

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la  
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

---

**VOL 57**

**MARZO 2007**

**Nº 1**

---

## Contenido

### ARTICULOS GENERALES

**¿Funciona el tejido adiposo marrón como un depósito de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga durante el desarrollo postnatal del cerebro?**

*Venezuela Azavache, Carmen Cuevas y Virgilio Bosch R. ....* 5

**Food insecurity and household food supplies in rural Ecuador**

*Michelle Hackett, Ana Claudia Zubieta, Katty Hernandez, Hugo Melgar-Quiñonez, ....* 10

**Relacion entre los factores de riesgo de enfermedades crónicas no trasmisibles y la sensibilidad a la insulina en adultos jóvenes de 18 a 39 años de la ciudad de Cali-Colombia**

*Mildrey Mosquera, Alberto Pradilla, Beatriz Gracia, Martha Liliana Cruz, Andrés Felipe Sánchez, Cecilia Aguilar de Plata ....* 18

### TRABAJOS DE INVESTIGACION

#### Bioquímica Nutricional

**Homocisteína, ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> en adultos mayores venezolanos**

*Lesbia Meertens G, Nayka Díaz W, Liseti Solano R, Maria Adela Baron, Adelmo Rodríguez M. ....* 26

#### Dieta y Obesidad

**O perfil de macronutrientes influencia a termogênese induzida pela dieta e a ingestão calórica**

*Helen Hermana Miranda Hermsdorff, Ana Carolina Pinheiro Volp, Josefina Bressan ....* 33

## Encuesta Dietética. Instrumentos

### Instrumentos de inquérito dietético utilizados na avaliação do consumo alimentar em adolescentes: comparação entre métodos

*Kiriaque Barra Ferreira Barbosa, Lina Enriqueta F. P. de Lima Rosado, Sylvia do Carmo Castro Franceschini, Silvia Eloiza Priore* ..... 43

## Microbiología de Alimentos

### Evaluación del efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus rhamnosus* adicionado a yogurt natural y con probióticos comerciales sobre poblaciones de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*

*Oscar Calderón, Carolina Padilla, Carolina Chaves, Laura Villalobos y María Laura Arias* ..... 51

## Ciencia de Alimentos

### Optimización de una formulación de queques (cakes) con características funcionales a partir de almidones resistentes, *Sphagnum magellanicum* y harina desgrasada de avellana (*Gevuina avellana* Mol)

*Mario Villarroel, Carla Reyes, Julia Hazbun, Julia Karmelic* ..... 56

### Evaluación de la posible adulteración de mieles de abeja comerciales de origen costarricense al compararlas con mieles artesanales provenientes de apiarios específicos

*Maurico Ureña Varela, Esteban Arrieta Bolaños, Eduardo Umaña, Luis Gabriel Zamora y María Laura Arias Echandi* ..... 63

## Tecnología de Alimentos

### Composición y aporte potencial de hierro, calcio y zinc de panes y fideos elaborados con harinas de trigo y amaranto

*Dyner Luis, Drago Silvina R., Piñeiro Adriana, Sánchez Hugo, González Rolando, Villaamil Edda, Valencia Mirta E.* ..... 69

### Desarrollo de pan integral con soya, chía, linaza y ácido fólico como alimento funcional para la mujer

*Mayela Bautista Justo, Alejandra Denisse Castro Alfaro, Ernesto Camarena Aguilar, Katarzyna Wrobel, Kazimierz Wrobel, Guadalupe Alanís Guzmán, Zeferino Gamiño Sierra y Víctor Da Mota Zanella* ..... 78

## LatinFoods. Composición de Alimentos

### Evaluación de los ácidos grasos n-3 de 18 especies de pescados marinos mexicanos como alimentos funcionales

*Castro-González MI, Ojeda VA, Montañó BS, Ledesma CE, Pérez-Gil RF.* ..... 85

### Caracterización del acai o manaca (*Euterpe olerácea* Mart.): un fruto del Amazonas

*Sanabria Neida, Sangronis Elba* ..... 94

**INFORMACION PARA LOS AUTORES** ..... 99

## ¿Funciona el tejido adiposo marrón como un depósito de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga durante el desarrollo postnatal del cerebro?

Venezuela Azavache, Carmen Cuevas y Virgilio Bosch R.

Sección de Lipidología. Instituto de Medicina Experimental. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

**RESUMEN.** Los mamíferos como el hombre y la rata, poseen durante su desarrollo postnatal temprano un tejido adiposo marrón (TAM) muy activo. En este trabajo se exploró la posibilidad de que el TAM funcione como un depósito de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), durante el período de máximo crecimiento postnatal del cerebro de rata. En el TAM de ratas de 1, 6, 12 y 20 días de edad analizamos la concentración de triglicéridos (TG) y la composición de ácidos grasos en los TG y fosfolípidos (FL). Además, en ratas de 6 días de edad evaluamos la capacidad del TAM para desaturar 1-<sup>14</sup>C ácido linoleico administrado por vía intraperitoneal. Los resultados mostraron un rápido incremento en la concentración de TG durante el período experimental (1,5; 40; 118; 120 mg/g de peso húmedo). El porcentaje de AGPI-CL fue mayor en las ratas de 1 y 6 días de edad que en las de 12 y 20 días (16-17% vs 5%). Por otra parte, la incorporación de 1-<sup>14</sup>C ácido linoleico fue más alta en el hígado que en el TAM, aunque la relación “productos desaturados de 1-<sup>14</sup>C ácido linoleico / 1-<sup>14</sup>C ácido linoleico” fue mayor en el TAM que en el hígado (>4), lo cual podría indicar que este tejido además de almacenar AGPI-CL los sintetiza. En resumen, nuestros resultados demuestran que el TAM es depósito importante de AGPI-CL durante el período de máximo desarrollo postnatal del cerebro. **Palabras clave:** Lípidos, tejido adiposo marrón, cerebro, ácido docosahexaénico, ácido araquidónico.

