo

El agua empleada en el proceso es de fuente segura y sanitaria, ingresa por tubería municipal, su calidad microbiológica se observa en la Tabla 1. La planta posee sistema de filtración y cloración, las redes de aguas blancas y servidas están diseñadas en conexiones seguras; sin embargo, el hielo (Tabla 2) empleado para enfriar el agua del lavado de sardinas (suministrado por una planta externa) no cumple con los requisitos microbiológicos exigidos por las normas sanitarias de la OMS para agua potable. En cuanto al POES N° 2 se constató que aunque mesas y cestas plásticas se encuentran en buen estado físico, la limpieza de las superficies es deficiente. La vestimenta exterior de los empleados, guantes, etc., están deteriorados y con falta de aseo. Esto muestra que los empleados deben prestar mayor atención a su higiene personal y la planta debe darle charlas educativas al respecto. En relación con el POES N° 3 se evidencia buen diseño de la planta en cuanto a que dispone de separación física entre las áreas de materia prima fresca y producto terminado; sin embargo, la limpieza de las mesas y áreas de manipulación no es efectiva, sobre todo en las mesas de empaque. En cuanto al POES N° 4, aunque se observan instalaciones de servicios sanitarios: lavamanos de pedal, jabón antibacteriano, los manipuladores no cumplen con el lavado frecuente de manos ni uso de guantes. Además se visualizó la presencia de collares, pulseras y anillos en las manos de los operarios, lo cual indica falta de capacitación de éstos en relación con las normas de higiene. En el POES N° 5 se aprecia que aunque el pescado y el material de empaque se encuentran protegidos en contenedores específicos, falta entrenamiento en el personal en cuanto al almacenamiento de las sustancias químicas (cloro, lubricantes) como se evidencia en el POES N° 6. En el POES N° 7 se observan deficiencias en cuanto al establecimiento de cursos de capacitación en prác-

ticas higiénicas durante la producción. En el POES N° 8 se visualiza que aunque se lleva a cabo un plan de fumigación cada 6 meses, en las áreas de proceso no existen dispositivos de control de plagas (puertas neumáticas, cortinas de aire, etc.) ni se siguen programas de vigilancia de limpieza de desagües, áreas externas e internas. El plan de control sanitario propuesto se ha diseñado según los POES y de acuerdo a las características de producción, condiciones y operatividad de la planta, lo que mejorará la efectividad higiénica de la misma.

Tabla 1
Resultados de la evaluación microbiológica del agua potable de la planta

Muestras	UFC/ml		NMP/100 ml		
	Aerobios mesófilos	Coniformes totales	Coniformes fecales	<i>E.coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	3 est	≤ 2,2	≤ 2,2	≤ 2,2	5,1
2	1,0x10 ³	≤ 2,2	≤ 2,2	≤ 2,2	≥16
3	1,0x10 ³	≤ 2,2	≤ 2,2	≤ 2,2	≥16

TABLA 2
Resultados de la evaluación microbiológica del hielo recibido en planta

Muestras	UFC/ml		NMP/100 ml		
	Aerobios mesófilos	Coniformes totales	Coniformes fecales	<i>E.coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	1,0x10 ³	≤ 2,2	≤ 2,2	≤ 2,2	9,2
2	2,2x10 ³	≥16	9,2	9,2	16
3	1,0x10 ³	16	5,1	2,2	≥16

Diseño del programa de saneamiento (POES)

En la Tabla 3 se presenta el diseño del plan de saneamiento conforme a las necesidades de la planta, según los lineamientos de la FDA-ANHPM (1).

TABLA 3
Diseño del plan de saneamiento (POES)

POES N° 1. Inocuidad del agua en contacto con el pescado.				
Uso del agua	Tratamiento	Frecuencia	Vigilancia y Medidas Correctivas	Responsable
-Lavado de sardinas	-Dosificación de 40 mg/l de hipoclorito de sodio en el agua de lavado.	-Antes de cada lavada de la materia prima.	-Realizar la determinación de cloro residual al agua de lavado de la sardina. -Realizar análisis microbiológicos periódicos al agua. -Sustituir la compañía proveedora del hielo por otra que cumpla los requisitos microbiológicos exigidos por la norma. -Revisar sistema dosificador de cloro.	-Encargado de planta. -Dpto. Control de Calidad.
-Limpieza y desinfección de utensilios, equipos y superficies de contacto con las sardinas. -Sanear pisos, paredes	-Sanear con agua clorada 150 ppm de para utensilios y superficies de contacto y con 200 ppm para pisos y paredes. Enjuagar mesones, equipos, pisos, etc., con agua a 60 °C.	-Al terminar cada jornada de producción diaria.		
POES N° 2. Aseo de las superficies en contacto con el pescado, utensilios, guantes y vestimenta.				
Superficie de contacto	Tratamiento	Frecuencia	Vigilancia y Medidas Correctivas	Responsable
Mesones de acero	-Limpieza exhaustiva de superficies externas e internas. -Remover residuos, desinfectar y enjuagar con agua caliente a 60° C.--Lavar con detergente aniónico para eliminar grasa, utilizar cepillos para remover residuos. Desinfectar con agua clorada 200 ppm.	-Diaria al terminar cada jornada.	-Inspección visual, de olores y de residuos. -Elaborar el registro de control diario de saneamiento al finalizar la limpieza. -Elaborar el registro de control diario de saneamiento al finalizar la limpieza.	-Dpto. Control de Calidad. -Encargado de planta.
Cestas plásticas		- Diaria al terminar cada jornada.		
Guantes y delantales.	-Remover residuos y sanear con agua clorada 150 ppm o jabón líquido antibacteriano. -Al finalizar la jornada deben ser dispuestos en un lugar limpio y resguardado de contaminantes.	-Cuando sea necesario o al finalizar cada jornada laboral.	-Vigilar que los guantes y delantales se encuentren limpios y en buen estado al ingresar al proceso. Reportar el estado físico de guantes y delantales y reponer los deteriorados. -Elaborar registro de saneamiento diario	-Dpto. Control de Calidad.
POES N° 3. Prevención de la contaminación cruzada en el alimento, material de empaque y otros utensilios.				
Vehículo contaminante	Tratamiento	Frecuencia	Vigilancia y Medidas Correctivas	Responsable
Manos, guantes, utensilios de limpieza, botas.	-Sanear manos y guantes con jabón antibacteriano. -Desinfectar escobas, cepillos, etc Sanear botas en pediluvio clorado antes de entrar o salir de la planta. No transitar por áreas sucias.	-En cada entrada y salida de la sala de procesos. -Antes y después de cada etapa del proceso.	-Observar las condiciones de las manos, presencia de heridas, etc. -Registro diario de control de saneamiento. -Reportar cualquier eventualidad que pudiera causar contaminación cruzada.	-Dpto. de Control de Calidad. -Encargado de planta.
Paletas de carga	-Remover residuos y sanear con agua clorada 200 ppm.	-Diaria, después despacho o carga.	-Observación visual de las condiciones de limpieza y desinfección	-Encargado de planta. Jefe de Mantenimiento.
Tanques "Fish cooler"	-Sanear con agua clorada 200 ppm y enjuagar con agua a 60° C.	-Diaria, al finalizar cada jornada.	-Inspeccionar si hay líquidos o residuos. Impedir uso de tanques deteriorados.	
POES N° 4. Lavado y desinfección de manos de empleados y de los servicios sanitarios.				
Fuente contaminante	Tratamiento	Frecuencia	Vigilancia y Medidas Correctivas	Responsable
Manos	-Uñas deben permanecer cortas, sin esmalte. Desinfectar las manos con jabón antibacteriano. -Obligatorio uso de guantes durante el proceso.	-Permanente. -Cada vez que se haga uso del sanitario. -Permanente.	-Observación de manos y hábitos de limpieza personal. -Control pre-proceso y post-proceso. -Reposición de suministros de jabón, papel.	-Dpto. Control de Calidad.

Sanitarios Vestidores	-Sanear con cloro o amonio cuaternario y agua a 60° C. -Dotar de jabón líquido antibacteriano. -Mantener vestidores ordenados prohibido guardar comidas en ellos.	-Diaria, post proceso.	-Registro diario de control de saneamiento. Revisar funcionamiento de llaves, inodoros, etc. Reponer jabón, papel, etc. -Revisión de los vestidores	-Jefe de Mantenimiento.
POES N° 5. Protección del pescado, material de empaque y superficies de contacto.				
Objeto de saneamiento	Tratamiento	Frecuencia	Vigilancia y Medidas Correctivas	Responsable
Bolsas de empaque del producto terminado.	-Almacenar en sitio seguro, protegidas del polvo. -Rotular con precaución para evitar contaminar.	-Diaria.	-Resguardar en sitio limpio y seco hasta el momento de ser rotuladas. -Descartar empaque contaminado	-Encargado de planta, Dpto. de Control de Calidad Jefe de Mantenimiento. Dpto. de Control de Calidad
Superficies de contacto, mesas y balanzas.	No colocar materiales tóxicos, herramientas, que representen peligros para las superficies de contacto.	-Diaria.	-Resguardar herramientas, solventes, en el depósito de mantenimiento. No manipular materiales y sustancias tóxicas dentro del área de procesos.	
Ambiente de la planta.	-Limpiar los residuos para evitar contaminación. Sanear la recepción y áreas posteriores.	-Diaria post proceso.	-Controlar la limpieza y saneamiento de las áreas internas y externas. Evitar la acumulación de residuos. Fumigar	
POES N° 6. Rotulación adecuada y almacenamiento de compuestos tóxicos.				
Compuesto	Tratamiento	Frecuencia	Vigilancia y Medidas Correctivas	Responsable
Limpiadores y desinfectantes.	-Aplicar post-proceso los desinfectantes en equipos, superficies etc. Almacenar separadamente los limpiadores de los plaguicidas, raticidas o insecticidas.	- Diaria, cada vez que se utilicen antes y después de la limpieza.	-Revisar la disposición de limpiadores, lubricantes, esmaltes. Descartar envases rotos, trasvasar las sustancias, si es necesario. Manipulación sólo por personal responsable.	-Dpto. de Control de Calidad y Jefe de Mantenimiento.
Esmaltes y lubricantes.	-Identificar y rotular correctamente los envases y no reutilizarlos.	- Cada vez que se utilicen.	-Descartar o destruir aquel alimento que haya sido contaminado.	Jefe de Mantenimiento.
POES N° 7. Evaluación de la condición sanitaria de los empleados.				
Condición	Tratamiento	Frecuencia	Vigilancia y Medidas Correctivas	Responsable
Higiene de los empleados.	-Lavado exhaustivo de manos con jabón antibacteriano. -Mantener uniformes limpios y en buen estado. Los manipuladores de alimentos deben usar gorro para el cabello, los hombres deben tener cabello corto y barba afeitada y las mujeres deben tenerlo recogido, no usar prendas, durante el proceso.	-Lavado de manos y botas cada vez que el empleado ingrese al área de procesos, al usar los sanitarios y entre etapas del proceso. - Diariamente.	-Supervisar los hábitos de higiene dentro de la planta. - No permitir el ingreso a la planta de aquellos empleados que no cumplan con el uniforme completo (botas, bata, gorro, guantes y delantal). -Amonestar a los que incumplan medidas higiénicas. -Supervisión diaria antes de iniciar la jornada.	- Dpto. Control de Calidad. -Encargados de planta y Jefe de Mantenimiento.
Salud del personal.	-El personal debe poseer certificado de salud vigente. -El empleado debe manifestar cualquier problema de salud que pudiese contagiar a los demás empleados.	-Revisar vigencia del certificado cada 6 meses. -Cada vez que sea necesario.	-Suspender al personal que no cumpla con este requisito sanitario. Observar las condiciones de salud del personal activo. Ausentar al personal que no esté en condiciones saludables.	-Dpto. Control de Calidad.
POES N° 8. Exclusión de plagas y roedores de la planta.				
Área de saneamiento	Tratamiento	Frecuencia	Vigilancia y Medidas correctivas	Responsable
Sala de procesos.	-Recoger los desechos y eliminarlos higiénicamente. Limpiar y sanear las mesas, cestas y balanzas.	-Saneamiento diario y post-proceso.	-Revisar que desagües estén libres de desechos. Revisar limpieza y dosificación de desinfectantes.	-Dpto. Control de Calidad. -Jefe de Mantenimiento.
Patios internos y externos.	-Evitar que los vertederos o botes de basura, atraigan insectos a la planta.		-Mantener los botes limpios, saneados y cerrados.	
Patios internos y externos.	-Evitar la acumulación de escombros, desechos, etc dentro de la planta. -Mantener limpios la entrada de personal, recepción de materia prima y salida de montacargas. -Mantener los depósitos de materiales ordenados y limpios, evitar equipos en desuso.	-Diaria.	-Instalar puertas neumáticas en la entrada de la sala de procesos. -Mantener los patios externos libres de malezas, desechos y escombros. -Fumigar cada 3 meses contra plagas y colocar trampas para roedores -Registros de control periódico de plagas y roedores.	-Dpto. Control de Calidad. -Jefe de Mantenimiento.
Baños y vestidores	-Evitar la acumulación de desechos, restos de comidas, ropa sucia que genere criaderos de plagas y roedores.	-Diaria.	-Prohibir consumo de alimentos dentro de los baños y vestidores. -Requisar la presencia de botas o uniformes sucios en baños y vestidores. -Registro de saneamiento de baños	

DISCUSION

Se ha señalado (1) que aproximadamente el 50 % de las quejas de consumidores de pescados y mariscos que recibe la FDA están relacionadas al diseño de la planta de procesamiento o aspectos higiénicos de la producción. Un estudio de los factores que contribuyeron a los brotes de ETA en los Estados Unidos durante el quinquenio (1998 –2002), realizado por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) reveló que el 46% de los brotes fueron ocasionados por contaminación proveniente de manipuladores sin guantes. En los brotes de origen bacteriano, el factor más comúnmente reportado fueron productos o ingredientes frescos contaminados por patógenos de origen animal o del ambiente. El factor que diseminó la contaminación fue el permitir que los alimentos permanecieran a temperatura ambiente por varias horas y el factor que más ayudó a la sobrevivencia de los microorganismos fue un procesamiento térmico con un tiempo y/o temperatura inapropiados (17).

El presente estudio halló que los manipuladores no realizan frecuentemente el lavado de manos antes de comenzar a trabajar en el área de producción, tampoco se restringe el acceso de personal dentro de las áreas de producción. Muchos de los estudios realizados en este aspecto (18-20), muestran que es imperativo poner atención a la higiene personal y especialmente al lavado de las manos, pues éstas pueden convertirse en vehículos de transmisión de microorganismos al alimento. En una investigación realizada para evaluar la higiene del personal de una empresa (18) se encontró que el 42,4 % del personal trabajó en superficies en contacto con el alimento y sólo el 55,0 % de ellos empleó guantes mientras trabajaba en el área de producción. El 23,7% lavaron sus manos antes de comenzar a trabajar sin guantes y sólo el 42,4 % lavó sus manos antes de entrar en el área de producción. Otro estudio para evaluar la influencia del sexo, la educación, la edad y la experiencia laboral en los manipuladores de alimentos de diversas empresas, se halló que las mujeres tienen una manipulación más higiénica de los alimentos que los hombres, los estudiados universitarios más que los que sólo estudiaron primaria o secundaria, los de 45 años o más que los más jóvenes y los con más de 10 años de servicio en la empresa que los empleados más nuevos (21). Esto significa que la experiencia laboral, la madurez y el conocimiento adquirido mediante estudios formales, generan un manipulador de alimentos más consciente de sus prácticas higiénicas. En este sentido, se ha encontrado que inadecuadas técnicas de producción y/o procesamiento de alimentos originan ETA (22). Un estudio realizado en EUA mostró que las prácticas inapropiadas de manipulación de alimentos elevaron a 97% aproximadamente las toxiinfecciones alimentarias en establecimientos de servicios de alimentos (23).