### **SUMMARY. Is brown adipose tissue a store of long chain polyunsaturated fatty acids during postnatal developing brain?.**

Mammals along their early postnatal period develop a substantial amount of a very active brown adipose tissue (BAT). Through this work we explored the possibility that BAT may function as a long chain polyunsaturated fatty acids reservoir (LC-PUFA) during the rapid growth of brain structures. In new born rats 1, 6, 12 and 20 days old, we analyzed fatty acid percentage of triglycerides (TG) and phospholipid fractions, and the absolute amount of TG. In 6 day old rats we also evaluated the extend of further desaturation of 1-<sup>14</sup>C linoleic acid administered by intraperitoneal injection. Results demonstrated a drastic increase of TG concentration during experimental period (1,5; 40; 118; 120 mg/g wet weight) and LC-PUFA percentage was higher in “1 and 6” than “12 and 20” days old rats (16-17% vs 5%). Our results showed that BAT stored important amounts of LC-PUFA. On the other hand, 1-<sup>14</sup>C linoleic acid incorporation was higher in liver than BAT. In contrast, the desaturated products of 1-<sup>14</sup>C linoleic acid / 1-<sup>14</sup>C linoleic acid ratio was greater in BAT than liver (>4). This could indicate that BAT synthesizes LC-PUFA in addition to store it. In summary we demonstrated that BAT is an important reservoir of LC-PUFA during postnatal brain growth.

**Key words:** Lipids, brown adipose tissue, brain, arachidonic acid, docosahexaenoic acid.

### **INTRODUCCION**

El desarrollo normal del sistema nervioso central (SNC) requiere un suministro adecuado de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), principalmente de los ácidos araquidónico (C20:4 n-6) y docosahexaenoico (C22:6 n-3) (1-3). Durante el desarrollo fetal se produce una transferencia neta de AGPI-CL desde la placenta hacia el cerebro (4). En el período postnatal estos ácidos grasos son aportados principalmente por la leche materna y por la síntesis endógena (5,6). El hígado y el cerebro han sido los órganos más estudiados, los resultados han revelado que la síntesis en estos órganos inmediatamente después del nacimiento (1 a 20 días de edad) es muy baja (7,8), aunque después de los treinta días de edad ya se ha desarrollado bien la capacidad para la síntesis endógena (9). Estudios en otros órganos o

tejidos no se han realizado, en este sentido resulta interesante considerar la participación del tejido adiposo marrón (TAM), dado que tanto en el hombre como en la rata este tejido exhibe su mayor desarrollo y actividad metabólica durante el período postnatal temprano. Además, el grado de madurez del SNC de los mamíferos recién nacidos se puede correlacionar directamente con la actividad metabólica del TAM (10). Este tejido tiene relaciones importantes con el SNC: presenta una rica inervación simpática que llega a los vasos sanguíneos y también a los adipocitos, esta última característica lo diferencia del tejido adiposo blanco (11,12) y, las evidencias indican que sintetiza leptina (13). En cuanto a su actividad, el TAM de ratas recién nacidas presenta un metabolismo lipídico superior a hígado, tejido adiposo blanco, piel y cerebro (14). La tasa de oxidación de ácidos grasos en el TAM es elevada, pero su actividad lipolítica es aún mayor (15,16), de manera que

el excedente de ácidos grasos podría ser exportado hacia otros órganos o tejidos. También presenta una alta actividad lipogénica (16,17). El propósito de este trabajo fue evaluar la capacidad del TAM para almacenar AGPI-CL, durante el período de máximo desarrollo postnatal del cerebro de rata, a través del análisis del contenido de AGPI-CL en el TAM, y mediante el estudio del metabolismo del  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico, determinando su incorporación y la presencia de los productos de su desaturación tanto en el TAM como en el hígado.

## MATERIALES Y METODOS

### Reactivos

Todos los solventes (metanol, etanol, cloroformo, éter etílico y éter de petróleo) y otros reactivos fueron de grado analítico (Merck, Alemania). Se emplearon placas de capa fina de sílica gel G-60 (Merck, Alemania), los reactivos 2,3 dibromofluoresceína; metil ésteres de ácidos grasos, fosfatidilcolina, triestearina, fueron adquiridos a Sigma (St. Louis, USA), y el  $[1\text{-}^{14}\text{C}]$  ácido linoleico a Dupon / NEN (Boston, USA).

### Animales

Se utilizaron ratas lactantes de ambos sexos de la cepa Sprague Dawley, de 1, 6, 12 y 20 días de edad (entre 6 y 8 por grupo). Las madres se alimentaron con una dieta comercial (Protinal, Valencia, Venezuela).

### Extracción de los lípidos del TAM

Las ratas fueron sacrificadas por decapitación entre las 9:00 y 10:00 de la mañana. Posteriormente se extraía de la región interescapular el TAM, se hacía un pool hasta completar entre 0.3 - 0.4 gramos, luego se cortaban finamente y se enjuagaban con solución fisiológica a  $4^{\circ}\text{C}$  y se homogenizaban manualmente. Los lípidos se extrajeron siguiendo el método de Folch y Col. (18)

### Determinación de triglicéridos en los lípidos totales del TAM

La concentración de TG en el TAM fue determinada en los lípidos totales mediante el método enzimático descrito por Carr y col. (19). Los resultados se expresan en mg/g de peso húmedo.

### Separación de fosfolípidos y triglicéridos del TAM

Los fosfolípidos (FL) y triglicéridos (TG) del TAM, se separaron a partir de los lípidos totales mediante cromatografía de capa de capa fina sobre placas de sílica gel G-60, siguiendo el procedimiento descrito por Mangold (20). Para la corrida se empleó una mezcla de éter de petróleo: éter etílico: ácido acético en la proporción 90:10:1 (v/v/v). Las áreas correspondientes a TG y FL se identificaron mediante el empleo de estándares.

### Obtención de los metil-ésteres de los ácidos grasos y separación por cromatografía gas-líquido

Los metil-ésteres de los ácidos grasos se obtenían de acuerdo al método descrito por Chalvardjian (21) con ligeras modificaciones: Los FL y TG raspados de las placas de capa fina se sometían a una reacción de transesterificación con metanol, para ello se empleaba una mezcla de metanol: ácido sulfúrico: tolueno y BHT al 1% como antioxidante, se llevaban a reflujo por una hora a  $80^{\circ}\text{C}$  bajo atmósfera de  $\text{N}_2$ . Luego se extraían los metil-ésteres de los ácidos grasos con hexano, se evaporaba todo el solvente bajo una corriente de nitrógeno, luego se resuspendían en 10-20  $\mu\text{L}$  de hexano. Para la separación de los metil-ésteres se inyectaba 1  $\mu\text{L}$ , en un cromatógrafo gas-líquido marca Hewlett Packard e integrador, ambos modelo 5880 A. Las características de la columna fueron las siguientes: columna de vidrio de 4 mm x 183 cm, empacada con polietileno glicol adipato al 4% en peso sobre cromosorb AW de 80 mesh. Las condiciones para la separación fueron: temperatura del horno  $200^{\circ}\text{C}$ ; temperatura del detector de llama  $250^{\circ}\text{C}$ ; gas transportador Nitrógeno, y velocidad del flujo 60cm/min.