La EH de 84% significa que la planta tiene un desempeño satisfactorio y puede empezar a diseñar su plan HACCP, tal como se ha realizado exitosamente en estudios similares (24), sin embargo, requiere mejoras en el cumplimiento de las BPF para garantizar un plan HACCP, con menos puntos de control crítico y de más fácil implementación. El agua empleada en el proceso cumple con los requisitos establecidos por la OMS de ausencia de bacterias coliformes totales y fecales (*E. coli*) en cualquier muestra de 100 ml de agua potable (25). En cuanto a los altos valores de *Pseudomonas aeruginosa* observados, no hay un valor establecido por la OMS para *P. aeruginosa* pues no hay evidencia de que ocasione infecciones gastrointestinales o represente peligros sanitarios para la población en general (26). Esta bacteria afecta principalmente a personas inmunocomprometidas en ambientes hospitalarios. Altos recuentos de bacterias heterótrofas son indicadores de inadecuada limpieza y desinfección, disponibilidad de nutrientes y presencia de biopelículas. La determinación de *P. aeruginosa* y el recuento de bacterias heterótrofas no son indicadores de contaminación fecal sino del manejo en la producción del agua embotellada (27). El hielo con alta carga de coliformes fecales (Tabla 2) contamina el pescado. En este sentido, la FDA, señala que la mayoría de los procesadores de pescado operan bajo condiciones deficientes de saneamiento, lo cual afecta directamente la calidad microbiológica de los productos pesqueros y la inocuidad de los mismos (1). Para paliar esta situación, se sugiere ajustar la dosificación de cloro añadido al agua en contacto con el pescado, equilibrando la cantidad de cloro libre residual permitido (0,2 ppm a 5,00 ppm) como agente saneador (1). Sin embargo, hay que considerar que un incremento en la concentración de cloro libre hasta 7,0 ppm en el agua del lavado aunque tiene efectos microbianos satisfactorios presenta inconvenientes de intenso sabor a cloro y posible toxicidad en el alimento (28). Por otro lado, un factor limitante de esta empresa, es que carece de una planta de fabricación de hielo y de un laboratorio para realizar los análisis microbiológicos. Realizar los análisis en laboratorios externos encarece los costos de los mismos lo que limita el número de muestras a analizar y la frecuencia de muestreo, como se observa en esta investigación. Se han presentado problemas de higiene en los equipos de procesamiento debido a que el diseño de los mismos no facilita la limpieza y los microorganismos se quedan adheridos a las superficies y pueden sobrevivir (18). El personal manipulador de una planta de alimentos es muy importante porque son responsables de la higiene en cada etapa, tanto de las mesas de trabajo, equipos, superficies de contacto con el alimento, así como de la limpieza de sus manos, cuerpo y vestimenta (29). Varios sitios o superficies pueden considerarse como simples reservorios debido a su alto nivel de contaminación con patógenos pero con bajo nivel de transmisión, tales como drenajes, baños, etc. Otros reservorios tales como esponjas, toa-

llas, etc tienen un gran potencial de transmisión debido al uso común, lo que esparce las bacterias a varias superficies, ocasionando así contaminación cruzada (30). Afortunadamente, el pescado que procesa esta planta, se comercializa en estado congelado, es una materia prima cruda, que el consumidor debe cocinar previo a su consumo, lo que disminuye la probabilidad de ocurrencia de infecciones alimentarias. En un estudio (31) para evaluar la higiene de las manos de los operarios, se halló una mayor cantidad de bacterias en las manos desnudas que en las manos con guante durante la manipulación del alimento; la cantidad de bacterias en las manos de los operarios nuevos fue mayor que las de los operarios experimentados. El entrenamiento es fundamental para mejorar las prácticas higiénicas de los operarios y debe supervisarse para asegurar la correcta aplicación de los procedimientos de limpieza y saneamiento para evitar la contaminación cruzada (29). En un estudio (19) también se halló que la capacitación de los manipuladores en cuanto a la inocuidad de los alimentos fue pobre con una calificación de 43,4 %. Además existe una relación directa proporcional entre la experiencia de trabajo de los empleados, su nivel educativo y sus hábitos de higiene (21).

CONCLUSIONES

En relación con las BPF, se halló que la planta posee buena estructura física operativa y cumple con la mayoría de los requisitos establecidos. Se obtuvo un porcentaje de efectividad higiénica de 84 %, de acuerdo a la norma nacional respectiva. Sin embargo, el diseño de la planta no impide el ingreso de contaminantes a la misma, falta supervisión y educación sanitaria del personal en relación con los reglamentos de saneamiento en planta. Los manipuladores no efectúan prácticas de higiene y saneamiento personal, representando un riesgo de contaminación para el alimento.

En cuanto a la evaluación de los POES, se halló que la planta posee un sistema de filtración, cloración y conexiones seguras de aguas blancas, sin embargo el hielo empleado en la planta no cumple con los requisitos microbiológicos exigidos por la OMS. Existe buena separación entre las áreas de la planta que previene la contaminación cruzada, igualmente posee instalaciones para servicios y prácticas sanitarias para el personal (baños, lavamanos, pediluvios, etc.). Las sustancias alterantes y tóxicas se encuentran resguardadas en sitios exclusivos separados de las áreas de proceso. Sin embargo, la falta de liderazgo y la inexistencia de un plan de control sanitario requirieron del diseño de un programa de saneamiento como el propuesto en esta investigación.

REFERENCIAS

1. Alianza Nacional de HACCP de Pescados y Mariscos (ANHPM). Procedimientos de control sanitario para el procesamiento de pescados y mariscos. 1ra ed. Florida: Sea Grand; 2000. Disponible: <http://seafood.ucdavis.edu/haccp/ha.htm>
2. International Commission on Microbiological Specifications of Foods (ICMSF). Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers; 2002.
3. Tompkin R. B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food processing environment. J Food Protect. 2002; 65: 709–725.
4. Tompkin R. B. Environmental sampling- a tool to verify the effectiveness of preventive hygiene measures. Mitt Lebensm Hyg. 2004; 95: 45–51
5. FDA. Hazard analysis and critical point principles and application guidelines. Cap. 43. [Documento en línea]. 2007. Disponible: <http://seafood.ucdavis.edu/haccp/compendium/Chapt43.htm>.
6. COVENIN. Directrices generales para la aplicación del sistema HACCP en el sector alimentario. Norma 3802. Caracas: FONDONORMA; 2002.
7. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS). Buenas Prácticas de Fabricación, Almacenamiento y Transporte de Alimentos para Consumo Humano. Resolución N° SG 457-96. Caracas: Gaceta Oficial N° 36.081, Nov, 7, 1996.
8. Arispe I. Análisis de peligros y determinación de puntos críticos de control (HACCP): Análisis componentes, aplicaciones, requisitos y buenas prácticas de fabricación y estandarización de procesos de higiene y saneamiento industrial. Caracas: SARPA- Ministerio de Agricultura y Cría; 1998.
9. Bou-Rached L, Ascanio N, Hernández P. Diseño de un plan HACCP para el aseguramiento de la inocuidad de la mortadela elaborada por una empresa de productos cárnicos. Arch Latinoamer Nutr. 2004; 54:72-80.
10. Huss HH. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. Documento Técnico de Pesca N°334. Roma: FAO; 1998.
11. Chimpen L. Procesamiento de productos pesqueros. XIII Curso Internacional de Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros. Callao: Instituto Tecnológico Pesquero del Perú; 1997.
12. COVENIN. Agua potable. Toma de muestras. Norma 2614. Caracas: FONDONORMA; 1989.
13. COVENIN. Agua potable. Método de determinación del número más probable de bacterias coliformes. Norma 3047. Caracas: FONDONORMA; 1993.
14. COVENIN. Determinación del número más probable de coliformes, coliformes fecales y de *Escherichia coli*. Norma 1104. Caracas: FONDONORMA; 1996.
15. COVENIN. Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri. Norma 902. Caracas: FONDONORMA; 1987.
16. COVENIN. Agua potable. Determinación de *Pseudomonas aeruginosa* por el método de número más probable. Norma 2986. Caracas: FONDONORMA; 1993.
17. Michael L, Painter J, Woodruff R, Braden C. Surveillance of

- foodborne-diseases outbreaks-United States 1998-2002. Center for Disease Control & Prevention, Morbidity & Mortality Weekly Report-Surveillance Summaries 2006; 55 (SS10):1-34. Disponible: www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/
18. Aarnisalo K, Tallavaara K, Wirtanen G, Maijala R, Raaska L. The hygienic working practices of maintenance personnel and equipment hygiene in the Finnish food industry. *Food Control* 2006; 17(12), 1001–1011.
 19. Bao M, Ersun A, KÂvanç G. The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey. *Food Control* 2006; 17(4), 317–322
 20. Lucca A, Torres EA. Street-food: the hygiene conditions of hot-dogs sold in São Paulo, Brazil. *Food Control* 2006; 17(4), 312–316.
 21. ÇakÂroflu FP, Uçar A. Employees' perception of hygiene in the catering industry in Ankara (Turkey). *Food Control* 2007; 19:9–15
 22. Ehiri JE, Morris GP. Hygiene training and education of food handlers: Does it work? *Ecol. Food Nutr.* 1996; 35, 243–251.
 23. Howes M, McEwen S, GriYths M, Haris L. Food handler certification by home study: measuring changes in knowledge and behaviour. *Dairy Food Environm. Sanit.* 1996; 3, 208–214.
 24. Dávila J, Reyes G, Corzo O. Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda. *Arch Latinoamer Nutr.* 2006; 56(1): 88-103.
 25. Pan American Health Organization/World Health Organization. Guidelines for drinking water quality standards in developing countries. [Documento en línea]. 2002. Disponible: whqlibdoc.who.int/paho/
 26. WHO. Guidelines for Drinking Water Quality – 3rd Edition. Geneva: World Health Organization. 2004.
 27. Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C, Glasmacher A. Heterotrophic plate counts and drinking-water safety. World Health Organization. London: IWA Publishing; 2003. Disponible: whqlibdoc.who.int/hq/
 28. Villacrés E, Gavilanes K, Díaz Y, Peralta E. Desarrollo del sistema HACCP para una planta procesadora de desamargado de Chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) y especificaciones de calidad del grano. [Documento en línea]. 2006. Disponible: www.fundacyt.org.ec/paginas/noticias/c-agricolas/resumenkarin-3.doc
 29. Sneed J, Strohbehn C, GÂlmore SA, Mendonca A. Microbiological Evaluation of foodservice contact surfaces in Iowa assisted –living facilities. *J Amer Diet Assoc.* 2004; 104, 1722–1724.
 30. Scott E. Relationship between cross-contamination and the transmission of foodborne pathogens in the home. *Pediatr Infect Disease J.* 2000; 19, 111–113.
 31. Ayçiçek H, Aydoğan H, Küçükkaraaslan A, Baysallar M, Baoustaoflu AC. Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. *Food Control* 2004; 15(4), 253–259.

Recibido: 29-01-2008

Aceptado: 27-05-2008

Evaluación bacteriológica de la leche y queso de cabra distribuidos en el Area Metropolitana de San José, Costa Rica

Viviana Araya, Leslie Gallo, Carlos Quesada, Carolina Chaves y María Laura Arias

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET) y Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

RESUMEN. En los últimos años, se ha dado en Costa Rica y a nivel mundial, una creciente producción, industrialización y consumo de la leche de cabra y sus derivados. No obstante, a nivel nacional no se ha realizado una caracterización de estos, por lo que el objetivo de este estudio es determinar las características microbiológicas de la leche y el queso fresco de cabra que se distribuyen en el área metropolitana de San José, Costa Rica, y así evaluar su potencial impacto en el plano económico y a nivel de Salud Pública. Se analizó un total de 25 muestras de leche cruda de cabra obtenidas por ordeño manual y provenientes de cinco productores diferentes, analizados en cinco fechas diferentes y 15 muestras de queso de cabra elaborado con leche pasteurizada, provenientes de tres productores costarricenses que distribuyen el queso comercialmente y también analizados en cinco oportunidades distintas. El estudio abarcó el análisis de microorganismos de deterioro (bacterias aerobias-mesófilas y bacterias lácticas), indicadores de higiene (coliformes totales), de contaminación fecal (coliformes fecales), de manipulación (*Staphylococcus aureus*) y patógenos (*Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp.). Los resultados para el recuento total aerobio mesófilo y de bacterias lácticas de las muestras de leche y queso resultaron elevados, indicando una disminución en la vida útil del producto. En cuanto a coliformes totales, el 100% las muestras de leche presentaron recuentos que superan los límites establecidos por la legislación para leche cruda de consumo humano costarricense y el 76% presentó coliformes fecales. Contrario a lo anterior, todas las muestras de queso, excepto una, fueron negativas para coliformes totales y fecales, lo cual sugiere que el queso es elaborado bajo buenas prácticas higiénicas. Los recuentos obtenidos para *S. aureus* fueron relativamente bajos y no se logró aislar *Salmonella* spp. ni *Listeria monocytogenes* a partir de las muestras de leche y queso analizadas. **Palabras clave:** Evaluación bacteriológica, leche, queso, cabra.

INTRODUCCION

Se define a la leche como el producto de la secreción de las glándulas mamarias de mamíferos, especialmente de ganado bovino y caprino. Otros animales utilizados en la adquisición de leche incluyen el búfalo, la oveja, el camello y la llama, no obstante su consumo es esporádico (1).

La vaca constituye, por excelencia, el mayor productor de leche a nivel mundial, no obstante, en los últimos años se ha dado un incremento importante en la producción e industrialización de leche de cabra. Se calcula que, a nivel

SUMMARY. Bacteriological evaluation of goat milk and cheese distributed in the Metropolitan Area of San José, Costa Rica. In the last years, there has been an increase in the production, industrialization and consumption of goat's milk and derivate products, including cheese, worldwide. Nevertheless, in Costa Rica there is no study of these products, reason why the objective of this work was to determine the microbiological characteristics of goat's milk and fresh cheese distributed in the Metropolitan Area of San José, Costa Rica, in order to evaluate its impact in the economical field and as a potential risk for Public Health. A total of 25 raw goat's milk samples, obtained by manual milking from 5 different producers tested in five different dates and 15 cheese samples, elaborated with pasteurized milk, commercially available and coming from three different producers were analyzed. The study included the analysis of spoilage bacteria (total aerobic count and lactic bacteria count), indicators of hygiene (total coliforms), fecal contamination (fecal coliforms), manipulation (*Staphylococcus aureus*) and pathogens (*Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp). High results were obtained for the total aerobic count and lactic bacteria count of the milk and cheese samples, showing a reduced shelf life. Total coliforms, in limits beyond the established ones by the Costa Rican legislation for human consumption raw milk, were found in 100% of milk samples, as well as for fecal coliforms in 76% of them. All cheese samples, except one, were negative for these indicators, suggesting good manufacturing practices. *S. aureus* counts were low and both *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* were not isolated from samples analyzed. **Key words:** Bacteriological evaluation, milk, cheese, goat.

mundial, más de 440 millones de cabras producen un estimado de 4,8 millones de toneladas de leche, la cual es consumida a nivel local o procesada en forma de diversos quesos. Esto representa cerca del 2% de la producción mundial (2). En Costa Rica, su producción representa una industria creciente, donde las principales zonas productoras se encuentran en la Meseta Central y se estima una producción de 30000 litros de leche y más de 300000 kg de queso por año, cifras que van en franco aumento (2).

La leche, aún cuando provenga de diversas especies, contiene, de manera general, los mismos constituyentes

nutricionales, dándose variaciones muy ligeras en composición y propiedades. Los componentes que más varían son las proteínas y las grasas (3). En cuanto a proteínas, la leche de cabra contiene cantidades ínfimas de la proteína alpha S1 caseína, principal proteína de la leche bovina y reconocido alergeno (4). También, en la leche de origen caprino, es notable el alto contenido de los ácidos grasos cáprico, caprílico caproico, palmítico, láurico y la escasa cuantía de ácido oleico y esteárico (5). También, esta leche posee un porcentaje menor de lactosa comparado con la leche de vaca y un porcentaje mayor de vitaminas liposolubles e hidrosolubles. (5).

La existencia de diferencias bioquímicas presentes en la leche de cabra con respecto a la leche de otras especies animales se ha relacionado con beneficios para la salud del ser humano en diversas investigaciones. Haenlein (6) señala que la alta sensibilidad de los niños a la proteína de la leche de vaca justifica la sustitución de ésta por leche de cabra dado que ésta última a pesar de que contiene alfa lactoalbúmica, beta lactoalbúmina y una cantidad similar de caseína, contiene menor cantidad de alfa-s-1-caseína, la proteína más alergénica (7).

La leche de cabra, al igual que la bovina, puede ser una fuente importante de microorganismos patógenos, incluyendo aquellos adquiridos por contaminación primaria, secundaria o terciaria. (8) Dentro de los microorganismos asociados a contaminación primaria, se destacan *Staphylococcus aureus* y los enterococos; asociados a contaminación secundaria la lista de patógenos es bastante extensa, destacándose *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* entre otros (9). No obstante, es importante destacar que, a diferencia de la leche de vaca, los estándares microbiológicos para la producción y distribución de leche de cabra son más laxos y la información de la microbiología de ésta en la literatura es bastante limitada (10).

En los últimos años, se ha dado en Costa Rica una creciente producción, industrialización y consumo de la leche y queso de cabra, y la apertura de fronteras permitirá, próximamente, su exportación. No obstante, a nivel nacional no se ha realizado una caracterización microbiológica de éstos, por lo que su impacto a nivel industrial y de Salud Pública es desconocido. El objetivo de este estudio fue determinar las características microbiológicas de la leche y el queso fresco de cabra que se distribuyen en el área metropolitana de San José, Costa Rica, y así evaluar su potencial impacto en el plano económico y a nivel de Salud Pública.

MATERIAL Y METODOS

Localización del proyecto

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Aguas de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, durante el año 2006.

Origen de las muestras

Se analizó un total de 25 muestras de leche cruda, obtenidas por ordeño manual y provenientes de cinco productores diferentes, analizados en cinco fechas diferentes y 15 muestras de queso de cabra elaborados con leche pasteurizada, provenientes de tres productores costarricenses que distribuyen el queso comercialmente y también analizados en cinco oportunidades distintas. Todas las muestras fueron transportadas en frío y analizadas en menos de 24 h después de su adquisición.

Análisis bacteriológico

El análisis bacteriológico se siguió según la metodología descrita en Pouch (11).

Recuento total aerobio mesófilo

Se midieron volumétricamente 25 mL de las muestras de leche o se pesaron 25 g de la muestra de queso y se diluyeron en 225 mL de agua peptonada estéril 0,1% (APE). Se realizaron diluciones decimales hasta 10^{-5} en APE 0,1% y a partir de cada una se inocularon, por vaciado, platos de Agar Estándar + TTC (2,3,5 cloruro de trifeniltetrazolium) que se incubaron a 35°C por 48 h en atmósfera aerobia.

Recuento de coliformes

A partir de las diluciones preparadas anteriormente, se depositó 1 mL de cada una en placas petri que fueron recubiertas con agar bilis rojo violeta, las cuales fueron incubadas por 48 h a 35°C para determinar los coliformes totales presentes y por 24 h a 44,5°C para determinar coliformes fecales. La confirmación de coliformes fecales se realizó utilizando el sistema API 20E (bioMérieux, Francia).

Recuento de bacterias lácticas

Se utilizaron las diluciones preparadas anteriormente, a partir de cada una se inoculó, por esparcimiento, 0,1 mL en placas de agar Man Rogosa Sharp (MRS) las cuales fueron incubadas por cuatro días a 20°C en jarra con candela (atmósfera de CO₂ aumentada). Se contabilizaron como bacterias lácticas las colonias blancas, Gram positivas y catalasa negativas.

Recuento de *Staphylococcus aureus*

A partir de las diluciones preparadas, se inoculó 0,1 mL en placas de agar Baird Parker, las cuales fueron incubadas por 48 h a 35°C. Se consideraron sospechosas las colonias que presentaron una coloración negra y que fueran convexas, con reborde blanco y una zona de aclaramiento. Éstas fueron confirmadas mediante las pruebas de Gram, catalasa, fermentación del manitol y coagulasa.

Aislamiento de *Listeria monocytogenes*

Se midió 25 g (o mL) de cada muestra y se homogeneizaron en 225 mL de caldo *Listeria*, el cual fue incubado a 30°C por 48 h. Se realizó un aislamiento selectivo utilizando agar Oxford, el cual se incubó por 48 h a 35°C. Las colonias sospechosas, redondas, café oscuras y con una depresión central fueron confirmadas mediante las pruebas de Gram, oxidasa, catalasa, fermentación de xilosa, ramnosa, arabinosa, movilidad a 25°C y luz de Henry.

Aislamiento de *Salmonella* spp

Se midió 25 g (o mL) de cada muestra y se homogeneizaron en 225 mL de caldo lactosado simple, el cual fue incubado por 24 h a 35°C. A partir de éste, se transfirió 1 mL a caldo tetrionato, el cual fue incubado a 43°C por 24 h y también a caldo selenito, el cual se incubó a 35°C por 24 h. A partir de cada uno de éstos, se realizó un aislamiento selectivo utilizando agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y agar Hecktoen, incubados por 24h a 35°C. Las colonias sospechosas fueron identificadas utilizando el sistema API 20E (bioMerieux, Francia).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando ANOVA de una vía, disponible en el programa SPSS 15.0.

RESULTADOS

Para el análisis de los resultados de queso, se utilizó la normativa establecida por el Reglamento Centroamericano de Criterios Microbiológicos de los Alimentos Procesados (2005), la cual establece un valor máximo permitido para coliformes totales de $5,0 \times 10^2$ UFC/g y de $1,0 \times 10^2$ UFC/g para coliformes fecales. También, establece un máximo de $1,0 \times 10^2$ UFC/g de *S. aureus* y ausencia, en 25 g, de *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* (12). Para el análisis de los resultados de leche se utilizó la normativa descrita en el Decreto MEIC-Mag Costa Rica (2006), donde se establece un valor máximo para coliformes totales de $5,0 \times 10^2$ UFC/mL, menos de 10 UFC/mL para coliformes fecales, menos de 100 UFC/mL para *S. aureus* y ausencia, en 25 mL, de *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes* (13).

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos para recuento total mesófilo aerobio y recuento de bacterias lácticas de muestras de leche y queso de cabra. Se puede observar que el recuento total aerobio obtenido para ambos tipos de muestra se encuentra en su mayoría en un mismo intervalo (10^4 - 10^6), con excepción de 4 muestras de queso que tuvieron valores inferiores. Para bacterias lácticas y específicamente para leche, es más amplio el intervalo, variando entre 10^2 y 10^7 UFC/mL.

TABLA 1

Recuento total aerobio mesófilo y de bacterias lácticas de las muestras de leche y queso de cabra obtenidas en el Área Metropolitana de San José, Costa Rica

Rango	Leche Recuento total aerobio	N=25 Recuento bacterias lácticas	Queso Recuento total aerobio	N=15 Recuento bacterias lácticas
<10	0	0	1 (6,7%)	0
10-10 ²	0	0	0	0
10 ² -10 ⁴	0	8 (32%)	3 (20%)	0
10 ⁴ -10 ⁶	16 (64%)	13 (52%)	8 (53,3%)	0
>10 ⁶	9 (36%)	4 (16%)	3 (20%)	15 (100%)

Con respecto a los coliformes totales en leche de cabra, la mayoría de muestras tuvieron valores entre 10^4 y 10^5 UFC/mL, muy por encima de lo que la norma permite, y para coliformes fecales, la variación fue grande, pues 6/25 muestras (24%) fueron negativas para estos microorganismos, mientras que 1 (4%) tuvo valores superiores a 10^5 UFC/mL. Con lo que respecta a quesos, la mayoría de muestras presentó <10 UFC/g, a excepción de una muestra que presentó tanto coliformes totales como fecales por encima de lo que permite la norma ($1,3 \times 10^6$ UFC/g y $1,3 \times 10^3$ UFC/g respectivamente).

Al comparar los valores obtenidos tanto para coliformes totales como coliformes fecales en ambos grupos, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de queso y las de leche ($p < 0,05$).

En cuanto a *S. aureus*, 6 (24%) de las muestras de leche y 3 (20%) de las muestras de queso presentaron valores superiores a los permitidos por la norma, no obstante, estos valores no llegan al límite inferior necesario para la producción de enterotoxina.

Ninguna muestra de queso o leche presentó *Salmonella* spp. ni *Listeria monocytogenes*.

DISCUSION

En Costa Rica, al igual que en muchos otros países, la explotación caprina representa una actividad creciente (14), por lo que la caracterización microbiológica de ésta es una necesidad con el fin de establecer su inocuidad.

En este estudio, los recuentos totales aerobios mesófilos resultaron elevados para todas las muestras de leche cruda evaluadas. La importancia de este análisis estriba en que, como lo cita Revelli (15), define la calidad higiénica de la leche producida.

Existen diversos criterios sobre el valor máximo permitido para recuento total aerobio mesófilo en leche de vaca, por ejemplo, la Comisión Europea de criterios microbiológicos

permite un valor máximo de $5,0 \times 10^4$ UFC/mL, mientras que el Reglamento Sanitario de Alimentos de Chile estipula $1,0 \times 10^6$ (14). Para leche de cabra, Roberts (16) destaca que ésta debe presentar recuentos menores a los de la leche de vaca, porque las probabilidades de adquirir materia fecal y agregar más flora bacteriana al producto se reducen a causa de tener un excremento más seco por lo que hay menores probabilidades de contaminar la leche. En este estudio (16) se permite un recuento total aerobio mesófilo para leche cruda de cabra, igual o menor a 1×10^5 UFC/mL, límite no cumplido por la mayoría de las muestras analizadas.

Con respecto a quesos, a pesar de que se utiliza leche pasteurizada en su elaboración, y se prescinde de cultivo iniciador, los resultados obtenidos para el recuento total aerobio son bastante altos, lo cual indica contaminación post proceso proveniente del equipo o por manipulación (17) y una disminución en la vida útil del producto.

Las bacterias lácticas, a pesar de ser flora normal en ambos tipos de muestra, presentaron altos valores, y la importancia de este grupo estriba en que representa la principal causa de su deterioro.

En cuanto a coliformes totales, el 100% las muestras de leche presentaron recuentos que superan los límites establecidos por la norma citada anteriormente y por la legislación para leche cruda de consumo humano costarricense (12,13). De manera semejante, 76% de las muestras presentaron valores de coliformes fecales por encima de lo estipulado. La presencia de este alto número de coliformes indica contaminación directa con materia fecal y sugiere un riesgo indirecto de adquisición de otras bacterias patógenas que se transmiten mediante dicha vía.

Contrario a lo anterior, todas las muestras de queso, excepto una, fueron negativas para coliformes totales y fecales, lo cual sugiere que el queso es elaborado bajo buenas prácticas higiénicas.

Las muestras de leche y queso evaluadas no se pueden considerar de riesgo por intoxicación alimentaria causada por *S. aureus*, ya que los recuentos obtenidos son relativamente bajos y más bien sugieren adecuada manipulación a pesar de que el ordeño de cabras y el procesamiento del queso son con frecuencia de tipo manual.

No se logró aislar *Salmonella* spp. a partir de las muestras de leche y queso evaluadas lo cual coincide con los datos reportados por Muehlherr *et al.* en Suiza (10), y Foschino *et al.* en Italia (18).

Tampoco se aisló *Listeria monocytogenes* de las muestras evaluadas. Varias razones pueden explicar la ausencia de esta bacteria. Normalmente, su número es bajo en productos lácteos (19), se ve inhibida por la producción de ácido por parte de las bacterias lácticas (20) y también el hecho de que los muestreos se realizaron durante la época de verano del país, y se ha descrito que esta bacteria presenta variación estacional

y en el verano es frecuente aislar menos de 1 bacteria por mL (19, 21). Un último punto a considerar que pudo favorecer la inhibición de esta bacteria, es la presencia de lactoperoxidasa, ya que se ha reportado actividad de ésta contra *L. monocytogenes* a diferentes temperaturas (4°C, 8°C, 25°C y 37°C) (19).

Contrario a lo anterior, en años recientes se ha descrito, a nivel mundial, brotes debidos al consumo de leche de cabra cruda y productos elaborados con leche no procesada causados especialmente por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* y *Campylobacter jejuni* (8).

Con los resultados obtenidos se puede concluir que, a pesar de que no se aislaron microorganismos patógenos, las muestras evaluadas presentan altas concentraciones de microorganismos indicadores, por lo que la presencia de patógenos es factible, representando un riesgo para la salud pública. Además, estas altas concentraciones de microorganismos también propician un deterioro acelerado del producto. Es necesario mejorar la calidad integral de la leche de cabra, incluyendo algún tipo de proceso de higienización antes de su uso, con el fin de ofrecer un producto seguro a la población y una buena materia prima para la elaboración de quesos razón por la cual es imprescindible contar con animales productores sanos así como con buenas prácticas de manejo, higiene y procesamiento.

REFERENCIAS

1. Rojas W. Evaluación del efecto de diferentes proporciones de leche de vaca y leche de cabra sobre las características químicas, físicas y sensoriales de un yogurt batido de fresa. Tesis de grado de Licenciatura en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica. Escuela de Tecnología de Alimentos. San José. 2005.
2. Abdel-Azis M, Abou-E, Ryser E & Donnelly C. Incidence and seasonal variation of *Listeria* species in bulk tank goat's milk. *J Food Prot.* 2000; 63: 1208-1213.
3. Walfgang S. Elaboración de quesos de oveja y cabra. Editorial Acribia. Zaragoza, España, 1995.
4. Juárez M. Physico chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. *Int Dairy Fed.* 1986; 202: 1-20.
5. Tabatabai L. Good news for goat's milk drinkers. *Science Update.* 2004; 23: 16
6. Haenlein, G. The Many Medicinal Benefits of Goat Milk. *Countryside Small Stock J.* 2005; 85: 84.
7. Tormo, R, Conde M & Infante D. Alergia a la Leche de Vaca. La leche de Cabra como Alternativa Dietética. *Rev La Cabra.* 2002; 1: 18-22.
8. Jayarao B, Donaldson S, Straley B, Sawant A, Hedge N & Brown J A Survey of Foodborne Pathogens in Bulk Tank Milk and Raw Milk Consumption Among Farm Families in Pennsylvania. *Am Dairy Sci Assoc.* 2006; 89: 2451-2458.
9. De Buyser M, Dufor B, Maire M & Lafarge V. Implication of

- milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. *Int J Food Microb.* 2001; 67: 1-17.
10. Muehlherr J, Zweifel C, Corti S, Blanco J & Stephan R. Microbiological Quality of Raw Goat's and Ewe's Bulk-Tank Milk in Switzerland. *Am Dairy Sci Assoc.* 2003; 86: 3849-3856.
 11. Pouch, F. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.* APHA. 4th edition 2001.
 12. UA- Alimentos y Bebidas. Reglamento Centroamericano de Criterios Microbiológicos de los Alimentos Procesados. Costa Rica. 2005. <http://www.reglatec.go.cr>.
 13. Decreto Ministerio Economía Industria y Comercio-Ministerio de Agricultura y Ganadería. Costa Rica. Reglamento técnico (401-2006): Leche cruda y leche higienizada, especificaciones. 2006.
 14. Camacho L & Sierra C. Diagnóstico Sanitario y Tecnológico del Proceso Artesanal del Queso Fresco de Cabra en Chile. *Arch Lat Nut.* 1988; 38: 935-945.
 15. Revelli G. Recuento de bacterias totales en leche cruda de tambos que caracterizan la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. *Rev Arg Microb.* 2004; 36.
 16. Roberts D. Microbiological aspects of goat's milk. A Public Health Laboratory Service survey. *J Hyg Camb.* 1986;94: 31-44.
 17. Freitas C & Malcata C. Microbiology and biochemistry of cheeses with appellation d'Origine Protégée and manufactured in the Iberian Peninsula from Ovine and Caprine Milks. *J Dairy Sci.* 2000; 83: 584-602.
 18. Foschino R, Invernizzi A, Barucco R & Stradiotto K. Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. *J Dairy Res.* 2002; 69: 213-225.
 19. Mayorga M. Presencia de *Listeria monocytogenes* en leche cruda de tanques de frío en lecherías y tanques comunitarios provenientes de 9 sectores de la provincia de Cautín, IX Región. Tesis de grado para optar al grado de Licenciado en Ciencias Veterinarias. Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile. 2004.
 20. Gaya P. Occurrence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in raw caprine milk. *J Dairy Sci.* 1996; 79: 1936-1941.
 21. Tamagnini L, de Sousa G, González R & Budde C. Microbiological characteristics of Crottin goat cheese made in different seasons. *Small Ruminant Research.* 2005; 30: 1-6.

Recibido: 07-01-2008

Aceptado:24-03-2008

Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart)

Gerusa Matias dos Santos, Geraldo Arraes Maia, Paulo Henrique Machado de Sousa, José Maria Correia da Costa, Raimundo Wilane de Figueiredo, Giovana Matias do Prado

Universidade Federal do Ceará, University of Arizona, Universidade de São Paulo, Universidade Federal de Viçosa

RESUMO. Este trabalho objetivou caracterizar polpas comerciais de açaí, além de correlacionar a contribuição da vitamina C, carotenóides totais e compostos fenólicos com a atividade antioxidante desses produtos, verificando ainda os parâmetros referentes à qualidade dos produtos obtidos. Foram realizadas análises de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, açúcares, cor, atividade de água, vitamina C, antocianinas totais e carotenóides totais, atividade antioxidante e compostos fenólicos. Conclui-se que todos os parâmetros apresentaram diferença significativa entre as marcas não adicionadas de conservante e sacarose. O açaí pode ser considerado uma importante fonte de vitamina C, bem como uma grande fonte de antioxidantes. Em relação à correlação com a atividade antioxidante, somente as antocianinas totais e os carotenóides totais apresentaram correlação positiva e significativa. **Palavras-chave:** Açaí, análises químicas e físico-químicas, atividade antioxidante, qualidade.

SUMMARY. Correlation between antioxidant activity and bioactive compounds of açaí (*Euterpe oleracea* Mart) comercial pulps. The purpose of this work was to analyze commercial açaí pulp and to correlate the contribution of vitamin C, total carotenoids and phenolic compounds with the antioxidant activity of these products besides the examination of the standard related to the quality of the obtained products. Analysis were made with regard to pH, acidity total, soluble solids, sugars, color, water activity, vitamin C, total anthocyanins, total carotenoids, antioxidant activity and phenolic compounds. All parameters analyzed showed significant difference among the marks not added with preservatives and sucrose. The açaí fruit can be considered a fair source of vitamin C and good source of natural antioxidants. In regard to the correlation with the antioxidant activity only the total anthocyanins and the total carotenoids presented positive and significant correlation.

Key-words: Açaí, chemical and physical chemical analysis, antioxidant activity, pulp quality.

INTRODUÇÃO

O mercado de polpas de frutas congeladas tem tido crescimento razoável e apresenta grande potencial mercadológico em função da variedade de frutas com sabores exóticos bastante agradáveis. Porém, devido à inexistência de padrões para todos os tipos de frutas, encontram-se no mercado produtos sem uniformidade.

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart) é uma baga globosa, fibrosa com 0,5 cm de diâmetro, de cor pardo-violácea, contendo uma polpa oleaginosa e comestível, a semente possui o endocarpo duro e fibroso. Quando completamente maduro, é recoberto por uma capa branco-acinzentada.

O reconhecimento do açaizeiro como fruteira de expressão econômica é fato recente, porém já foram ultrapassadas as fronteiras da Amazônia. O açaí é comercializado nas grandes capitais brasileiras nas mais diferentes formas, onde, devido à expansão comercial dessa bebida, muitos produtores brasileiros vêm mostrando interesse no seu cultivo em escala comercial, especialmente os das Regiões Norte e Nordeste. O interesse pela implementação da produção de frutos tem se dado pelo fato do açaí ter conquistado novos mercados, se tornando uma importante fonte de renda e de emprego.

O suco de açaí é uma bebida originada a partir dos frutos do açaizeiro. É um dos produtos mais ricos em antocianinas, além de representar uma importante fonte de lipídios, proteínas, fibras, minerais (Mn, Cu, Cr, B) e vitaminas. O alto teor de lipídio do açaí confere ao produto um elevado valor energético (1). Além dos benefícios citados anteriormente, o açaí possui em sua composição substâncias como os compostos fenólicos, dentre outros, que são componentes antioxidantes.

Antioxidantes são compostos que atuam inibindo e /ou diminuindo os efeitos desencadeados pelos radicais livres e compostos antioxidantes. São importantes porque com o combate aos processos oxidativos tem-se menores danos ao DNA e às macromoléculas, amenizando assim os danos cumulativos que podem desencadear doenças como o câncer, cardiopatias e cataratas (2).

Vários são os métodos que se têm desenvolvidos para obter a diferenciação, seja de forma qualitativa ou quantitativa, da atividade antioxidante de compostos. Segundo Kuskoski et. al (3), o método ABTS [(Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico)] apresenta vantagens em relação ao método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), pois além do tempo necessário para a realização das leituras (1

minuto para o ABTS e 30 minutos para o DPPH), o método DPPH apresenta um custo maior que o ABTS, sendo que ambos os métodos permitem alcançar conclusões praticamente similares.