### Incorporación de $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico en el TAM e hígado de ratas lactantes de 6 días de edad. Separación de los productos desaturados del ácido linoleico

A las ratas lactantes de 6 días de edad se les administraban por vía intraperitoneal  $10\ \mu\text{Ci}$  de  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico, diluidos en 50  $\mu\text{L}$  de aceite de pescado (pobre en ácido linoleico). Después de 2 y 6 horas, los animales (6 en cada grupo) fueron sacrificados por decapitación, y luego de obtener los hígados y TAM, se extrajeron los lípidos totales como se describió anteriormente. Para separar el ácido  $1\text{-}^{14}\text{C}$  linoleico de sus productos desaturados, primero se obtenían los metil-ésteres de los ácidos grasos, como también se explicó, y luego éstos se separaban sobre placas de sílica gel G-60 impregnadas en nitrato de plata al 10%. Como solvente se empleó una mezcla de hexano: dietiléter en proporción 85:15 (v/v). Para visualizar el ácido linoleico y sus productos, la placa se rociaba con 2' 7' dibromofluoresceína al 1% en etanol, y las manchas se visualizaban bajo luz UV. La identificación se realizó mediante el empleo de estándares. Las zonas identificadas se raspaban y se colocaban en viales que contenían 10 mL de una solución de PPO / POPOP en tolueno, y la radioactividad se midió en un contador 1219 Rack Beta LKB (Suecia).

### Análisis estadístico

Se emplearon las pruebas de ANOVA de una vía, prueba de Tuckey y t de Student.

**RESULTADOS**

En la Tabla 1, se presentan el peso del TAM de las ratas durante los primeros 20 días de la vida postnatal. En la primera semana el TAM representaba cerca del 1% del peso corporal y hacia el final del estudio un 0,5%. A simple vista se pudo observar que hasta el día doce, el TAM de las ratas era de color oscuro y muy bien delimitado, después se tornaba pálido y los límites se hacían difusos. La concentración de triglicéridos antes del inicio de la lactancia fue escasa (1.5 mg/g de peso húmedo), pero después comenzó una rápida acumulación de éstos, a los 12 días de edad la concentración ya sobrepasaba los 100 mg/g de peso húmedo. En la Tabla 2 se presenta la distribución porcentual de AG en los TG del TAM. Se puede apreciar que desde el nacimiento hasta los 6 días de edad, las proporciones de ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) fueron similares. A los 6 días de edad, los AGPI-CL representaban más del 21% del total de ácidos grasos, los más abundantes fueron el 20:3n-6 y el 20:4 n-6 (9.36 y 6.14 % respectivamente), y en menor proporción el 22:5n-3 (2,16%) y el 22:6n-3 (1,99%). Después de este período, la composición cambió significativamente, el porcentaje de AGS aumentó por encima del 45% y ocurrió un descenso en los AGPI, debido principalmente a la disminución del C20:3 n-6 y C20:4 n-6 (p<0.05) (porcentajes menores al 2%). La Tabla 3 muestra la composición de AG en los fosfolípidos del TAM; el porcentaje de AGS fue más o menos constante, alrededor del 33%, y sólo estaban presentes el C16:0 y el C18:0, este último fue el más abundante después del inicio de la lactancia. El porcentaje de los AGMI descendió considerablemente después del primer día, de 20% a 10% aproximadamente (p<0.05), lo que fue contrarrestado por un aumento de los AGPI n-6, principalmente del C20:3 n-6 y C20:4 n-6 (p<0.05). También se observó una disminución significativa del C22:6 n-3, después de la primera semana.

**TABLA 1**

Pesos: corporal, del tejido adiposo marrón (TAM) y del hígado; y concentración de triglicéridos en el tejido adiposo marrón de ratas lactantes

Edad (días)	Peso corporal (g)	TAM (g)	Hígado (g)	TG-TA mg/g peso húmedo
1	7.4 ± 0.5	0.08 ± 0.01	0.17 ± 0.03	1.5 ± 0.3
6	11.0 ± 1.0	0.08 ± 0.03	0.23 ± 0.03	40 ± 9.0
12	24.6 ± 0.7	0.11 ± 0.05	0.68 ± 0.05	118 ± 11
20	30.0 ± 1.5	0.19 ± 0.03	0.83 ± 0.13	114 ± 16

Cada punto representa el promedio ± DS de 6-8 ratas.

**TABLA 2**

Porcentaje de ácidos grasos en los triglicéridos totales del tejido adiposo marrón de ratas lactantes