O presente trabalho objetivou caracterizar polpas comerciais de açaí e correlacionar os conteúdos de vitamina C, carotenóides totais e compostos fenólicos com a atividade antioxidante desses produtos.

MÉTODOS

Matéria-prima

Foram empregadas como matéria-prima 12 polpas de açaí comercializadas na cidade de Fortaleza - Ceará, sendo 11 polpas integrais e uma polpa adicionada de conservantes (sorbato de potássio e metabissufito) e sacarose.

Determinações físico-químicas

Foram realizadas as seguintes determinações: pH, através de leitura direta em potenciômetro, da marca HANNA INSTRUMENTS, modelo HI 9321, conforme AOAC (4); acidez total titulável (ATT) obtida através da titulação das amostras com soluções de NaOH 0,1 Mol.L⁻¹ e expressa como porcentagem em ácido cítrico, segundo a metodologia de BRASIL (5); sólidos solúveis totais (SST) obtidos através da leitura direta em um refratômetro digital portátil da marca ATAGO, modelo PAL-1, a temperatura de 20°C, sendo os resultados expressos em °Brix; açúcares redutores (AR) e totais (AT) utilizando-se a curva feita com o ácido 3,5-dinitro-salicílico (DNS), as amostras foram lidas a uma absorbância de 540 nm em um espectrofotômetro do modelo B 582 da marca Micronal (6), e os resultados foram expressos em porcentagem de glicose; atividade de água (Aa) medida instrumentalmente em um aparelho Aqualab CX-2 Decagon, a 25° C.

Determinações químicas e atividade antioxidante

A vitamina C foi determinada através de titulação com 2,6-diclorobenzenoindofenol (DCFI), segundo BRASIL (5); antocianinas totais, através da extração com solução extratora de etanol 95% + HCl 1,5 Mol.L⁻¹, realizadas de acordo com a metodologia de FRANCIS (7), adaptada. A leitura foi feita em um espectrofotômetro do modelo B582 da marca Micronal, a uma absorbância de 535 nm. Para o branco foi utilizada a solução extratora. Os resultados foram expressos em mg de antocianinas totais/100 mg e calculados através da fórmula: fator de diluição x absorbância/98,2; carotenóides totais foram determinados pelo método de HIGBY (8), cuja extração ocorreu através da agitação da amostra com álcool e hexano, com três filtrações posteriores. O branco foi feito através da adição de 5,0 mL de acetona em um balão de 50 mL que foi aferido em seguida com hexano. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro do modelo B 582 da marca Micronal a um comprimento de onda de 450 nm. Os resultados foram

expressos em mg de carotenóides totais/100 mg de amostra e calculados através da fórmula: absorbância x 2; compostos fenólicos totais determinados por espectrofotometria, utilizando o reagente de Folin-Denis de acordo com a metodologia descrita por REICHER et al. (9) e curva padrão de ácido tânico. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido tânico por 100g da amostra.

Para a determinação da atividade antioxidante, cada produto foi homogeneizado e centrifugado a 15000 rpm por 15 min. O sobrenadante foi recolhido, filtrado e então analisado sua atividade antioxidante pelo método ABTS, conforme metodologia descrita por Re et. al (10), com algumas modificações. O radical ABTS foi gerado através da reação de 5 mL de solução aquosa de ABTS (7 mM) e 88 µL de solução de persulfato de potássio a 140 mM.L⁻¹ (2,45 mM.L⁻¹ concentração final). A mistura permaneceu no escuro por 14h e só depois foi diluída com etanol para obter absorbância de 0,7 ± 0,02 a 734 nm usando um espectrofotômetro do modelo B 582 da marca Micronal. Uma alíquota de 30 µL do extrato das frutas ou do antioxidante padrão Trolox (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano) e vitamina C, tomado como referência, reagiram com 3 mL da solução resultante do radical verde-azulado ABTS sem a presença da luz. O decréscimo da absorbância a 734 nm foi medido depois de 6 min. A curva padrão foi linear entre 500-1500 µM.L⁻¹ de Trolox. Os resultados foram expressos como TEAC (Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox) em µM.L⁻¹/g de amostra fresca. A atividade antioxidante não foi realizada na marca que possuía conservantes.

Análise estatística

Foi realizada análise estatística de variância ($\alpha=5\%$) realizada para testar diferença entre os resultados. Para a comparação das médias foi aplicado o teste de Tukey ($\alpha=5\%$), utilizando-se o programa estatístico SAS, versão 9.1. Para a determinação da contribuição da vitamina C, carotenóides totais e compostos fenólicos com a atividade antioxidante das amostras estudadas, foi realizada a correlação de Pearson.

RESULTADOS

A análise de variância demonstrou diferença estatística entre as polpas de açaí integrais para todos os parâmetros avaliados ao nível de significância de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$) (Tabelas 1 e 2).

O pH das polpas variou de 3,55 a 4,89 e a acidez variou de 0,20 a 0,94 % de ácido cítrico. Os valores de sólidos solúveis totais (SST) variaram de 2,40 a 42,00 (°Brix). No que se referem aos açúcares, esses apresentaram valores de 0,55% a 35,48% de glicose para os açúcares totais e 0,50% até 26,55% de glicose para os açúcares redutores. A atividade de água (Aa) apresentou variação de 0,92 até 0,99 (Tabela 3).

TABELA 1
Resumo da análise de variância para vitamina C, antocianinas totais, carotenóides totais, compostos fenólicos e atividade antioxidante de polpa de açaí integral (n=11 amostras)

FV	GL	Quadrado Médio				
		Vitamina C	Carotenóides Totais	Antocianinas Totais	Compostos Fenólicos	Atividade Antioxidante
Marca	10	347,83*	366,47*	1,68*	36190,64*	337,31*
Resíduo	11	6,54	0,70	0,50	328,69	1,00
CV (%)		10,46	2,72	9,90	5,50	4,56

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 2
Resumo da análise de variância para acidez, pH, °Brix, Aa, AR e AT de polpa de açaí integral (n=11 amostras)

FV	GL	Quadrado Médio					
		ATT	pH	SST	Aa	AR	AT
Marca	10	0,23*	0,28*	5,63*	0,85*	5,93*	6,24*
Resíduo	11	0,49	0,10	0,29	0,90	0,16	0,14
CV (%)		20,33	0,23	4,56	0,98	2,47	1,96

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade. ATT: acidez total titulável; SST: sólidos solúveis totais; Aa: atividade de água; AR: açúcares redutores; AT: açúcares totais.

TABELA 3
Análises físico-químicas das polpas de açaí de todas as marcas estudadas (n=12 amostras)

Marcas	Parâmetros [‡]					
	pH	ATT	SST °Brix)	AT (%)	AR (%glicose)	Aa
1	4,48±0,00 ^{dc}	0,26±0,01 ^{bc}	2,40±0,14 ^f	0,74±0,02 ^g	0,59±0,01 ^f	0,99±0,00 ^a
2	4,73±0,01 ^b	0,31±0,08 ^{abc}	2,70±0,14 ^f	0,93±0,05 ^f	0,75±0,04 ^c	0,98±0,00 ^{ab}
3	3,76±0,01 ^h	0,54±0,13 ^a	2,75±0,21 ^{ef}	0,55±0,01 ^h	0,50±0,01 ^f	0,98±0,01 ^{abc}
4	3,80±0,01 ^g	0,32±0,08 ^{abc}	4,50±0,28 ^{bc}	3,18±0,01 ^b	3,08±0,02 ^b	0,97±0,01 ^{abcd}
5	4,45±0,01 ^c	0,30±0,06 ^{abc}	8,13±0,17 ^a	6,57±0,07 ^a	6,36±0,11 ^a	0,93±0,00 ^d
6	4,09±0,00 ^f	0,46±0,04 ^{abc}	4,00±0,00 ^{cd}	2,87±0,02 ^c	1,60±0,04 ^c	0,98±0,01 ^{abc}
7	4,08±0,00 ^f	0,25±0,00 ^{bc}	2,50±0,00 ^f	1,05±0,00 ^f	0,81±0,00 ^e	0,99±0,00 ^a
8	4,50±0,00 ^d	0,20±0,05 ^c	2,60±0,28 ^f	1,01±0,02 ^f	0,85±0,01 ^c	0,94±0,01 ^{cd}
9	4,66±0,00 ^c	0,32±0,06 ^{abc}	3,40±0,00 ^{de}	1,30±0,06 ^c	1,17±0,01 ^d	0,98±0,02 ^{abc}
10 ⁱ	3,55±0,00	0,94±0,01	42,00±0,14	35,48±0,15	26,65±0,38	0,92±0,00
11	4,89±0,01 ^a	0,50±0,01 ^{ab}	4,95±0,07 ^b	1,78±0,02 ^d	1,48±0,02 ^c	0,99±0,00 ^a
12	4,71±0,02 ^b	0,37±0,09 ^{abc}	3,55±0,21 ^d	0,99±0,01 ^f	0,91±0,02 ^c	0,95±0,01 ^{bcd}

*Resultados seguidos de pelo menos uma letra na mesma coluna, não diferem (p = 0,05) pelo teste de Tukey.

[‡]Valores Médios. Polpa acrescida de conservante e sacarose. ATT: acidez total titulável (% ác. cítrico); SST: sólidos solúveis totais; Aa: atividade de água; AR: açúcares redutores; AT: açúcares totais.

No que se referem às antocianinas totais, estas variaram de 13,93 a 54,18 mg/100g; e o teor de carotenóides totais de 0,21 a 3,84 mg/100g, mostrando diferenças bastante significativas entre as marcas. Os compostos fenólicos apresentaram valores de 182,95 a 598,55 mg de ác. tânico/

100g. A atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) das polpas de açaí variou de 10,21 a 52,47 µM de Trolox/g de amostra (Tabela 4).

TABELA 4
Análises químicas das polpas de açaí de todas as marcas estudadas (n = 12)

Marcas	Parâmetros [‡]				
	Vitamina C (mg/ 100g)	Antocianinas totais (mg/100g)	Carotenóides totais (mg/100g)	Compostos Fenólicos (mg de ác. tânico/100g)	TEAC
1	32,84±0,02 ^{ab}	19,30±0,21 ^{fg}	2,09±0,44 ^{cde}	296,20±35,77 ^{ef}	16,02±0,61 ^{fg}
2	41,11±0,06 ^a	35,36±0,32 ^d	3,26±0,07 ^{ab}	350,60±9,19 ^d	18,84±0,60 ^c
3	40,82±0,16 ^a	31,47±0,72 ^e	0,99±0,20 ^f	182,95±0,00 ^h	10,21±0,51 ^h
4	41,20±0,01 ^a	16,88±1,54 ^{gh}	2,27±0,04 ^{cd}	248,85±7,14 ^{fg}	28,61±1,91 ^c
5	23,65±8,05 ^{bc}	21,49±0,21 ^f	1,14±0,44 ^f	196,84±18,20 ^h	10,46±0,29 ^h
6	23,95±0,00 ^{bc}	54,18±1,15 ^a	2,53±0,06 ^{bcd}	527,35±22,98 ^b	52,47±0,16 ^a
7	17,27±0,00 ^{cd}	21,08±0,00 ^f	3,84±0,00 ^a	245,44±0,00 ^g	14,70±0,00 ^g
8	5,64±2,59 ^e	13,93±0,24 ^h	1,79±0,17 ^{def}	232,00±3,67 ^h	10,45±0,04 ^h
9	7,78±0,00 ^{de}	34,22±1,08 ^{de}	2,91±0,03 ^{bc}	403,95±9,26 ^c	23,91±0,06 ^d
10 ^l	14,97±0,41	29,84±0,14	0,21±0,01	550,75±9,40	-
11	11,69±0,45 ^{de}	43,21±1,40 ^c	2,93±0,24 ^{bc}	598,55±11,80 ^a	20,09±0,74 ^{de}
12	22,95±0,31 ^{bc}	48,32±0,35 ^b	1,34±0,13 ^{ef}	342,55±30,90 ^{de}	36,22±2,34 ^b

*Resultados seguidos de pelo menos uma letra na mesma coluna, não diferem (p = 0,05) pelo teste de Tukey.

[‡]Valores médios. Polpa acrescida de conservante e sacarose. - Não determinado. TEAC - Atividade antioxidante equivalente ao Trolox ($\mu\text{M.L}^{-1}/\text{g}$ de Trolox).

As variáveis antocianinas totais e compostos fenólicos apresentaram correlação significativa ao nível de 5% com as atividades antioxidantes das polpas de açaí sem adição de conservantes e sacarose, enquanto os teores de vitamina C e carotenóides totais não apresentaram correlação significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 5).

TABELA 5

Correlação de Pearson entre as variáveis: vitamina C, carotenóides totais, antocianinas totais e compostos fenólicos com a atividade antioxidante das marcas de polpas de açaí sem adição de conservantes e sacarose

Variável	Correlação
Vitamina C	0,03 ^{ns}
Carotenóides Totais	0,11 ^{ns}
Antocianinas Totais	0,72 [*]
Compostos Fenólicos	0,59 [*]

* = F significativo ao nível de 5%; ns = F não significativo ao nível de 5%.

DISCUSSÃO

Verificou-se que o valor de pH da polpa acrescida de conservante e sacarose (marca 10) foi menor do que o encontrado nas outras polpas. Deve-se ressaltar ainda que as marcas 2, 8, 9, 11 e 12 apresentavam-se com pH maior que

4,50, e somente as marcas 3, 4 e 10 encontravam-se com pH menor 4,00 (Tabela 3).

De acordo com o pH, os alimentos são classificados como de baixa acidez (pH > 4,50), ácidos (pH de 4,00 a 4,50) e muito ácidos (pH < 4,00). Essa classificação se baseia no pH mínimo para a multiplicação e produção de toxina do *Clostridium botulinum* (pH = 4,5) e no pH mínimo para a multiplicação da grande maioria das bactérias (pH = 4,00). Portanto, as amostras 2, 8, 9, 11 e 12 são considerados de baixa acidez, estando dentro da faixa de risco para a multiplicação e produção da toxina do *C. botulinum*.

Silva et. al (11) encontraram valor de pH de 4,8 para a polpa de açaí. Em outros estudos foram encontrados resultados superiores aos do presente trabalho. Aquino (20) encontrou pH de 5,14 para o açaí, Pereira et. al (12) acharam pH de 5,23 ± 0,01 para polpa de açaí e Souza (14) encontrou pH médio de 5,45 ao estudar várias progênies de açaí.

A marca acrescida de conservantes e sacarose apresentou valor de acidez total titulável superior ao das demais (0,94 % de ácido cítrico), onde esse resultado pode ser justificado pela adição dos conservantes, que por sua vez podem ter aumentado a acidez da polpa em relação às polpas sem adição de conservantes e sacarose.

Pereira et al. (13) encontraram valores de acidez total titulável para polpa de açaí de 0,21 ± 0,00 % ácido cítrico, semelhantes aos encontrados nas marcas 1, 7 e 8 desta pesquisa. Souza (14), ao estudar diferentes progênies de açaí obteve valor médio de 0,37%, valor semelhante ao encontrado em algumas marcas do presente estudo.

A marca 10 apresentou SST superior às demais marcas, podendo ser justificado pela adição de sacarose nessa polpa (Tabela 3). Sousa et al. (15), em estudo feito com suco de açaí *in natura*, encontraram valor de SST de 3,20 °Brix. Esse valor foi semelhante ao obtido nas marcas do presente estudo, diferindo somente da polpa acrescida de açúcar e de uma polpa sem adição de conservantes e sacarose (amostra 5), que apresentou um valor superior ao encontrado (8,13 °Brix). Já Souza (14) ao estudar progênies de açaí, obteve valor médio de sólidos solúveis totais de 8,85 °Brix.

No caso dos açúcares solúveis totais, a marca acrescida de conservante e sacarose apresentou-se bastante diferente em relação às demais (Tabela 3). A Legislação brasileira (16) determina que o valor máximo de açúcares totais para o açaí grosso, médio e fino deve ser de 40,00 g/100g. Com base nesse valor, todas as marcas de polpas de açaí do presente estudo estariam de acordo com a legislação pertinente para os açúcares totais. A quantidade de açúcares totais obtidos por Silva et. al (11) ao estudar a polpa de açaí foram superiores aos encontrados nessa pesquisa (10,20%).

A marca que apresentou menor valor de Aa foi a adicionada de conservantes e sacarose. A adição de sais, açúcar e outras substâncias provoca a redução do valor de Aa de uma alimento, pois reduz o valor da pressão parcial de vapor da água contida na solução ou no alimento. O congelamento também pode reduzir este parâmetro.

Nos parâmetros químicos estudados verificou-se uma grande diferença nos valores encontrados entre as marcas avaliadas (Tabela 4). O uso do calor na pasteurização das polpas pode ter influenciado na diferença entre as marcas, onde algumas podem ter sido pasteurizadas durante o processamento e outras não. Uma possível adulteração de algumas marcas, através da adição de água em excesso, também não pode ser descartada.

Vários estudos comentam a respeito da oxidação química da vitamina C e/ou degradação térmica como consequência do branqueamento, cozimento, pasteurização, esterilização, desidratação e congelamento (17, 18 e 19). O presente estudo apresenta valores de vitamina C que variaram de 5,64 a 41,20 mg de vitamina C/100g (Tabela 4). Souza (22) ao estudar progênies de açaí, encontrou valores de vitamina C superiores aos deste estudo, com valor médio de 58,72 mg de vitamina C/100 g, sendo o máximo encontrado de 80,81 mg de vitamina C/100g.

De acordo com a Legislação Brasileira (20), a ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina C para um adulto é de 45mg. Caso seja usada como base a marca 4, que foi a que apresentou maior valor de vitamina C, o consumo de 100g dessa polpa irá suprir 91,55% da IDR, se mostrando, portanto uma excelente fonte de vitamina C. Caso seja utilizado como base a marca 8, que apresentou o menor valor de vitamina C, o consumo de 100g de polpa irá suprir apenas 12,35% da IDR.