% Ácido graso	Edad			
	1 Día	6 Días	12 Días	20 Días
10:0	0.88 ± 0.11	tr	tr	0.95 ± 0.30
12:0	0.62 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.11 <sup>a</sup>	5.50 ± 0.33 <sup>b</sup>	6.21 ± 0.50 <sup>b</sup>
14:0	2.04 ± 0.13 <sup>a</sup>	3.27 ± 0.37 <sup>a</sup>	8.95 ± 0.37 <sup>b</sup>	8.02 ± 0.13 <sup>b</sup>
16:0	16.53 ± 1.10 <sup>a</sup>	18.43 ± 0.51 <sup>a</sup>	23.70 ± 0.71 <sup>b</sup>	21.54 ± 0.26 <sup>b</sup>
18:0	5.83 ± 0.28	7.91 ± 0.44	4.56 ± 0.19	6.17 ± 0.11
ÓAGS	25.43 ± 3.62 <sup>a</sup>	30.28 ± 1.31 <sup>a</sup>	44.49 ± 1.35 <sup>b</sup>	42.89 ± 1.20 <sup>b</sup>
16:1	3.79 ± 0.60 <sup>a</sup>	2.18 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.70 ± 0.13	1.89 ± 0.03
18:1	20.66 ± 1.88 <sup>a</sup>	18.62 ± 0.31 <sup>a</sup>	24.91 ± 1.28 <sup>b</sup>	25.11 ± 0.54 <sup>b</sup>
ÓAGMI	24.4 ± 3.73 <sup>a</sup>	21.16 ± 1.08 <sup>a</sup>	28.05 ± 0.88 <sup>b</sup>	26.99 ± 1.05
18:2	13.61 ± 1.27	21.82 ± 0.48	18.48 ± 0.56	19.98 ± 0.27
18:3n-6	2.88 ± 0.67	0.97 ± 0.04	0.48 ± 0.03	0.40 ± 0.03
18:3n-3	2.31 ± 0.16	tr	0.38 ± 0.06	0.76 ± 0.07
20:3n-6	5.26 ± 1.24 <sup>a</sup>	9.36 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.10 <sup>b</sup>
20:4n-6	4.17 ± 0.27 <sup>a</sup>	6.14 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.67 ± 0.20 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.06 <sup>b</sup>
22:4n-6	1.26 ± 0.27 <sup>a</sup>	2.31 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.40 ± 0.02 <sup>b</sup>
TR31'	1.09 ± 0.33	tr	tr	0.18 ± 0.01
22:5n-3	1.48 ± 0.29 <sup>a</sup>	2.16 ± 0.36 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.95 ± 0.02 <sup>b</sup>
22:6n-3	1.91 ± 0.28 <sup>a</sup>	1.99 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.14 ± 0.19 <sup>b</sup>	1.37 ± 0.08 <sup>b</sup>
ÓAGPI	34.77 ± 4.57 <sup>a</sup>	42.31 ± 2.16 <sup>a</sup>	23.92 ± 0.94 <sup>b</sup>	26.65 ± 1.08 <sup>b</sup>
ÓAGPI-CL	14.27 ± 1.47 <sup>a</sup>	17.66 ± 2.65 <sup>a</sup>	4.31 ± 0.36 <sup>b</sup>	4.52 ± 0.22 <sup>b</sup>

Cada valor representa el promedio ± error estándar, n = 5 para cada grupo; Los valores con letras distintas son estadísticamente significativas (P< 0.05); TR31' representa un ácido graso no identificado cuyo tiempo de retención fue de 31 minutos; tr = traza < 0.1%; AGPI-CL: ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

**TABLA 3**

Composición porcentual de ácidos grasos en los fosfolípidos totales del tejido adiposo marrón de ratas lactantes

% de AG	Edad			
	1 día	6 días	12 días	20 días
16:0	18.20 ± 0.33 <sup>a</sup>	13.97 ± 0.75 <sup>b</sup>	14.31 ± 0.10 <sup>b</sup>	12.09 ± 0.64 <sup>b</sup>
18:0	13.98 ± 0.17 <sup>a</sup>	19.18 ± 1.06 <sup>b</sup>	20.07 ± 0.30 <sup>b</sup>	20.62 ± 0.59 <sup>b</sup>
ÓAGS	32.18 ± 0.46	33.16 ± 1.81	34.38 ± 0.02	32.72 ± 0.08
16:1	2.76 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.03 ± 0.21 <sup>b</sup>	tr	0.79 ± 0.09 <sup>b</sup>
18:1	17.54 ± 0.41 <sup>a</sup>	9.58 ± 0.50 <sup>b</sup>	9.81 ± 0.35 <sup>b</sup>	11.52 ± 0.48 <sup>b</sup>
ÓAGMI	20.34 ± 0.75 <sup>a</sup>	10.26 ± 0.45 <sup>b</sup>	10.16 ± 0.29 <sup>b</sup>	12.32 ± 0.51 <sup>b</sup>
18:2	10.99 ± 0.22 <sup>a</sup>	10.97 ± 0.55 <sup>a</sup>	13.64 ± 0.21 <sup>a</sup>	19.49 ± 0.42 <sup>b</sup>
18:3n-6	0.45 ± 0.17	1.43 ± 0.03	tr	tr
18:3n-3	0.27 ± 0.02	tr	tr	tr
20:3n-6	2.59 ± 0.30 <sup>a</sup>	6.90 ± 1.02 <sup>b</sup>	6.39 ± 1.14 <sup>b</sup>	5.31 ± 1.55 <sup>b</sup>
20:4n-6	16.30 ± 0.51 <sup>a</sup>	20.17 ± 0.61 <sup>b</sup>	22.13 ± 0.50 <sup>b</sup>	19.05 ± 0.51 <sup>b</sup>
22:4n-6	1.20 ± 0.04	tr	1.37 ± 0.08	tr
TR31'	1.10 ± 0.04	1.27 ± 0.17	0.59 ± 0.07	tr
22:5n-3	0.93 ± 0.03	1.86 ± 0.31	1.67 ± 0.11	1.75 ± 0.20
22:6n-3	8.45 ± 0.30 <sup>a</sup>	5.48 ± 0.20 <sup>b</sup>	4.69 ± 0.44 <sup>b</sup>	5.71 ± 0.18 <sup>b</sup>
ÓAGPI	42.21 ± 0.34	47.65 ± 1.96	46.85 ± 3.61	45.31 ± 5.38
ÓAGPI-CL	28.88 ± 1.00 <sup>a</sup>	35.52 ± 1.76 <sup>b</sup>	35.78 ± 1.4 <sup>b</sup>	32.60 ± 1.27 <sup>b</sup>

Los valores representan el promedio de al menos 5 determinaciones ± ESM. Las diferencias significativas se representan con distintos superíndices (P< 0.05). TR31' representa un ácido graso no identificado cuyo tiempo de retención fue de 31 minutos; tr = traza < 0.1 %; AGPI-CL: ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

La Tabla 4 muestra los resultados de la incorporación de  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico y los productos desaturados de éste, en el hígado y en el TAM de las ratas de 6 días de edad. Se aprecia que la incorporación de  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico en el hígado fue aproximadamente 10 veces mayor que en el TAM, sin embargo la relación en d.p.m entre los productos desaturados de  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico /  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico (PD/AL) fue más alta en el TAM que en el hígado, tanto a las 2 horas como a las 6 horas después de la inyección intraperitoneal.

**TABLA 4**  
Incorporación de [ $1\text{-}^{14}\text{C}$ ] ácido linoleico y sus productos desaturados en el tejido adiposo marrón e hígado de ratas de seis días de edad

	TAM			Hígado		
	AL(dpm)	PD (dpm)	PD/AL	AL (dpm)	PD (dpm)	PD/AL
2 horas	4658 ± 1362	2.272 ± 892	0.48	22.236 ± 13.900	2183 ± 788	0.10
6 horas	2682 ± 701	1616 ± 474	0.60	8.863 ± 3883	1669 ± 311	0.18

AL: ácido linoleico; PD: productos desaturados del ácidolinoleico; PD/AL relación entre productos desaturados del ácido linoleico y ácido linoleico.

La radioactividad se expresa como dpm/g de peso húmedo.

Los valores representan el promedio ± DS de seis determinaciones independientes.

## DISCUSION

La baja concentración de TG en el TAM ( $1.5 \pm 0.3$  mg/g peso húmedo), observada en las ratas de 1 día de edad, indica que este tejido no puede representar un reservorio importante de ácidos grasos durante el desarrollo prenatal. Sin embargo, después del nacimiento, la rápida acumulación de TG que se inició con la lactancia, así como la alta proporción de AGPI-CL que se observó a los 6 días de edad (40 mg de TG/g de peso húmedo y aproximadamente 23% de AGPI-CL) indican que durante la primera semana el TAM acumuló una considerable cantidad de AGPI-CL, especialmente de la familia n-6 y en menor grado de la n-3, y aunque después de este período la proporción de todos los AGPI-CL disminuyó a un 5%, se puede estimar que la cantidad total almacenada fue siempre elevada, ya que la concentración de TG casi se triplicó entre los días 6 y 12 de edad y en adelante permaneció alta (más de 100 mg de TG/g de peso húmedo; Tabla 1). Se puede considerar entonces que el TAM en las ratas recién nacidas, además de cumplir con su función termogénica, podría funcionar como un importante depósito de AGPI-CL, los cuales podrían ser suministrados a los órganos y tejidos que se están desarrollando rápidamente en ese período, especialmente al cerebro por presentar la mayor tasa de crecimiento y por el alto requerimiento que tiene de C20:4n-6 y C22:6n-3. Este planteamiento se fundamenta también, en observaciones realizadas por otros investigadores, por ejemplo: El TAM exporta diversas sustancias, entre estas ácidos grasos (22). La

exportación de ácidos grasos puede ser significativa en el TAM, ya que su actividad lipolítica supera la capacidad oxidativa de ácidos grasos (15,16). Además, estudios *in vitro* han demostrado que el grado de movilización de los ácidos grasos C20:5 n-3; C20:4n-6; C20:3n-6 y C22:6n-3 es más alta que la observada para C16:0 y C18:2n-6, a pesar de que éstos son más abundantes que los primeros (23).

Nuestro planteamiento es similar al propuesto por Speake y colaboradores (23), quienes observaron que en el tejido adiposo de embriones de pollo ocurría una acumulación de AGPI-CL, y que la concentración de éstos disminuía durante el crecimiento de los tejidos neurales. En base a estos resultados, propusieron que el tejido adiposo de los embriones de pollo posiblemente funcionan como un intermediario en la transferencia de los AGPI-CL desde la yema hacia los tejidos neurales.

Por otra parte, Lefkowitz y col. (9) hacen una observación importante sobre la posible presencia de depósitos de AGPI-CL durante el período de rápido crecimiento del cerebro en la vida postnatal de la rata. Ellos suministraron d5-C18:3 n-3, como única fuente de

AGPI n-3, a un grupo de ratas desde los 7 hasta los 28 días de edad. Al examinar la composición de AG del cerebro al final del período experimental, encontraron que el 40% de C22:6 n-3 acumulado estaba sin marcar con deuterio, es decir, que durante la primera semana de nacidas, las ratas habían almacenado una cantidad importante de C22:6 n-3. En este sentido, nuestros resultados evidencian que los TG del TAM representan un depósito cuantitativamente importante de AGPI-CL, especialmente de C20:4n-6, de su precursor C20:3 n-6 y, en menor proporción de C22:5 n-3 y C22:6 n-3.

En los FL también se observó un enriquecimiento de AGPI-CL n-6 con el inicio de la lactancia (en un 10% o más) y, en adelante la composición de éstos no cambió significativamente. Es decir, en los FL a diferencia de Los TG no se apreció un cambio acentuado en la composición de AG después de la primera semana de edad, probablemente por la función estructural y funcional que cumplen estos lípidos. Sin embargo, no se descarta que durante el proceso normal de involución del TAM, que ocurre durante el crecimiento de los mamíferos, la degradación de los FL de las membranas mitocondriales, muy abundantes en el tejido activo (10), pueda aportar al plasma cantidades importantes de AGPI-CL.

Por otra parte, la presencia de productos desaturados del  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico, tanto en el hígado como en el TAM, a las 2 y 6 horas después de la inyección intraperitoneal de  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico, indican que en algún grado ocurrió síntesis de AGPI-CL en las ratas de 6 días de edad (edad en la cual se observó la mayor concentración de AGPI-CL en TG). Aunque la incorporación total de  $1\text{-}^{14}\text{C}$  ácido linoleico fue mayor en el hígado que en el TAM, es significativo resaltar

que la relación en d.p.m. entre “los productos desaturados del 1-<sup>14</sup>C ácido linoleico / 1-<sup>14</sup>C ácido linoleico” (PD/AL) fue aproximadamente cuatro veces mayor en el TAM que en el hígado (Tabla 4). Estos resultados, aunque muy preliminares, podría indicar que en el TAM se sintetizan AGPI-CL con mayor eficiencia que en el hígado.

En conclusión, nuestros resultados revelan que el TAM es un depósito cuantitativamente importante de AGPI-CL durante los primeros días de la vida postnatal de la rata. Es probable que estos ácidos grasos provengan principalmente de la leche materna y, en alguna extensión de la síntesis endógena. Tomando en conjunto, nuestros resultados y los de otros investigadores (9,15,16,22,23), nosotros proponemos que el TAM tiene un alto potencial para contribuir con el mantenimiento de la alta concentración de AGPI-CL encontrada en el plasma de ratas recién nacidas (24), durante el período de máximo crecimiento postnatal del cerebro.