Resultados bastante superiores para antocianinas foram encontrados por Souza (22), cuja média das progênies de açaí foi de 108,90 mg/100g. Kuskoski et. al (3) encontraram valor de antocianinas totais para a polpa de açaí de $22,80 \pm 0,8$, resultado semelhante ao de algumas polpas aqui estudadas.

Souza (14) encontrou uma média geral de carotenóides para frutos de açaí de 5,07 mg/100g, cujo valor mínimo foi de 3,88 mg/100 g, semelhante ao obtido para a marca 7 deste estudo.

Kuskoski et al. (3) encontraram valor de polifenóis totais de 136,80 mg/ 100 g de polpa de açaí, inferiores aos encontrados nas polpas aqui estudadas.

Kuskoski et. al (3), na análise da polpa de 11 tipos de frutas, verificaram que o açaí foi o 4º maior em quantidade de atividade antioxidante pelo método ABTS, sendo a ordem decrescente: acerola, manga, morango, açaí, uva, amora, goiaba, graviola, abacaxi, maracujá e cupuaçu. Portanto, essa fruta se apresenta como uma boa fonte de antioxidantes da dieta. O mesmo autor (3), ao avaliar o atividade antioxidante da polpa de açaí, obtiveram valores de $6,90 \pm 0,2$ e $8,30 \pm 0,1$ ($\mu\text{M.L}^{-1}$ de Trolox/g de amostra) para o método DPPH (30 e 60 minutos), $9,1 \pm 0,4$ e $9,4 \pm 0,2$ ($\mu\text{M.L}^{-1}$ de Trolox/g de amostra) para ABTS (1 e 7 minutos) e $4,50 \pm 0,1$ ($\mu\text{M.L}^{-1}$ de Trolox/g de amostra) para o N,N –dimetil-p-fenilenodiamina (DMPD) (10 minutos). Os resultados encontrados foram inferiores aos desse estudo.

Kuskoski et. al (3) encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo e constataram que os elevados valores de atividade antioxidante foram atribuídos aos compostos fenólicos e às antocianinas. Kalt et. al (21) também encontraram correlação positiva entre a capacidade antioxidante total e os teores de antocianinas totais e de fenólicos totais.

CONCLUSÕES

Valores muito diferentes foram encontrados entre a polpa de açaí integral e as polpas adicionadas de conservantes e sacarose no que se refere aos parâmetros de acidez total titulável, sólidos solúveis (°Brix), açúcares totais, açúcares redutores e açúcares não-redutores;

Das 12 marcas estudadas, cinco apresentam-se dentro da faixa de risco para multiplicação e produção de toxina do *Clostridium botulinum*; somente duas das polpas estudadas não se encontram dentro dos parâmetros propostos pela legislação;

Uma das marcas (marca 4) foi a que apresentou maior valor de vitamina C, onde 100g dessa polpa irá suprir 91,55% da IDR, mostrando-se ser uma excelente fonte de vitamina C.

As polpas de açaí apresentaram elevados valores no parâmetro atividade antioxidante, sendo, portanto, consideradas uma grande fonte de antioxidantes;

As antocianinas totais e os compostos fenólicos totais apresentaram correlação positiva e significativa com a atividade antioxidante das polpas de açaí.

AGRADECIMENTOS

À Funcap e ao CNPq pela concessão das bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

1. Souza JNS de. Caractérisation et quantification des anthocyanines du fruit de l'açayer (*Euterpe oleracea*). Mémoire de DEA en Sciences et Technologie des Aliments, Univ. Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgique, 2000, 72 p.
2. Maia GA, Sousa PHM. De, Lima AS. Processamento de Sucos de Frutas Tropicais. Fortaleza: Edições UFC, 2007, 320p.
3. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicacion de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidant en pulpa de frutos. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v.25, n.4, p.726-732, 2005.
4. AOAC (Association of Official Analytical Chemistry) - Official Methods of Analysis of AOAC. 12 ed. Washington – DC: [S.I.], 1992.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos Físicos-Químicos para Análise de Alimentos. 2005 a. 1018p.
6. Miller GL. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Biochem.*, New York, v.31, p.426-428, 1959.
7. Francis FJ. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, p. (ed.). *Anthocyanins as food colors*. New York: Academic Press, 1982, p.181-207.
8. Higby WK. A simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene – fortified orange juice. *J. Food Sci.*, Chicago, v.27, p.42-49, 1962.
9. Reicher F, Sierakowski MR, Corrêa JBC. Determinação espectrofotométrica de taninos pelo reativo, fosfotúngstico-fosfomolibdico. *Arq Biol Tecnol*, Curitiba, v.24, n.4, p.401-411, 1981.
10. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med*, New York, v. 26, p.1231-1237, 1999.
11. Silva M das GCPCS, Barretto W de S, Serôdio MH. Caracterização química de polpa dos frutos de juçara e de açaí. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2004, Florianópolis. Anais... Santa Catarina, 2004.
12. Aquino AR. Estudos da cinética da deterioração dos frutos do açaizeiro. Belém-Pa: UFPA, 1999.
13. Pereira EA, Queiroz AJ de M, Figueirêdo R MF de. Massa específica de polpa de açaí em função do teor de sólidos totais e da temperatura. *Rev Bras Eng Agric Ambient*, Campina Grande, v.6, n.3, p.526-530, 2002.
14. Souza MC. de. Qualidade e Atividade Antioxidante de Frutos de Diferentes Progênies de Açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart). 2007. 125f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
15. Sousa MA da C, Yuyama LKO, Aguiar JPL, Pantoja L. Suco de Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): Avaliação Microbiológica, Tratamento Térmico e Vida de Prateleira. *Acta Amazon.*, Manaus, v.36, n.4, p.483-496, 2006.
16. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01 de 07 de janeiro de 2000. Aprovar o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta. *Diário Oficial da União*, 10 jan. 2000.
17. Vikram VB, MN Ramesh MN, Prapulla SG. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *J Food Eng.*, Essex, v.69, n.1, p.31-40, 2005.
18. Johnston C S, Hale JC. Oxidation of ascorbic acid in stored orange juice is associated with reduced plasma vitamin C concentrations and elevated lipid peroxides. *J Am Diet Assoc*, Chicago, v.105, n.1, p.106-109, 2005.
19. Burdurlu HS, Koca N, Karadeniz F. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *J. Food Eng.*, Essex, v.74, n.2, p. 211-216, 2006.
20. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) - Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. *Diário Oficial da União*, Poder Executivo, Brasília, 23 set. 2005 b.
21. Kalt W, Forney CF, Martin A, Prior RL. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J Agric Food Chem*, Easton, v.47, n.11, p. 4638-4644, 1999.

Recibido: 26-02-2008

Aceptado: 21-06-2008

Desarrollo de un alimento de humedad intermedia de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Fernando Figuerola, Ana María Estévez y Olga Avendaño

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. Universidad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago de Chile

RESUMEN. El consumo de fréjoles se ha asociado a la reducción del riesgo de desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles. En general, su consumo es menor al recomendado y se realiza mayoritariamente como granos enteros. Para aumentar su consumo, hay un especial interés en su uso en otras formas. El objetivo de esta investigación fue diseñar purés de humedad intermedia (PHI) de fréjol de buena calidad química, microbiológica y sensorial. Se prepararon purés con fréjol Tórtola remojado, cocido y molido, retirando una parte importante de la testa. En la elaboración de los PHI, se estudiaron dos niveles de humedad, 25% y 30%, y dos niveles de glicerol, 10 y 15%. Se conservaron a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) por 30 días. En los purés iniciales se determinó su composición proximal, contenido de fitatos e inhibidores de tripsina. Los PHI se analizaron el día de su preparación y luego de 15 y 30 días de almacenamiento. Se determinó su humedad, pH y actividad de agua. Se realizó recuento total de: aerobios mesófilos, de mohos y levaduras, de coliformes totales, de coliformes fecales y de *Staphylococcus aureus*. Se determinó calidad y aceptabilidad sensorial. Los PHI tuvieron una a_w entre 0,800 y 0,844, pH entre 6,20 y 6,24 y sus recuentos microbiológicos fueron negativos o estuvieron muy por debajo de los límites permitidos para los alimentos más exigentes. Presentaron buenas calificaciones en su calidad sensorial y todos fueron bien aceptados. Los parámetros sensoriales se mantuvieron sin variación durante el almacenamiento, excepto el color que en el tratamiento con 30% de humedad y 10% de glicerina mostró un leve oscurecimiento. Es posible elaborar purés de fréjol de humedad intermedia, con bajos niveles de compuestos antinutricionales, de buena calidad y aceptabilidad sensorial y que ofrecen condiciones adversas para el desarrollo de los microorganismos de mayor significación para la inocuidad alimentaria.

Palabras clave: Purés de fréjol, reducción de a_w , humedad intermedia.

INTRODUCCION

Ya es universalmente aceptado que la dieta juega un rol muy importante en la reducción de enfermedades crónicas y degenerativas. Los cambios en la dieta y en el estilo de vida han contribuido al desarrollo de estas enfermedades. En los países en desarrollo, estas enfermedades se desarrollan en forma paralela a la malnutrición e inseguridad alimentaria (1). Debido a la relación entre una dieta baja en fibra dietética y el desarrollo de enfermedades tales como hipertensión,

SUMMARY. Development of an intermediate moisture food from bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Beans consumption has been associated to reduction on chronic, non transmissible, diseases development. Generally, its consumption is less to the recommended and it is done principally as whole grain dishes. To increase the consumption, there is an especial interest in the use of new products. The main goal of this research was to design intermediate moisture bean purees (IMP) using soaked, cooked and grained *Tortola* bean, removing an important testa portion. In preparation of IMP two moisture levels, 25 and 30%, and two glycerol levels, 10 and 15%, were studied. Purees were preserved at ambient temperature (20 ± 2 °C) for 30 days. Proximal analysis, phytate content and trypsin inhibitors were determined in the original non processed purees. IMPs were analyzed at preparation time and after 15 and 30 days of storage for moisture content, pH and water activity. Besides, microbiological analysis for total plate count on aerobic mesophile microorganisms, molds and yeast, total coliforms, fecal coliforms and *Staphylococcus aureus*, was carried out. Global quality and sensory acceptance was also determined. IMPs presented a_w values between 0.800 and 0.844, a pH between 6.20 and 6.24 and the microbiological counting was negative or far below the accepted limits for more strict foods. IMPs presented good qualifications for global quality and were well accepted. Sensory parameters maintain their values during storage, except for color that in treatment with 30% moisture and 10% glycerol showed a light darkening. It is possible to elaborate intermediate moisture bean puree, with low level of antinutritional compounds, good quality and sensory acceptance and with adverse conditions for the development of food safety importance microorganisms.

Key words: Bean purees, a_w reduction, intermediate moisture.

ateroesclerosis y diabetes, se ha recomendado aumentar el consumo de hidratos de carbono complejos y fibra dietética (2). En las últimas décadas, el consumo de leguminosas de grano en general y el de fréjoles en particular, ha ganado atención, porque se ha asociado a la reducción del riesgo de desarrollo de dichas enfermedades (3-6). Los fréjoles presentan además, un menor índice glicémico que otros alimentos, por lo que se asocian con la prevención de enfermedades relacionadas con la resistencia a la insulina y el aumento de la saciedad (7-10). Las legumbres se cultivan y son alimentos

tradicionales de la dieta humana de muchas partes del mundo ya que son una fuente barata de proteínas e hidratos de carbono (11-14).

Los fréjoles son bajos en grasas, ricos en proteínas, hidratos de carbono complejos, vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6, ácido fólico), minerales (calcio, hierro, zinc, fósforo, potasio y magnesio), compuestos bioactivos y energía (aprox. 380 Kcal/100 g semilla) (6,8,16, 15). Destaca su contenido de hidratos de carbono complejos (entre 50% y 60%) y de proteínas (entre 20% y 25%), en las cuales su aporte de lisina es mucho mayor que el de la mayoría de los cereales, en tanto que su contenido de aminoácidos azufrados es menor (17). Entre los hidratos de carbono, los principales constituyentes son el almidón, la fibra dietética y pequeñas cantidades de oligosacáridos. La presencia de cantidades significativas de almidón resistente, limita la velocidad de digestión, por lo que la liberación de glucosa en la sangre es menor que en otros alimentos (13). Los fréjoles son una buena fuente de fibra dietética (24,5% bms), destacándose la fracción soluble compuesta principalmente por oligosacáridos que actúa como prebiótico (6,18). Una dieta rica en fréjoles mejora la saciedad y se asocia con reducción de peso y circunferencia de cintura, disminuyendo el riesgo de obesidad (15).

Sin embargo, su consumo es menor a lo recomendable, principalmente debido a la presencia de diversos compuestos antinutricionales, que pueden tener efectos adversos para la salud (17), por lo cual es necesario aplicar diversas operaciones que reduzcan su impacto (2,6,9,18). Según Uebersax et al. (19), otras limitantes para el uso de los fréjoles son el tiempo de preparación, el consumo de energía y problemas en el almacenamiento postcosecha. Para superar estas limitaciones y promover una dieta más saludable, se debe implementar estrategias de procesamiento que faciliten el desarrollo de productos económicamente viables (19-21). En los años recientes se ha desarrollado un especial interés por el uso de leguminosas en otras formas diferentes a la cocción tradicional, como harinas, pastas o concentrados, lo cual puede ser una vía para aumentar su consumo (9,14).

Uno de los aspectos más apreciados de las legumbres es su textura. En la percepción de la testa, parece que los ácidos urónicos y el contenido de calcio y magnesio tienen un rol importante. En los cotiledones, el contenido de almidón y proteínas contribuyen significativamente a la textura (22,23). En general, se prefiere mayor cremosidad y menos percepción de la testa (21,23).

El remojo y la cocción sobre 80°C son operaciones necesarias para la reducción de oligosacáridos y fitatos y para la eliminación de los compuestos antinutricionales termoestables, respectivamente (9,14,15,18). El remojo en agua a 15-20 °C por 8 a 16 horas es importante, ya que lixivia a los oligosacáridos reduciendo la producción de gas debida a la degradación anaeróbica de ellos por las bacterias intestinales

(19,21,24,25); y reduce el contenido de ácido fítico, aumentando la disponibilidad de minerales (12,26). Además, ayuda al pelado y la expansión uniforme del grano y permite reducir el tiempo de cocción necesario para lograr el ablandamiento deseado. Lo más deseable es que logre una hidratación rápida con un máximo volumen y peso (12,25). En el remojo, los fréjoles aumentan 80% de peso y logran humedades de 53% a 57%, con un coeficiente de hidratación de 1,8 que indica un poroto bien hinchado (22,27,28).

La cocción produce ablandamiento de los cotiledones mejorando la textura de los fréjoles, la gelatinización del almidón, el aumento de la digestibilidad de la proteína y la inactivación de los factores antinutricionales (10,19,25,29). Además, según Rocha-Guzmán *et al.*, (6) a mayores tiempos de cocción, los fenoles de la cubierta de la semilla difunden al agua de cocción y de ella a los cotiledones, aumentando su capacidad antioxidante.

Los alimentos de humedad intermedia (AHI) están generalmente en el rango de 0,60 a 0,90 de aw; se basan en la adición de humectantes y preservantes para prevenir o reducir el crecimiento de microorganismos. Se almacenan sin refrigeración, son eficientes desde, un punto de vista energético, y relativamente baratos. Una desventaja es el uso en algunos de ellos de altas cantidades de sal, azúcar o aditivos, por lo que la tendencia es disminuir el uso de aditivos al máximo sin sacrificar la estabilidad microbiológica y la seguridad al almacenarlo sin refrigeración (30,31).

El objetivo de esta investigación fue diseñar un alimento de humedad intermedia de fréjol de buena calidad microbiológica y sensorial.

MATERIALES Y METODOS

Se trabajó con fréjol recién cosechado (*Phaseolus vulgaris* L), de la variedad Tórtola que corresponde a una de las variedades de mayor producción y consumo en Chile. Los fréjoles se seleccionaron para remover aquellos granos defectuosos; se lavaron con agua corriente y se remojaron en agua por 16 horas con una relación grano: agua de 1:3, para ablandarlos y permitir la difusión de los compuestos antinutricionales solubles en agua. Los fréjoles se cocieron a presión atmosférica por 60 min para obtener una textura blanda y favorecer la inactivación de los compuestos antinutricionales termosensibles. Los fréjoles se molieron en una pulsadora - tamizadora con abertura de salida de 1,8 mm, retirándose una parte de la testa con esta operación. Se obtuvo un puré con 61% de humedad. Se evaporó, a presión atmosférica y con calentamiento en un baño de agua, parte del contenido de agua hasta llegar a dos niveles de humedad residual, 25% y 30%. A ambos tipos de puré se agregó glicerol en niveles de 10% y 15% para reducir la actividad de agua; a todos los tratamientos se agregó 7% de almidón de maíz, 2,5% de sal,

0,5% de propilenglicol y 0,1% de propionato de sodio. Los purés elaborados en los cuatro tratamientos se envasaron a 75° C en potes de poliestireno y almacenaron por 30 días a 20°C.

En los purés recién elaborados se determinó su composición proximal (32) y su valor calórico teórico utilizando los coeficientes de Atwater (33). En los fréjoles crudos y luego de pulpados, se determinó el contenido de inhibidores de tripsina (expresado como unidades de tripsina inhibidas-UTI) por el método de Kakade et al (34) (considerando una unidad de tripsina como el aumento en 0,01 unidades de absorbancia a 410nm por 10mL de mezcla reactiva) y ácido fítico usando el método de Wheeler and Ferrel (35).