#### REFERENCIAS

- Crawford MA. The accumulation of arachidonate and docosahexaenoate in the developing rat brain. *J Neurochem.* 1972;19:1753-1758.
- Crawford MA, Hassam AG, Williams G, Whitehouse WL. Essential fatty acids and fetal brain growth. *Lancet.* 1976; 28: 452-453.
- Crawford MA, Golfetto I, Ghebremeskel K, Min Y, Moodley T, Poston L, Phylactos A, Cunnane S, Schmidt W. *Lipids.* 2003;38:303-315.
- Naughton JM. Supply of polyenoic fatty acids to the mammalian brain: the case of conversion of the short-chain essential fatty acids to their longer chain polyunsaturated metabolites in liver, brain, placenta and blood. *Int J Biochem.* 1981; 13: 21-32.
- Sinclair AJ. Fatty acid composition of liver lipids during development of rat. *Lipids* 1974; 9: 809-818.
- Szitanyi P, Koletzko B, Mydlilova A, Demmelmair H. Metabolism of 13 C- labeled linoleic acid in newborn infants during the first week of life. *Pediatr Res.* 1999; 45: 669-673.
- Cook HW. *In vitro* formation of polyunsaturated fatty acids by desaturation in rat brain: some properties of the enzymes in developing brain and comparisons with liver. *J Neurochem.* 1978; 30: 1327-1334.
- Azavache V, Cuevas C, Bosch V. Participación del hígado en el suministro de ácidos grasos esenciales poliinsaturados de cadena larga durante el desarrollo postnatal del cerebro de rata. *Arch Latinoamer Nutr.* 1998;148:216-220.
- Lefkowitz W, Lim SY, Lin Y, Salem N Jr. Where does the developing brain obtain its docosahexaenoic acid? Relative contributions of dietary alpha linolenic acid, docosahexaenoic acid and body stores in the developing rat. *Pediatr Res.* 2005; 57 (1): 157-165.
- Cannon B, Nedergard J. Brown adipose tissue thermogenesis in neonatal and cold-adapted animals. *Biochem Soc Trans.* 1986;14: 233-236.
- Jankovic BD. Brown adipose tissue. *Ann N.Y. Acad Sci.* 1987; 496: 3-26.
- Nedergard J, Lindberg O. The brown fat cell. *Inter Rev Cytol.* 1982;74: 187-286.
- Dessolin S, Schalling M, Champigny O, Lonnqvist F, Ailhaud G, Dani C, Ricquier D. Leptin gene is expressed in rat brown adipose tissue at birth. *FASEB J.* 1997;11:382-387.
- Hahn P. Lipid synthesis in various organs of the rat during postnatal development. *Biol Neonate* 1986; 50: 205-213.
- Nicolls DG, Locke R. Thermogenic Mechanisms in Brown Fat. *Physiol Rev.* 1984; 64:1-64.
- Hardman MJ, Hull D. Fat metabolism in brown adipose tissue *in vivo.* *J Physiol.* 1970; 206:263-273.
- Moura MAF, Kawashita NH, Brito SMRC, Brito MN, Kettelhut IC, Migliorini RH. Effect of cold acclimation on brown adipose tissue fatty acid synthesis in rats adapted to a high protein, carbohydrate-free diet. *Metabolism.* 2001;50:1493-1498.
- Folch J, Lees M, Sloane SH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957;226:497-509.
- Carr TP, Andresen, CJ Rudel LL. Enzymatic determination of triglyceride, free cholesterol and total cholesterol in tissue lipid extracts. *Clin Biochem.* 1993;26:39-42.
- Mangold HK. Aliphatic Lipids. En Sthal E. editor. *Thin-Layer Chromatography.* 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1966. p. 363- 421.
- Chalvardjian AM. Fatty acids of brown and yellow fat in rats. *Biochem J.* 1964; 90:518-521.
- Jansky L. Contribution of striated muscles to regulatory heat production. *Experientia* 1977;33:123-1124.
- Speake BK, Cerolini S, Maldjian A, Nobel RC. The preferential mobilisation of C20 and C22 polyunsaturated fatty acids from the adipose tissue of chick embryo: potential implications regarding the provision of essential fatty acids for neural development. *Biochem Biophys Acta* 1997;1345:317-326.
- Nouvelot A, Delbart C, Bourre JM. Hepatic metabolism of dietary alpha linolenic acid in suckling rats, and its possible importance in polyunsaturated fatty acid uptake by the brain. *Ann Nutr Metab.* 1986;30:316-323.

Recibido: 28-03-2006

Aceptado:16-10-2006

## Food insecurity and household food supplies in rural Ecuador

*Michelle Hackett, Ana Claudia Zubieta, Katty Hernandez, Hugo Melgar-Quiñonez,*

Department of Human Nutrition, The Ohio State University, Fundación Heifer Ecuador, Quito, Ecuador

**SUMMARY.** The objective of this research is to assess the validity of a modified US Household Food Security Survey Module (HFSSM) through its correlation with food supply and demographic factors, and its fitness using Rasch model analysis in rural Ecuador. This study examines the relationship between household food insecurity and household food supplies in 52 Ecuadorian households. The sample was drawn from four rural communities participating in the project PLAN in Cantón Quijos. Questionnaires included a modified HFSSM, a household food shelf-inventory and demographic characteristics. Multiple ANOVA analysis resulted in statistically significant inverse relationships between household food insecurity and total food supply, as well as the supply of meat, vegetables, legumes, oils, and other food products ( $p=0.05$ ). Rasch model measure values on the HFSSM illustrated food insecurity at different levels of severity. The majority of the items (>75%) presented adequate infit values. This study affirms that the proposed modified HFSSM may be useful to measure food insecurity and thus be used as a tool to monitor and evaluate programs aimed at improving quantity and variety of food items in rural Ecuador.

**Key words:** Food security, food supply, Rasch model, Ecuador.

**RESUMEN. Inseguridad alimentaria y suministro de alimentos en hogares rurales de Ecuador.** El objetivo de esta investigación es evaluar la validez de una escala doméstica de seguridad alimentaria modificada (HFSSM – en inglés: *Household Food Security Survey Module*) por medio de su correlación con el suministro de alimentos y características demográficas, así como su ajuste al modelo de Rasch en un área rural de Ecuador. En este estudio examinamos la relación entre la inseguridad alimentaria doméstica y el suministro de alimentos del hogar en 52 familias ecuatorianas. La muestra fue sacada de cuatro comunidades rurales participantes en el proyecto PLAN en el Cantón Quijos. Los cuestionarios aplicados incluyeron la HFSSM modificada, un inventario de despensa del hogar y características sociodemográficas. El análisis estadístico usando un modelo de ANOVA múltiple, mostró resultados inversamente significativos en la relación entre el nivel de seguridad alimentaria doméstica y el número total de alimentos disponibles, así como respecto a el suministro de carnes, verduras, legumbres, grasas y otros alimentos ( $p=0.05$ ). Los valores de medida (*measure values*) de los insumos en la HFSSM usando el modelo Rasch muestran que la inseguridad alimentaria se presenta a diferentes niveles de severidad. La mayoría de las preguntas (>75%) presentaron valores de infit apropiados. Este estudio confirma que la HFSSM modificada puede ser útil para medir la inseguridad alimentaria y por eso puede ser usada como una herramienta para monitorear y evaluar programas enfocados en mejorar la cantidad y variedad de alimentos en el área rural de Ecuador.

**Palabras clave:** Seguridad alimentaria, suministro de alimentos, modelo Rasch, Ecuador.

### INTRODUCTION

The conceptualization of food security incorporates “access by all people, at all times, to enough food for an active, healthy life (1, 2).” Food insecurity is a problem that affected over 800 million people worldwide in 2005, especially in rural areas in developing countries (3). However, these data do not take into account the large number of individuals suffering from “hidden hunger”, which is characterized by vitamin and mineral deficiencies affecting over one third of children in some of the poorest regions (3, 4).

As a result of international collaboration efforts at the end of World War II, the 1948 Universal Declaration of Human Rights was adopted. Among other basic human rights, this document states that “everyone has the right to a standard of living adequate for the health and well-being of himself and of his family, including food...” (5) In 1996, representatives

from nearly all countries met at the World Food Summit in Rome, Italy reaffirming that the access to adequate, safe and nutritious food is an inherent human right throughout the world (6). At that meeting, the goal was established to cut the number of hungry individuals in half by the year 2015, but as opposed to a decrease, some regions have experienced lagging or worsening in the prevalence in hunger (3).

Several development organizations and government agencies are involved in hunger reduction efforts, where valid and inexpensive household food insecurity indicators are critical to monitor and evaluate the impact of the programs (7). The lack of adequate program monitoring and evaluation is one of the main limitations in evaluating numerous nutrition interventions in developing countries (8). Without the ability to determine the short-term and long-term effects of these programs, humanitarian agencies have limited ability to influence policy makers.

Because the most commonly used indicators to measure access to food are expensive and technically very difficult to manage, programmers need household food insecurity measurements that are simple to apply, low-cost, easy to evaluate and closely approximate the actual level of food insecurity in the home (9). The measurement of household food insecurity is critical in addressing the problem because it allows for the estimation of prevalence and better targeting of high risk population groups (8). Therefore, accurate information provided by these measurements permits the development of programs that work effectively to decrease the depth and breadth of food insecurity.

The construction of food security surveys must be well-grounded and based on in-depth studies. The results from the surveys need to coincide with empirical data and maintain consistency in response patterns, while giving an unbiased assessment (10). Precision and dependability in what is being measured must be reflective of what is actually occurring in the home. The Rasch model is a test which affirms this by investigating the unidimensionality and fitness of psychometric questionnaires (11). Criterion validity is measured by in-depth analysis comparing results against other variables such as social, economic and demographic factors already known to be related to food insecurity. These include income, employment, education and the use of food programs (10). For the last 15 years, questionnaire-based measures of hunger and food insecurity have been developed and validated according to specific parameters. In order to meet the needs of programmers, the United States Department of Agriculture (USDA) developed the HFSSM that takes into consideration the overall hunger experience and categorizes this phenomenon by its severity level (12). Current research in the United States has confirmed the validity of the HFSSM as an inexpensive, easy to use and analyze method for measuring household food insecurity (10, 13-18). With some exceptions, similar or modified HFSSM tools have not been tested consistently or exhaustively for validity outside of the US, but studies have never been done in to validate the HFSSM in rural Ecuador with individuals participating in a grassroots program (19-26).

## MATERIALS AND METHODS

As a part of a larger study, PLAN (Planificación Local de la Agricultura y la Naturaleza- Community Planning for Sustainable Livestock-based Forested Ecosystems) researchers assessed household food insecurity in four rural Ecuadorian communities located in Canton, Quijos, Province of Napo. Convenience sampling was done to include all 54 households participating in PLAN located about 80 miles east of Quito, Ecuador's capital city. Demographic data regarding migration patterns, mothers' education, physical characteristics of the house, government aid, and community location were gathered.

Household food supply at the time of the interview was estimated using an adapted Household Shelf Food Inventory Questionnaire used in previous studies in other Latin American countries (Appendix A, B) (20). The HFSSM, which consists of 15 statements plus three follow-up questions on frequency-of-occurrence, was translated into Spanish and then modified using focus groups for acceptability in the region (17, 18). For the purposes of this study, we excluded the three frequency-of-occurrence questions. The surveys were conducted by trained local interviewers.

Validity is a critical component in the evaluation of a survey and there are many different methods used to determine this characteristic of the tool. Criterion validity consists of the comparison of the survey tool to a gold standard previously determined to measure the phenomenon in question. In this study, criterion validity was established by comparing the modified HFSSM to household food stores at time of the interview. Fitness of the tool as well as severity level of the questions, were determined using Rasch model analysis.

### Household food security status

To analyze the household food security data, each positive response was coded "1", whereas all negative responses were coded "0". A Food Security Score (FSS) was created from the sum of the positive responses to the items included in the HFSSM ranging from 0 to 15; the higher the FSS, the more food insecure the household. Originally the sample included 54 households, and two of them responded negatively to all of the questions, having therefore a FSS of zero. These two "fully" food secure families were removed from the subsequent analysis and the remaining families were divided into two categories of food insecurity status based on the number of positive answers (n=52). The following categorization is based on the difference in content of the questions, since initial HFSSM items relate to qualitative aspects of the available food, and more severe statements refer to quantitative decrease: 15-items HFSSM [Food insecure without hunger (FSS= 1-6), Food insecure with hunger (FSS = 7)].