Los productos elaborados se analizaron el día de su preparación y luego de 15 y 30 días de almacenamiento. Se determinó su contenido de humedad (32), pH en un potenciómetro marca Ficher Accumed modelo 210; acidez por titulación potenciométrica con hidróxido de sodio 0,1N (32); actividad de agua en un equipo a_w -Wert messer Luft modelo 5803. Se realizó recuento total de aerobios mesófilos (agar plate count a 35°C por 48 horas); recuento de mohos y levaduras (agar-papa-dextrosa a 25° C por 5 días); número más probable de coliformes totales (caldo lauril sulfato triptosa y caldo lactosado verde brillante a 35°C por 24 a 48 horas); recuento de coliformes fecales (caldo lauryl sulfato triptosa y caldo EC a 35°C por 48 horas); y, recuento de *Staphylococcus aureus* (agar TPEY a 35°C por 48 horas) de acuerdo a los métodos descritos por el Ministerio de Salud de Chile (36).

Para la evaluación sensorial, a los purés se les agregó 1,4 veces su peso de agua y se calentaron en baño de agua a 90°C por 20 min. Con esto se logró una consistencia de puré suave. Doce jueces entrenados determinaron la calidad (apariencia, color, aroma, textura, dulzor, salado, amargor, astringencia y sabor), aplicando el método de Scoring, con una escala de 9 puntos. La aceptabilidad fue determinada por un panel compuesto por doce jueces entrenados y doce jueces no entrenados que usaron el método de la Escala Hedónica de 9 puntos.

Se utilizó un diseño completamente al azar con estructura factorial (dos niveles de humedad, dos niveles de glicerol y tres tiempos de almacenamiento) con cinco repeticiones. La unidad muestral fue 1,5 kg de fréjoles.

RESULTADOS

Características químicas del puré inicial

El puré inicial de fréjol tuvo, en base materia seca; 22,6 g/100g de proteína; 2,7 g/100 g de lípidos; 4,9 g/100 g de cenizas; 5,3 g /100g de fibra cruda, y 64,5 g /100 g de hidratos de carbono y un aporte calórico de 372,7 Kcal/100 g. El remojo y cocción en agua redujo el contenido de ácido fítico en un

44,8% (de 290 a 160 mg/100g crudo y en puré, respectivamente). Por otra parte el tratamiento térmico redujo en un 69,6% el contenido de inhibidores de tripsina (de 22,7 UTI/mg, bms a 6,9 UTI/mg, bms en fréjol crudo y en puré, respectivamente).

Características físicas y microbiológicas de los purés

El contenido de humedad de los purés formulados estuvo muy cercano al contenido teórico calculado. No se encontró diferencias significativas ni entre los niveles de glicerina ni entre los tiempos de almacenamiento (Tabla 1), lo cual se debió a las buenas propiedades de barrera del envase utilizado. La actividad de agua (a_w) obtenida en las formulaciones cayó dentro del rango, 0,60 a 0,90; Los purés iniciales deshidratados hasta 30% y 25% (antes de agregar la glicerina y los otros aditivos) tuvieron una a_w de 0,902 y 0,844, respectivamente. La medida de la a_w , generalmente se relaciona con el potencial de crecimiento y actividad metabólica de los microorganismos y por tanto se ha utilizado como un buen indicador de la disponibilidad de agua para su actividad (31).

Como se observa en el Tabla 1, la a_w se redujo al incorporar en la formulación glicerol, lo que demuestra su efectividad como depresor de la actividad de agua; no se observaron diferencias en el a_w de los purés con los dos niveles de glicerol. Tanto en el contenido de humedad, como en la actividad de agua hubo diferencias significativas entre los tratamientos con 30% y 25% de humedad. En los purés preparados no se observó diferencias significativas en el pH, ni en la acidez debido al contenido de humedad o al nivel de glicerol, ni durante el almacenamiento. Los productos desarrollados corresponden a alimentos de baja acidez (Tabla 2).

Desde un punto de vista microbiológico, en general, no hubo valores de significación para la salud en ninguno de los tratamientos. El recuento total de aerobios mesófilos, en el tiempo inicial de almacenamiento, arrojó resultados negativos en todas las repeticiones de todos los tratamientos. A los 15 días de almacenamiento se encontró un recuento de 50 ufc/gr sólo en una repetición de cada tratamiento; en la tercera fecha (30 días de almacenamiento), el recuento aumentó a un máximo de 150 ufc/gr en una repetición de tres tratamientos, sin diferencias entre ellos. En cuanto al recuento de hongos y levaduras, se produjo una situación muy similar, resultados negativos en la primera fecha y de 35 ufc/gr y 150 ufc/gr en la segunda y tercera fecha, respectivamente, observándose estos recuentos sólo en una repetición de cada tratamiento. En el caso de coliformes totales, fecales y *Staphylococcus aureus*, los recuentos fueron negativos en todas las repeticiones y fechas de análisis.

TABLE 1
Humedad y actividad de agua de purés de fréjol de humedad intermedia a diferentes tiempos de almacenamiento

Tratamientos	Humedad (g/100g)			Actividad de agua		
	Primer día	15 días	30 días	Primer día	15 días	30 días
30H/10G	29,3± 2,3*	28,9± 2,4	29,0± 2,4	0,844±0,03	0,842± 0,01	0,843± 0,03
30H/15G	29,9± 0,6	29,6± 0,2	29,6± 0,6	0,842±0,05	0,841± 0,01	0,842± 0,04
25H/10G	25,0± 0,4	24,5± 0,4	24,5± 0,4	0,803± 0,02	0,800± 0,05	0,801± 0,02
25H/15G	24,7± 0,3	24,6± 0,2	24,8± 0,3	0,800± 0,01	0,798± 0,03	0,800± 0,02

H: humedad. G: glicerol

*media ± desviación estándar

TABLE 2
pH y acidez de purés de fréjol de humedad intermedia a diferentes tiempos de almacenamiento

Tratamientos	pH			Acidez (meq NaOH/10g puré)		
	Primer día	15 días	30 días	Primer día	15 días	30 días
30H/10G	6,24± 0,14*	6,30± 0,17	6,08± 0,00	0,57±0,1	0,60± 0,0	0,64± 0,0
30H/15G	6,22± 0,14	6,20± 0,10	6,02± 0,10	0,59± 0,1	0,60± 0,1	0,65± 0,0
25H/10G	6,22± 0,00	6,18± 0,17	6,08± 0,10	0,62± 0,1	0,65± 0,1	0,64± 0,0
25H/15G	6,20± 0,00	6,20± 0,10	6,10± 0,14	0,61± 0,0	0,62± 0,0	0,64± 0,0

H: humedad. G: glicerol

*media ± desviación estándar

Calidad y aceptabilidad sensorial de los purés

La apariencia inicial de todos los tratamientos cayó dentro de la calificación de buena sin presentar diferencias significativas entre ellos; no hubo efecto del nivel de glicerina usado ni interacción entre contenido de humedad y nivel de glicerol; al dejar los purés en almacenamiento se observó un

leve deterioro de la apariencia en el tratamiento con menor contenido de humedad y menor contenido de glicerol (25H/10G), que según los comentarios de los jueces tenía un aspecto más granuloso; estos tratamientos además presentaron un contenido de humedad levemente menor que los demás (Tabla 3).

TABLE 3
Apariencia y color sensorial de purés de fréjol de humedad intermedia a diferentes tiempos de almacenamiento

Tratamientos	Apariencia			Color		
	Primer día	15 días	30 días	Primer día	15 días	30 días
30H/10G	6,6 a A	6,6 a A	6,3 a AB	5,3 a B	5,4 ab B	5,5 b B
30H/15G	6,7 a A	6,8 a A	6,4 a AB	5,0 a A	5,0 a A	5,0 ab A
25H/10G	6,6 a A	6,0 b B	6,1 ab B	5,2 a AB	5,3 a AB	5,3 a AB
25H/15G	6,9 a A	6,7 a A	6,7 a A	5,0 a A	5,0 a A	5,0 a A

H: humedad. G: glicerol

Letras diferentes indican diferencias significativas con error de 5%. Las letra minúsculas comparan horizontalmente entre columnas; las letras mayúsculas comparan verticalmente, entre filas.

En el caso del color, los valores obtenidos estuvieron cercanos al valor normal (5,0), alejándose levemente los tratamientos con 10% de glicerol que son algo más oscuros. El color de los purés se mantuvo sin variaciones en el tiempo en todos los tratamientos, excepto en el tratamiento 30H/10G que se oscureció levemente durante el almacenamiento (Tabla 3).

El aroma y sabor de los purés (datos no publicados) fue normal en todos los tratamientos y tiempos de almacenamiento; es importante destacar que los jueces no detectaron ningún sabor extraño causado por la presencia de glicerol en las formulaciones. Los purés con el nivel más alto de glicerol (15%) presentaron un dulzor levemente alto, siendo

significativamente diferentes a los de 10% de glicerol. La intensidad de dulzor se mantuvo sin variaciones dentro de cada tratamiento, durante el período de conservación. Los tratamientos tuvieron valores bajos de amargor, sin presentar diferencias entre ellos, ni durante el tiempo de almacenamiento (Tabla 4).

Como puede apreciarse en la Tabla 5, la textura de todos los tratamientos fue considerada como “más que regular” y se mantuvo sin variaciones en el tiempo de los tratamientos, excepto en el tratamiento con menor humedad y nivel de glicerol (25H/10G) en que se desmejoró su textura. El panel calificó a este tratamiento como “seco y “áspero”, lo que coincide con su peor apariencia.

TABLA 4
Dulzor y amargor sensorial de purés de fréjol de humedad intermedia a diferentes tiempos de almacenamiento

Tratamientos	Dulzor			Amargor		
	Primer día	15 días	30 días	Primer día	15 días	30 días
30H/10G	5,1 a A	5,0 a A	5,2 a A	3,2 a A	2,8 a A	3,0 a A
30H/15G	6,0 a B	6,2 a B	6,1 a B	3,1 a A	2,9 a A	3,3 a A
25H/10G	4,9 a A	4,9 a A	5,0 a A	3,2 a A	2,9 a A	3,1 a A
25H/15G	5,8 a B	5,9 a B	5,8 a B	2,7 a A	2,8 a A	2,9 a A

H: humedad. G: glicerol

Letras diferentes indican diferencias significativas con error de 5%. Las letras minúsculas comparan horizontalmente entre columnas; las letras mayúsculas comparan verticalmente, entre filas.

TABLA 5
Textura y aceptabilidad sensorial de purés de fréjol de humedad intermedia a diferentes tiempos de almacenamiento

Tratamientos	Textura			Aceptabilidad		
	Primer día	15 días	30 días	Primer día	15 días	30 días
30H/10G	6,2 a A	6,1 a A	6,1 a A	5,6 a A	5,5 a A	5,8 a A
30H/15G	6,5 a A	6,4 a A	6,3 a A	5,1 a B	5,2 a B	5,2 a B
25H/10G	6,0 a A	5,7 b B	5,8 b B	5,4 a A	5,6 a A	5,7 a A
25H/15G	6,5 a A	6,4 a A	6,4 a A	5,3 a AB	5,3 a AB	5,3 a AB

H: humedad. G: glicerol

Letras diferentes indican diferencias significativas con error de 5%. Las letras minúsculas comparan horizontalmente entre columnas; las letras mayúsculas comparan verticalmente, entre filas.

Todos los tratamientos fueron bien aceptados (Tabla 5), tanto por el panel entrenado, como por el no entrenado y no mostraron variaciones en aceptabilidad durante la conservación. Los tratamientos con menor contenido de glicerol, mostraron valores levemente superiores de aceptabilidad, probablemente asociados a la menor intensidad en dulzor que tenían.

DISCUSION

Características químicas del puré inicial

Los valores encontrados en la composición química de los fréjoles están dentro de los rangos normales para esta variedad (37) y son semejantes a los informados por Martín-Cabrejas et al, (10) y El Maki et al. (26) en fréjoles de

variedades cultivadas en España y Sudán, respectivamente. El aporte calórico de 380 Kca/100 g semilla, es levemente menor al indicado por Siddiq et al. (15). El contenido inicial de ácido fítico en los fréjoles es superior al informado por Díaz-Batalla et al (1) e inferior al informado por El Maki et al (26), pero la reducción obtenida en esta investigación es superior a la informada por dichos autores (35%, 2% y 30%, respectivamente). Los valores de inhibidores de tripsina encontrados en los fréjoles crudos y luego de la cocción están dentro del rango informado por Estévez et al. (37) y González de Mejía et al. (38).

Características físicas y microbiológicas de los purés

Con las formulaciones propuestas se logró desarrollar alimentos que se pueden considerar como de humedad intermedia, ya que su actividad de agua está en el rango considerado por Alzamora et al. (31) para este efecto. Es importante destacar que el pH de estos alimentos es favorable al desarrollo de microorganismos potencialmente dañinos para la salud. Sin embargo, es necesario considerar que, según Barbosa-Canovas et al. (30) y Alzamora et al. (31), el agua disponible es la principal limitante para el desarrollo microbiano en los alimentos. Según los mismos autores, cada microorganismo tiene valores de a_w limitantes bajo las cuales no crece, forma esporas o produce metabolitos tóxicos ($> 0,94$ para *Clostridium botulinum*; $> 0,90$ para *Listeria monocytogenes* y $> 0,86$ para *Staphylococcus aureus* en condiciones aeróbicas). En consecuencia, las condiciones de actividad de agua obtenidas en los purés de 25% de humedad no son favorables para el desarrollo de las bacterias que producen mayor preocupación desde el punto de vista de la inocuidad alimentaria.

Los valores encontrados en el recuento total de aerobios mesófilos son muy bajos aún comparándolos con alimentos de alta exigencia como son los alimentos para bebés, leche en polvo o postres lácteos en los que el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (39) permite niveles máximos de 1000, 10.000 y 1000 ufc/gr de aerobios mesófilos, respectivamente. Los resultados de los análisis microbiológicos muestran que, la restricción en el agua disponible fue adecuada para crear un ambiente hostil que evitó la proliferación de microorganismos en los productos elaborados (31).

Calidad y aceptabilidad sensorial de los purés

Los purés recién elaborados presentaron, en general, una buena calidad sensorial en la mayoría de los parámetros, sin diferencias entre los tratamientos, por lo que no se detectó, a nivel sensorial, efecto del contenido de humedad ni del nivel de incorporación de glicerol. Aún cuando no hubo diferencias significativas, los tratamientos con mayor nivel de glicerol se percibieron con una mayor intensidad de dulzor, lo que puede deberse al gusto levemente dulce de la glicerol y porque según

Sherwin and Labuza (40), los azúcares son capaces de disolverse en glicerol, apreciándose más intensamente su gusto dulce. También se apreció mayor sequedad y aspereza en el tratamiento de menor humedad y glicerina lo que concuerda con lo señalado por Kethireddipalli et al. (41), quienes indican que la consistencia y dispersabilidad de una pasta de leguminosa varía, según contenido de humedad, y el contenido y tipo de fibra presente. Por otra parte, según Sherwin and Labuza (40), la presencia de glicerol, aumenta la plastificación y mejora la textura.

La calidad, en general, se mantuvo sin variación significativa durante el almacenamiento; sin embargo, se observó pérdida de algunas características de calidad en algunos tratamientos. En el caso del puré con 30% de humedad y 10% de glicerol, se detectó un oscurecimiento que, de acuerdo con Alzamora et al. (31) y Sherwin and Labuza (40) se puede haber debido al desarrollo de pardeamiento no enzimático que se ve favorecido por el mayor contenido de humedad y la presencia de glicerol.

A pesar de que todos los tratamientos fueron bien aceptados, en la aceptabilidad de los purés influyó el dulzor provocado por la presencia de glicerol. Es importante señalar que los purés no se aliñaron, lo que pudo haber influido en que no se logró enmascarar el gusto dulce.

Se puede concluir que es posible elaborar purés de fréjol de humedad intermedia, con bajos niveles de compuestos antinutricionales, de buena calidad y aceptabilidad sensorial y que ofrecen condiciones adversas para el desarrollo de los microorganismos de mayor significación para la inocuidad alimentaria.

REFERENCIAS

1. Díaz-Batalla L, Wildholm JM, Fahey, Jr GC, Castaño-Tostado E and Paredes-López, O. Chemical components with health implications in wild and cultivated mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L) J Agric Food Chem. 2006; 54: 2045-2052.
2. Nestares T, Barrionuevo M, López-Frías M, Vidal C and Urbano G. Effect of different soaking solution on nutritive utilization of minerals (calcium, phosphorus, and magnesium) from cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L) in growing rats. J Agric Food Chem. 2003; 51: 515-520.
3. Morrow B. The rebirth of legumes. Food Technology 1991; 96 (September): 21.
4. Mathres, JC. Pulses and carcinogenesis: potential for the prevention of colon, breast and other cancers. British J. of Nutrition 2002; 88: S273-S279.
5. Aparicio-Fernández, X, Manzo-Bonilla L, Loarca-Piña G. Comparison of antimutagenic activity of phenolic compounds in newly harvested and stored common beans, *Phaseolus vulgaris* against aflatoxin B1 J. Food Sci. 2005; 70(1): S73-S78.
6. Rocha-Guzmán NE, González-Laredo RF, Ibarra-Pérez FJ, Nava-Berúmen CA, and Gallegos-Infante JA. Effect of pres-

- sure cooking on the antioxidant activity of extracts from three common bean (*Phaseolus vulgaris* L) cultivars. Food Chem. 2007; 100: 31-35.
7. Foster-Powell K and Brand-Miller J. International tables of glycemic index. Am J Clinical Nutr. 1995; 62: 871S-893S.
 8. Rehman Z, Salariya AM, and Zafar SI. Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chem. 2001; 73: 351-355.
 9. Matella NJ, Dolan KD, Stoeckle AW, Bennink MR, Lee YS, and Uebersax MA. Use of hydration, germination, and α -galactoside treatments to reduce oligosaccharides in dry beans. J Food Sci 2005; 70(3): C203-C207.
 10. Martín-Cabrejas MA, Sanfiz B, Vidal A, Mollá E, Esteban R, and López-Andreu FJ. Effect of fermentation and autoclaving on dietary fiber fractions and antinutritional factors of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J Agric Food Chem. 2004; 52: 261-266.
 11. Morris JB. Legume Genetic Resources with Novel "Value Added". Industrial and Pharmaceutical Use. In: Janick J, editor. Perspective on New Crops and new Uses. Alexandria: ASHS Press; 1999. p 196-201.
 12. Duhan A, Khetarpaul H, and Bishnoi S. Changes in phytates and HCl-extractability of calcium, phosphorus and iron of soaked, dehulled, cooked, and sprouted pigeon pea cultivars. Plant Food Human Nutr. 2002; 57: 275-284.
 13. Vargas-Torres A, Osorio-Díaz P, Islas-Hernández JJ, Tovar J, Paredes-López O, and Bello-Pérez LA. Starch digestibility of five cooked black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. J. of Food Composition and Analysis 2004; 17: 605-612.
 14. Makri E, Papalamprou E, and Doxastakis G. Study of functional properties of seed storage proteins from indigenous European legume crops (lupin, pea, broadbean) in admixtures with polysaccharides. Food Hydrocolloids 2005; 19: 583-594.
 15. Siddiq M, Nyombaire G, Dolan KD, Matella NJ, and Harte JB. Processing of sugar-coated red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*): fate of oligosaccharides and phytohemagglutinin (PHA), and evaluation of sensory quality. J Food Sci. 2006; 71 (9): C521-526.
 16. Madhujith T and Shadihi F. Antioxidant potential of pea bean (*Phaseolus vulgaris* L). J Food Sci. 2005; 70(1): S85-S90.
 17. Zhao YH, Manthey FA, Chang SKC, Hou HJ, and Yuan SH. Quality characteristics of spaghetti as affected by green and yellow pea, lentil, and chickpea flour. J Food Sci. 2005; 70(6): S371-S376.
 18. Martín-Cabrejas, MA, Aguilera Y, Benítez V, Mollá E, López-Andreu FJ and Esteban RM. Effect of industrial dehydration on the soluble carbohydrates and dietary fiber fractions in legumes. J Agric Food Chem. 2006; 54: 7652-7657.
 19. Uebersax MA, Ruengsakulrach S, Ocoña LG. Strategies and procedures for processing dry beans. Food Technology 1991; 96 (September): 104-108, 110.
 20. Frías J, Vidal-Valverde C, Sotomayor C, Díaz-Pollan C and Urbano G. Influence of processing on available carbohydrate content and nutritional factors of chickpeas. Eur. Food Res. Technol. 2000; 210: 340-345.
 21. Casañas F, Pujolá M, Romero del Castillo R, Almirall A, Sánchez E, and Nuez F. Variability in some texture characteristics and chemical composition of common beans (*Phaseolus vulgaris* L). J Sci Food Agric. 2006; 86: 2445-2449.
 22. Balasubramanian P, Slinkard A, Tyler R, Vanderberg A. A modified canning protocol for quality evaluation of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L). J Sci Food Agric. 2000; 80: 732-738.
 23. Pujolá M, Farreras A and Casañas F. Protein and starch content of raw, soaked and cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chem. 2007; 102: 1034-1041.
 24. Onyenecke PC, Njoku GC, and Ameth DA. Effect of cowpea (*Vigna unguiculata*) processing methods on flatus causing oligosaccharides. Nutr Res. 2000; 20(3): 349-358.
 25. Wood JA. and Harden S. A method to estimate the hydration and swelling properties of chickpeas (*Cicer arietinum* L). J Food Sci. 2006; 71(4): E190-E195.
 26. El Maki HB, AbdelRahaman SM, Idris WH, Hassan AB, Babiker EE, and Tinay AH El. Content of antinutritional factors and HCl-extractability of minerals from white bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars: influence of soaking and/or cooking. Food Chem. 2007; 100: 362-368.
 27. Hosfield, G. Genetic control of production and food quality factors in dry beans. Food Technology 1991; 96 (September): 98-103.
 28. Kikuchi K, Koizumi M, Ishida N, and Kano H. Water uptake by dry beans observed by micro-magnetic resonance imaging. Annals of Botany 2006; 98: 545-553.
 29. Nielsen SS. Digestibility of legume protein. Food Technology 1991; 96 (September): 112-114, 118.
 30. Barbosa-Cánovas G, Fernández-Molina J, Alzamora S, Tapia M, López-Malo A, Welti J. General consideration for preservation of fruits and vegetables: 39-53. In: Handling and preservation of fruits and vegetables by combined methods for rural areas. Technical Manual. FAO Agricultural Services Bulletin 149. 2002. 99p.
 31. Alzamora SM, Tapia MS, López-Malo A, Welti J. The control of water activity. In: Zeuthen P, Bgh-Srensen L, editors. Food preservation Techniques. CRC Press. 2003. 581p
 32. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis. 14 ed. Washington, DC. USA. 1990. 1141p.
 33. Schmidt-Hebbel H, Pennacchiotti I, Masson L y Mella MA. Tabla de composición química de los alimentos chilenos. Universidad de Chile. 61p. 1992.
 34. Kakade ML, Rackis JJ, Mc Gnee Je and Puski G. Determination of trypsin inhibitors activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. Cereal Chem 1974; 51:376-382.
 35. Thompson DB and Erdman JW. Structural model for ferric phytase implication for phytic acid analysis. Cereal Chem. 1982; 59(6): 525-528.
 36. Ministerio de Salud (Chile). Manual de técnicas microbiológicas para alimentos y aguas. 1998. 95pp.
 37. Estévez AM, Castillo E, Figuerola F and Yáñez E. Effect of processing on some chemical and nutritional characteristics of pre-cooked and dehydrated legumes. Plant Foods Hum Nutr. 1991; 41: 193-201.
 38. González de Mejía E, Valadez-Vega MC, Reynoso-Camacho R, and Loarca-Piñas G. Tannins, trypsin inhibitors and lectin cytotoxicity in tepary (*Phaseolus acutifolius*) and common

- (*Phaseolus vulgaris*) beans. Plant Foods Hum. Nutr. 2005; 60: 137-145.
39. Ministerio de Salud (Chile). Reglamento sanitario de los alimentos. DS 977/96. 2007 286 pp.
40. Sherwin CP, and Labuza T. Role of moisture in Maillard browning reaction rate in intermediate moisture foods: comparing solvent phase and matrix properties. J. Food Sci. 2003; 68 (2): 588-594.
41. Kethireddipalli P, Hung Y-C, Phillips RD, and Mc Watters KH. Evaluating the role of cell wall material and soluble protein in the functionality of cowpea (*Vigna unguiculata*) pastes. J. Food Sci. 2002; 67(1): 53-59.

Recibido: 26-02-2008

Aceptado: 22-04-2008

Chemical composition and fatty acid profile of rhea (*Rhea americana*) meat

Pedro Fernando Romanelli, Elizeu Trabuco, Andréia Borges Scriboni, Jesuí Vergílio Visentainer, Nilson Evelázio de Souza

UNESP, Campus de São José do Rio Preto, Depto de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, rua Cristóvão,
São José do Rio Preto/SP. Chemistry Department,, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná State, Brazil

SUMMARY. The purpose of this work was to determine the proximate composition and fatty acid profiles of the Gastrocnemius pars interna intramuscular fat (IMF) of rhea (*Rhea americana*) thighs. The birds were bred in captivity, fed with balanced feed (Nutriavestruz Crescimento – Purina) and kept in a pen with grass ad lib. The birds of both sexes used in the research weighed 23 kg on average and were aged about twelve (12) months old. They were subjected to hydric diet (12 h) before slaughtering by electric shock. The rhea meat showed an average moisture, protein, ash and total lipid contents of 74.1%, 22.8%, 1.5% and 1.6%, respectively. It was noticed the predominance of monounsaturated fatty acids (MUFA) in intramuscular fat (IMF), 42.3% and a high percentage of polyunsaturated fatty acids (PUFA), 29.7%. The fatty acids found in higher proportion in rhea IMF were: 18:2n-6 (24.33%), 18:1n-9 (19.25%), 16:0 (13.70%), 22:1n9 (11.40%), 18:0 (10.66%), 15:1n-10 (8.62%), 24:1n-9 (2.90%) and 20:4n-6 (1.72%). The PUFA/SFA and n-6/n-3 ratios were 1.06 and 31.30, respectively. The consumption of rhea meat is a healthy alternative to red meat as it points to a lower susceptibility to cardiovascular diseases caused by the high consumption of fat comparatively to the consumption of meat from most domesticated animals.

Key words: Ratite, *Rhea americana*, fatty acid profile, rhea.

RESUMEN. Composición química y perfil de ácidos grasos de la carne de ñandú (*Rhea americana*). El objetivo de este trabajo fue determinar la composición aproximada y el perfil de ácidos grasos en la carne de la parte intramuscular (IMF) interna de la pierna de ñandú (*Rhea americana*). Las aves fueron criadas en cautiverio, alimentadas con ración balanceada (Nutriavestruz Crescimento – Purina) y mantenidas en corral con pasto ad lib. La edad media de las aves de los dos sexos usados en la investigación fue de 12 meses y el peso medio de 23 kg. Fueron sometidas a dieta hídrica por 12 horas antes de matarlas por aplicación de descarga eléctrica. Los resultados de contenido medio de humedad, proteína, cenizas y lípidos totales fue de 74.1%, 22.8%, 1.5% y 1.6%, respectivamente. Fue posible notar una predominancia de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) en la gordura intramuscular (IMF), 42.3% y un alto porcentaje de ácidos grasos poli-insaturados (PUFA), 29.7%. Los ácidos grasos encontrados en mayor proporción en rhea IMF fueron: 18:2n 6 (24.33%), 18:1n 9 (19.25%), 16:0 (13.70%), 22:1n9 (11.40%), 18:0 (10.66%), 15:1n 10 (8.62%), 24:1n 9 (2.90%) y 20:4n 6 (1.72%). La PUFA/SFA (ácidos grasos saturados) y relación n-6/n-3 fue 1.06 y 31.30, respectivamente. El consumo de carne de ñandú es una alternativa saludable frente a la carne roja pues su consumo presenta una menor susceptibilidad a enfermedades cardiovasculares causadas por alto consumo de grasas cuando comparado con el consumo de carne de animales domesticados.

Palabras clave: Aves corredoras, *Rhea americana*, Ácidos grasos, ñandú.

INTRODUCTION

Wild animals may become renewable sources of largely profitable products and contribute to food production at compatible operational costs. Normally, they produce meats with low total lipid contents and cholesterol besides high proportions of polyunsaturated fatty acids, comparatively to domesticated animals (1-4). The consumption of ratite meats such as ostrich (*Strutio Camelus Australis*), rhea (*Rhea americana*), and emu (*Dromiceius novaehollandiae*) stands out among those of wild animals. Ratite meat, in contrast to beef, is free of parasites transmittable to the consumer (5). In the last years, the interest in raising ratites for meat, leather, and oil production has grown. Rhea (*Rhea americana*) is the only species

native to Brazil and practically there are no studies on its technological use. Rhea meat is red, has low fat content ($\cong 1.3\%$), high protein content ($\cong 23.5\%$) and significant amounts of minerals rich in iron in comparison to those of other species (6). The apparent fat of rhea has been cited as an important therapeutic product and as having a high skin penetration capacity and a large concentration of polyunsaturated fatty acids. In the United States and in some European countries, rhea oil is already studied as a nutritional supplement, an analgesic, a cicatrizant and as a cosmetic (5). The Omega 3 (n-3) and Omega 6 (n-6) fatty acids human dietary requirements are still debatable. Uauy et al., (7) observed that the Japan Society for Lipids Nutrition recommends dietary n-6:n-3 ratios of 4:1 for healthy adults and 2:1 for the prevention of chronic

elderly diseases, while the World Health Organization (8) recommends 3:1 and 4:1, respectively. As no information on Brazilian rhea fat has been found in literature and based on the references to its pharmacological properties (therapeutic and cosmetic), we sought to characterize the fat of raites for information and technical/scientific knowledge, which will favor future nutritional and pharmacological research.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

Raw Material: Male and Female *Rhea americana* (common rhea) birds (registration at IBAMA n° 1/35/93/830-7) raised under nutritional management in confinement system from six to twelve months of age were used. During confinement, the birds feed on balanced commercial feed (Nutriavestruz® Crescimento from Purina) ad lib and three types of forage available in the pen. Rheas were slaughtered at the age of 12 months and average weight of 23 kg after 12-h hydric diet. The birds were grouped in lots for slaughtering: one lot with two birds and three lots with three birds each. Lot grouping was necessary to allow the work on the slaughter day and the analysis procedure afterwards. The birds were stunned with electric shock (110 V, 1 min) with an adapted electrode placed on the neck and another on the cloaca. After stunning, the birds were weighed and hung by the feet. Next, the birds were bled, manually plucked, eviscerated and the carcass was completely washed with plenty of water and the parts were separated (thigh, drumstick, etc.) from the carcass. Intramuscular fat (IMF) samples were taken from eight rheas at random. IMF samples were taken from every rhea. Each sample was submitted to lipid extraction and derivatization in triplicate (n=24). Meat samples for IFM analysis were taken from the *Gastrocnemius pars interna* (inner steak), located on the bird thigh. The muscles were ground, homogenized, separated in plastic bags, labeled and freeze stored in N₂ atmosphere at -18 °C for later analysis.

Analytical methods

Moisture and ash contents were determined gravimetrically by desiccation at 105 °C and by incineration in oven at 600 °C, respectively. Crude protein was obtained by the Kjeldahl method (9). Total lipids were extracted from muscle tissue using the Bligh and Dyer (10) method. The fatty acid methyl esters (FAME) were prepared by methylation of the total lipids (TL), as described by Joseph and Ackman, (11). Fatty acid esters were separated in a gas chromatograph 14-A (Shimadzu, Japan) equipped with a fused silica capillary column CP- cyanopropyl (Select fame Varian - CP 7420) (100 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film) and flame ionization detector. The operation parameters were as follows: detector temperature, 240 °C; injection port temperature, 220 °C; column tem-

perature, 165 °C for 18 min, programmed to increase at 4 °C/min up to 235 °C, with final holding time of 24 min. The gas flow rates used were 1.0 mL/min, carrier gas (H₂), 30 mL/min make-up gas (N₂), and 30 and 300 mL/min flame gases (H₂ and synthetic air, respectively). The sample splitting rate was 1:50 and samples (1 µL) were injected in triplicate. Peak areas were determined by Varian Star.

For fatty acid identification, retention times were compared with those of standard methyl esters (Sigma, St. Louis, MO). Equivalent Chain-Length values (ECL) were determined in gas chromatograph 14-A (Shimadzu, Japan) equipped with a fused silica capillary column (DB-WAX 20M, 30m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film), and 200°C/isotherm, values for all the 23 methyl esters were compared with standard used by Stránsky et al. (12) and Thompson (13). The observed values were also in line with the certified values reference material (RM 8415) distributed by the National Institute of Standards and Technology (NIST). Repeatability tests were performed injecting a pattern and a sample consecutively six times in a day. Reproducibility tests were also carried out, injecting the pattern and the sample twice a day for 3 days, under the same experimental conditions. Significant differences (P<0.05) were not found between the results obtained in either of the tests.

RESULTS

The proximate chemical composition of the *Gastrocnemius pars interna* from rhea is shown in Table 1. Similar values were obtained by one Hofman et al. (14) for ostrich *Musculus iliofibularis* and Girardi et al., (2005) for capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Loin (76.7%; 74.4%), (21.6%;20.9%), (1.2%; 1.2%) and (2.0%; 1.8%), respectively. Sales et al. (6) found values of 1.2% and 1.3% for fat of Greater and Lesser Rhea.

TABLE 1

Proximate chemical composition per 100 g in meat of *gastrocnemius pars interna* from rhea (*Rhea americana*)

Moisture (g)	74.12 ± 0.14
Ash (g)	1.52 ± 0.17
Protein (g)	22.81 ± 0.33
Fat (g)	1.59 ± 0.36

Data presented as mean ± S.D. of eight animals, each one in triplicate n=24.

It was detected twenty-three fatty acids (FA), as shown in Table 2. It was observed that the amount of essential fatty acids of the n-6 family such as 18:2n-6 (LA) and 20:4n-6 (AA) is very significant as they make up about one fourth of total FA.

TABLE 2

Fatty acid composition (relative area percentage and Equivalent Chain Length), sums of groups and ratios of groups in meat of *gastrocnemius pars interna* from rhea (*Rhea americana*)

Fatty acids	Relative área	ECL values \pm SD
	percentage (%) Means \pm SD	Means \pm SD
Saturated		
14:0	0.35 \pm 0.0	14.00 \pm 0.01
16:0	13.70 \pm 0.9	16.00 \pm 0.02
17:0	1.20 \pm 0.1	16.99 \pm 0.02
18:0	10.70 \pm 0.3	18.00 \pm 0.01
20:0	0.20 \pm 0.0	20.00 \pm 0.02
22:0	0.50 \pm 0.0	22.00 \pm 0.01
23:0	0.30 \pm 0.0	23.00 \pm 0.01
24:0	0.80 \pm 0.3	24.00 \pm 0.02
Monounsaturated		
15:1n-9	8.65 \pm 0.8	15.28 \pm 0.01
15:1n-7	0.50 \pm 0.1	15.32 \pm 0.02
16:1n-7	0.20 \pm 0.0	16.31 \pm 0.02
17:1n-9	0.65 \pm 0.0	17.26 \pm 0.01
18:1n-9	19.25 \pm 0.8	18.26 \pm 0.02
20:1n-9	0.16 \pm 0.0	20.22 \pm 0.01
22:1n-9	11.40 \pm 0.7	22.22 \pm 0.02
24:1n-9	2.90 \pm 0.9	24.25 \pm 0.01
Polyunsaturated		
18:2n-6	24.35 \pm 2.9	18.74 \pm 0.01
18:3n-3	0.70 \pm 0.3	19.34 \pm 0.01
20:2n-6	0.51 \pm 0.0	20.72 \pm 0.03
20:4n-6	1.75 \pm 1.0	21.24 \pm 0.01
20:5n-3	0.55 \pm 0.1	21.90 \pm 0.01
22:5n-6	0.40 \pm 0.1	23.53 \pm 0.02
22:6n-3	0.65 \pm 0.3	24.13 \pm 0.01
Sums		
SFA	27.93 \pm 0.7	
MUFA	42.36 \pm 2.5	
PUFA	29.71 \pm 1.9	
n-6	28.80 \pm 2.2	
n-3	0.92 \pm 0.4	
Ratios		
PUFA/SFA	1.06 \pm 0.0	
n-6/n-3	31.30 \pm 9.0	

The results of relative area percentage of fatty acid composition are means of triplicate analyses of eight animals (n=24). SD=Standard deviations. ECL =Equivalent Chain Length. SFA=Saturated fatty acids; MUFA= monounsaturated fatty acids; PUFA= Polyunsaturated fatty acids; n-6=omega 6 fatty acids; n-3= omega 3 fatty acids.

DISCUSSION

These data agree with those presented by Martino & Takahashi (16), who reported the predominance of these FA in terrestrial animal tissues, mainly of 18:2n-6 (LA). In this respect, Mancini-Filho and Chemin (17) corroborated that human beings do not synthesize these essential FA. As they are associated to the synthesis of vital substances, they must be obtained through the diet. The presence of some n-3 FA such as 18:3n-3 (LNA), 20:5n-3 (EPA), and 22:6n-3 (DHA) in foods, even in small amounts, stands out as they are considered primordial for the maintenance of biological membranes, the retina, the cerebral cortex, nervous tissues and for anti-inflammatory and other actions in the human body (18). Campos et al. (19) concluded that the proportion of long chain MUFA in relation to short chain MUFA must be 3:1 for a beneficial effect. The proportion found for these MUFA was 2:1. The PUFA/SFA ratio agrees with the recommendations for human consumption. According to Enser et al. (20), a ratio higher than 0.45 is beneficial for health maintenance. Although the n-6 and n-3 ratio shown in Table 2 is distinct from that found by Simopoulos et al. (21), it agrees with the value obtained by Longo et al. (22). Sales et al. (6) described the FA profile of IMF of two species of rhea: Common (Rhea americana) and Darwin (Pterocnemia pennata). In that work, the samples were made up of five different thigh and drumstick muscles: (iliofibularis, iliotibialis lateralis, femorotibialis medius, iliotibialis cranialis, and gastrocnemius pars externa). They used common rhea from farms in the Patagonia region of the Argentinean Pampas and five Darwin rheas from Patagonia. The birds, aged 11-12 months old, were raised in extensive system on cornmeal- and alfalfa-enriched diets. The rheas were slaughtered in the farm itself. No slaughtering technical details are given. The qualitative and quantitative variations in FA found in the two cases may be related to differences in operational procedures between the present work and that of Sales et al. (6). It is worth noting that in the present work, it was also detected other 16 FA not mentioned in literature besides those indicated by Sales et al. (6): 14:0, 17:0, 20:0, 22:0, 23:0, 24:0, 15:1n-9, 15:1n-7, 16:1n-7, 17:1n-9, 20:1n-9, 22:1n-9, 24:1n-9, 20:2n-6, 22:5n-6 and 22:6n-3. French et al. (23) emphasized that there were changes in FA composition in fat due to diet. Thus, the amount of PUFA may be increased by slaughtering animals with low fat deposition (24). However, Marmer et al. (25) and De Smet et al. (24) reported that the change in the FA profile of animals is also related to the increase in body fat. The larger the amount of body fat is, the larger the ratio SFA/PUFA is. In the present work, it was analyzed IMF samples from a single muscle, while in Sales et al. (6), and data were obtained from samples made up of five muscles. Webb et al. (26) showed that variations of FA profile for different cuts occur. Ruiz et al. (27) also con-

firmed the existence of differences in the distribution of lipids in animal muscles. If we compare the FA profile of IMF of three wild species, rhea (*Rhea americana*), studied here, ostrich (*Struthio camelus*), in Gastrocnemius pars interna (6), and capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), in Loin and Ham (15), it is observed that the PUFA values of the three species are rather significant. The concentrations of 18:2n-6 (LA) in ostrich and capybara are very close, while those of 18:3n-3 (LNA) are very distinct in the three species. The direct comparison of the concentrations and the presence of FA with nutritional value (n-6 and n-3 type) is affected by the fact that these data may vary with age, muscle segment, sex, feed (nutritional management), and pasture management for each species. These results show that wild animal muscles may have large nutritional importance due to the presence of PUFA in considerable concentrations. Regarding meat consumption, the nutritional context must be taken into consideration. FA results for 20:4n-6 (AA) and 20:5n-3 (EPA) were the highest for capybara, followed by those of ostrich and ema. However, ema meat is richer in 22:6n-3 (DHA), an essential FA whose presence in IMF adds to its medicinal value, along with its traditional nutritional values (28). It was also observed that the SFA concentration in rhea is lower, which is in agreement with its nutritional evaluation in literature (6). This fact adds to the nutritional quality of rhea meat. The ostrich and rhea species have eight FA in common. FA 16:0, 18:0, and 18:2n-6 have very close concentrations, which may be attributed to the type of food and the digestive physiology of these animals (1-3). In relation to the PUFA values with large nutritional importance, it was observed that rhea has the largest concentration of 18:2n-6 (LA). These values agree with those of Sales (6), who found that rhea meat is rich in type n-6 PUFA.

CONCLUSIONS

The intramuscular fat profile of rhea meat presented twenty-three fatty acids. The total content of saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids, n-6, and n-3 were 27.93%, 42.36%, 29.71%, 28.80%, and 0.92%, respectively. The PUFA/SFA and n-6/n-3 ratios were 1.06 and 31.30. The consumption of rhea meat is a healthy alternative to red meat as it points to a lower susceptibility to cardiovascular diseases caused by the high consumption of fat comparatively to the consumption of meat from most domesticated animals.

REFERENCES

- Crawford MA, Casperd MN, Sinclair AJ. The long chain metabolites of linoleic and linolenic acids and liver and brain in herbivores and carnivores. *Comp Biochem Phys – part B*, 1976; 54B: 395-401.
- Sinclair AJ, Slattery WJ, O’dea K. The analysis of polyunsaturated fatty acid in meat by capillary gas-liquid chromatography. *J Sci Food Agric* 1982; 33: 771-776.
- Naughton JM, O’dea K, Sinclair AJ. Animal foods in traditional aboriginal diets: polyunsaturated and low in fat. *Lipids* 1986; 21: 684-690.
- Sinclair AJ, O’dea K. Fats in Human diets though history: is the western diet out of step? In: Wood, J. D., Fisher, A. V. Reducing fat in meat animals. London: Elsevier, 1990. p. 1-47.
- Giannoni ML. Viabilidade da exploração de ratitas em São Paulo. *Biológico* 1998; 1: 91-96.
- Sales J, Navarro JL, Martella MB, Lizurume ME, Manero A, Bellis L, Garcia PT. Cholesterol content and fatty acid composition of rhea meat. *Meat Sci* 1999; 53: 73-75.
- Uauy R, Mena P, Valenzuela A. Essential fatty acids as determinants of lipids requirements infants, children and adults. *European J Clin Nutr* 1999; 53: 66-77.
- FAO/WHO. Report of a joint expert consultation: fats and oils in human nutrition. *Food Nutr Paper* 1994; 57: 49-55.
- Cunniff PA. Official methods of Analysis of AOAC international. 6th ed. Arlington: Assoc. off Off. Analytical Chemists. CD-Rom. 1998.
- Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Phys* 1959; 37: 911-917.
- Joseph JD, Ackman RG. Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: collaborative study. *J AOAC Inter* 1992; 75: 488-506.
- Stransky K, Jursik T, Vitek A. Standard equivalent chain length values of monoenic and polyenic (methylene interrupted) fatty acids. *J High Res Chrom* 1997; 30: 143-158.
- Thompson RH. Simplifying fatty acid analyses in multicomponent foods with a standard set of isothermal GLC conditions coupled with ECL determinations. *J Chrom* 1996; 34: 495-504.
- Hoffman LC, Joubert M, Brand TS, Manley M. The effect of dietary fish oil rich in n-3 fatty acids on the organoleptic, fatty acid and physicochemical characteristics of ostrich meat. *Meat Sci* 2005; 70: 45-53.
- Girardi F, Cardozo RM, Souza VLF, Moraes GV, Santos CR, Visentainer JV, Zara RF, de Souza NE. Proximate composition and fatty acid profile of semi confined young capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris hydrochaeris* L. 1766) meat. *J Food Comp Anal* 2005; 18: 647-654.
- Martino R, Takahashi NS. A importância da adição de lipídios em rações para a aquicultura. *Óleos e Grãos* 2001; 58: 32-37.
- Mancini-Filho J, Chemin S. Implicações nutricionais dos ácidos graxos trans. *Óleos e Grãos* 1996; 31: 41-45.
- Schmidt MA. Gorduras inteligentes. Trad. Dirceu H. Pereira. São Paulo – SP. Ed. Roca Ltda, 2000; 231p.
- Campos FG, Waitzberg DL, Habr-Gama A, Loquillo AF, Noronha IL, Jancar S, Torrinhas RSM, Furst P. Impact of parenteral n-3 fatty acids on experimental acute colitis. *Brit J Nutr* 2002; 87: S83-S88.
- Enser M, Hallett K, Hewitt B, Fursey G AJ, Wood JD. Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Science* 1996; 42, 443-456.

21. Simopoulos AP, Leaf A, Salem N. Essentially and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *An Nutr Metab* 1999; 43: 127-130.
22. Longo S, Nakasato M, Costa RP, Lottenberg AN, Fisberg M, Quintão E. Alimentação e Ácidos Graxos ω -3 e ω -6. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2001;77, 308-310.
23. French P, Stanton C, Lawless F, O'Riordan EG, Monahan FJ, Caffrey PJ, Moloney AP. Fatty acid composition including conjugated linolenic acid, of intramuscular fat from steers offered grazes grass, grass silage, or concentrated based diets. *J Anim Sci* 2000; 78: 2849-2855.
24. De Smet S, Webb EC, Claeys E, Uytterhaegen L, Demeyer DI. Effect of dietary energy and protein levels on fatty acid composition of intramuscular fat in double-muscled belgain blue bulls. *Meat Sci* 2000; 56: 73-79.
25. Marmer WM, Maxwell RJ, Williams JE. Effects of dietary regimen and tissue site on bovine fatty acid profiles. *J Anim Sci* 1984; 59: 109-121
26. Webb EC, De Smet S, Van Nevel C, Martens B, Demeyer DI. Effects of anatomical location on the composition of fatty acids in double-muscled Belgian Blue cows. *Meat Sci* 1998; 50: 45-53.
27. Ruiz R, Martin CA, De Souza NE, Visentainer JV, Prado IN, Matsushita M. Importância dos ácidos graxos de cadeia longa: DHA, EPA e araquidônico presentes na carne. *Rev Nac Carne* 2004; 338: 72-76.
28. Park EI, Paisley EA, Mangian HJ, Swartz DA, Wu MX, Omorchoe PJ, Behr SR, Visek WJ, Kaput J. Lipid level and type alter stearoyl CoA desaturase mRNA abundance differently in mice with distinct susceptibilities to diet-influenced diseases. *J Nutr* 1997; 127: 566-573.

Recibido: 23-04-2008

Aceptado: 17-05-2008

NOTAS

Micronutrient Forum
**“Micronutrients, Health, and Development:
Evidence-based Programs”**
12-15 May, 2009. Beijing, China

CALL FOR ABSTRACTS

DEADLINE FOR SUBMISSION: August 15, 2008

To submit your abstract directly go to: <https://aed.conference-services.net/authorlogin.asp?conferenceID=1411&language=en-uk>

The Micronutrient Forum will hold its second international meeting in Beijing, China, 12-15 May, 2009. The title of the meeting is “Micronutrients, Health, and Development: Evidence-based Programs”. Building upon the theme of the Micronutrient Forum meeting in 2007 which reviewed the scientific base of key micronutrients, the Beijing meeting looks to review the evidence base for programs.

The Micronutrient Forum builds upon the success of the International Vitamin A Consultative Group (IVACG) and the International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG), which were both established by the United States Agency for International Development (USAID) in 1975.

The Micronutrient Forum serves as a stimulus for policy-relevant science and a catalyst for moving the global community towards consensus around evidence-based policies and programs that reduce micronutrient deficiencies around the globe.

Meeting participants are welcome from a wide diversity of relevant disciplines such as maternal and child health, nutrition, biochemistry, agriculture, horticulture, education, communications, and development. Participants are expected to include representatives from international agencies, national ministries, educational and research institutions, food and chemical industries, and non-governmental organizations.

Program managers and researchers are encouraged to submit abstracts for oral and poster presentations describing new data on the topics that follow. Abstracts should relate to, but are not limited to, the micronutrient deficiencies of primary interest to the Micronutrient Forum, vitamin A, iron, folate, iodine, and/or zinc.

Primary theme – lessons learned from large-scale programs

that have, or have not, achieved their objectives.

1. Monitoring processes and evaluating the outcomes/impacts of large-scale programs with indicators such as coverage, behavior change, nutrient intakes, micronutrient status, growth, development, etc.
2. Successes and failures in strengthening program design and planning, integrating interventions into other delivery platforms, managing/supervising implementation, and/or reaching the hard-to-reach.
3. Successes and failures in achieving sustainability, e.g. systems strengthening, assuring commodities, creating demand.

Note: submissions sharing experiences from programs that have not achieved their objectives should include evidence supporting the conclusion that the objectives were not reached and clearly identify the lessons learned that will inform future programs and benefit the global community or other countries.

Secondary themes:

4. Micronutrient interactions
5. Micronutrients and the immune response
6. Micronutrients and infectious disease with particular emphasis on HIV, tuberculosis, and malaria
7. Innovative approaches to assessment of micronutrient status
8. Early micronutrient deficiencies and their consequences over the life span
9. Micronutrient research or innovations pertaining to maternal and child health

Preference will be given to abstracts describing well-designed programs or studies, providing new and potentially important findings with data that relate to the above topics. Please indicate the topic your abstracts refers to when submitting it.

To submit your abstract directly go to:
<https://aed.conference-services.net/authorlogin.asp?conferenceID=1411&language=en-uk>

About the Micronutrient Forum

The Micronutrient Forum is co-hosted by the Micronutrient Forum Steering Committee and the Local Organizing Committee of the China Center for Disease Control and Prevention, and ILSI Focal Point China. A2Z, The USAID Micronutrient and Child Blindness Project serves as the

Secretariat for the Micronutrient Forum. A2Z is managed by the Academy for Educational Development (AED) and is funded through September 2010 by the United States Agency for International Development (USAID) Health, Infectious Disease and Nutrition (HIDN) Office of the Bureau of Global Health under Cooperative Agreement (GHS-A-00-05-00012-00).

To receive more information about the Micronutrient Forum, contact the Micronutrient Forum Secretariat at the A2Z Project, AED, 1825 Connecticut Avenue NW, Washington DC, 20009, phone: 202-884-8785 or e-mail mnforum@aed.org.

NUEVOS LIBROS

La salud de los adultos mayores. Una visión compartida.

Marialcira Quintero Osorio (Compiladora).

Colección Textos Universitarios. Ediciones del Vice Rectorado Académico. Universidad del Zulia. Primera Edición 2008. ISBN 980-7140-17-1

“El envejecimiento tanto individual como colectivo no es una ruta a seguir, es un camino a construir”. Este pensamiento expresado en el Prólogo del texto que hoy nos complacemos en presentar, recoge a cabalidad las inquietudes de un grupo de expertos profesionales venezolanos e invitados internacionales que han querido expresar y divulgar acertadamente en esta obra sus conocimientos y experiencias en el campo de la salud de los adultos mayores.

El contenido del libro se integra en 15 Capítulos, producto de la visión interdisciplinaria desarrollada y ejercida por sus autores, en la que se evidencia que la atención a este grupo de personas supera la individualidad de un profesional de la salud.

Capítulo I. Demografía: El adulto mayor en la estructura poblacional.

Capítulo II. El envejecimiento con éxito en el adulto mayor. Algunos indicadores europeos.

Capítulo III. Cuidados y cuidadores.

Capítulo IV. Valoración nutricional del adulto mayor.

Capítulo V. Nutrición y vida activa. De la prevención a las necesidades nutricionales.

Capítulo VI. La práctica odontológica y la atención del adulto mayor.

Capítulo VII. Sexualidad y salud en el adulto mayor.

Capítulo VIII. Adhesión al tratamiento en adultos mayores.

Capítulo IX. Los síndromes geriátricos comprometen la autonomía y funcionalidad de los adultos mayores.

Capítulo X. Farmacología y polifarmacia en el adulto mayor.

Capítulo XI. Diabetes en el adulto mayor: estrategias de tratamiento.

Capítulo XII. Cuidados de los pacientes con la enfermedad de Alzheimer y otras demencias ¿Cómo educar al cuidador?

Capítulo XIII. El trabajo social y la atención en salud del adulto mayor.

Capítulo XIV. Estabilidad y cambio: desafíos para enfermería en el cuidado de la salud mental del adulto mayor.

Capítulo XV. Gestión del conocimiento en organizaciones del sector salud que prestan servicios a adultos mayores.

En síntesis se trata de un libro de obligada consulta, que entrega experiencia y conocimientos de práctica utilidad que aplican en el campo vasto y diverso de la salud del adulto mayor.

José Félix Chávez Pérez