In addition, based on research conducted in the US to generate a children's food security scale, food insecurity status was categorized separating the adult related questions in the HFSSM from the children related questions (27). This process resulted in two sub-modules: Adult Food Security Survey Sub-Module (AFSSM - 8 questions) and Children Food Security Survey Sub-Module (CFSSM - 7 questions). Only those households with children were included in the analysis of the CFSSM (n=41). These sub-modules were categorized as follows: AFSSM [Food insecure without hunger (FSS = 1-3); Food insecure with hunger (FSS = 4)]; CFSSM [Food insecure without hunger (FSS= 1-3); Food insecure with hunger (FSS = 4)].

### Rasch model

Applying the one parameter logistic Rasch Model to the HFSSM dichotomous data provides a mathematical framework to data (28). The more food secure the individuals, the more likely they will respond negatively to easier questions. Food quality questions (questions 1 to 6) are more likely to be answered affirmatively than hunger questions (questions 7 to 15).

In the Rasch model, the “measure values” demonstrate the relative severity of each of the questions in correspondence to the actual food insecurity status of the interviewees (21). This means that a household with a relatively low food insecurity level (mildly food insecure) will have more ‘difficulty’ answering positively to the more severe questions than a household with higher food insecurity level (severely food insecure). Each item difficulty (household food insecurity severity level) and persons “ability” is estimated on a logit scale with has a degree of error associated with each of the estimates. Consequently, the ideal “measure value” would be a continuous positively ascending line showing that the questions increased in difficulty throughout the survey tool.

Item performance deviations such as infit values can be assessed to determine variation from expected fit to the Rasch Model. The infit values in the Rasch model, based on the comparison between observed and expected responses, are derived from a chi-squared test that gives more weight to unexpected answers closer to the actual household food insecurity status (29). The expected mean of the infit is one with a possible range from zero to positive infinity. Infit values higher than one signify a fit to the model with more variation than expected (29). Values below one signify a better than expected fit or less variation than the model predicts in the observed response pattern (29). The acceptable range of infit values is 0.7 to 1.3 for samples less than five hundred (29). Taking into account the small sample size in this study, and based on ranges used by other authors, a wider range to evaluate misfit was applied to these data (0.6 – 1.4) (30).

### Statistical analysis

Analysis was conducted using STATA for Windows, version 8.2 (StataCorp, College Station, Texas, USA). In order to determine criterion validity of the HFSSM, AFSSM, and CFSSM, food insecurity was initially correlated, in a bivariate mode, to the number of total food items and the total number of items in each of the following food groups: dairy, cereals, snacks, vegetables, fruit, legumes, beverages, oils, meats, animal products (including dairy, meat and eggs), condiments, and processed products (including processed beverages). Those groups with significant p-values ( $p = 0.05$ ) in the bivariate analysis were then analyzed using multiple ANOVA models controlling for demographic characteristics of the household significantly associated with food insecurity (chi-squared test  $p$ -value = 0,05): mothers’ educational level,

household size, community, food purchase patterns, age of interviewee, production and consumption of milk.

To perform Rasch Model analysis the software Winsteps 3.6 (Winsteps, Chicago, IL) was used. The Rasch Model was used to determine the fitness of the HFSSM (28) by application to all three scales: HFSSM, AFSSM, and CFSSM.

## RESULTS

### Demographics

There were 31 (59.6%) households experiencing food insecurity without hunger at the time of this interview, and 21 (40.4%) were in a situation of food insecurity with hunger. Descriptive statistics on the characteristics of the sampled households are presented in Table 1. Households were located in four neighboring communities with 94% interviewees being female head of household. Most of the participants had a middle school level of education and the majority could read and write (88.7%). The analysis of demographics uncovered correlations between food insecurity levels and characteristics of the mothers. Mothers’ educational level correlated negatively with household food insecurity level for all households and households without children ( $p < 0.01$ ). As the number of years of school attendance increased the severity of food insecurity decreased. In addition, mothers’ age correlated positively with food insecurity as measured by the AFSSM ( $p < 0.05$ ). As the mothers’ age increased the severity of food insecurity increased. There were no statistically significant correlations between food insecurity status and household size, government assistance, house construction material, source of water supply, food cultivation, animal husbandry or milk production.

### HFSSM

The percentage of affirmative responses to the HFSSM showed a decreasing trend as the severity of the question increased. In addition, there was a large decrease from 68.5% to 28.4% in the percentage of affirmative responses between ‘no eating correct food’ and ‘adults skipped meals,’ effectively dividing the questions into two groups (questions 1 through 6, and 7 through 15). This fits with the classification proposed earlier of two food insecurity categories divided according to decreased quality or quantity.

### Food supply

Using all three food insecurity modules, HFSSM, AFSSM, and CFSSM, a statistically significant difference was found in the mean number of total food items between the food insecure households with and without hunger. Statistically significant differences in the number of food supplies between food insecure with hunger and without hunger were found using the HFSSM for the following food groups: meat,

vegetables, legumes, oils, processed products, beverages, snacks, and condiments (Table 2).

TABLE 1  
Characteristics of the households (n= 54)

Characteristic	
Community <sup>2</sup>	
One	20.4 (11)
Two	7.4 (4)
Three	37.0 (20)
Four	35.2 (19)
Age <sup>1</sup>	45.4 (15.7)
Education <sup>1</sup>	6.3 (3.8)
Attended school <sup>2</sup>	87.0 (47)
Household size <sup>1</sup>	5.5 (2.3)
Total Foods <sup>1</sup>	55.9 (22.6)
Food Security Score (FSS) <sup>1</sup>	6.5 (3.7)
Food Security Level <sup>2</sup>	
Food Insecure without Hunger	59.6 (31)
Food Insecure with Hunger	40.4 (21)
Receive government aide <sup>2</sup>	59.3 (32)
Earthen floor <sup>2</sup>	7.4 (4)
House Wall Materials <sup>2</sup>	
Adobe	17.0 (9)
Wood	83.0 (44)
Water Sources <sup>2</sup>	
Indoor plumbing	13.0 (7)
Water from stream	18.5 (10)
Water from public water tank	66.7 (36)
Other	1.9 (1)
Gardens <sup>2</sup>	
Vegetables	59.3 (32)
Fruit trees	46.3 (25)
Corn	61.1 (33)
Beans	61.1 (33)
Animals <sup>2</sup>	
Chicken	92.6 (50)
Cow	88.9 (48)
Hog	81.5 (44)
Duck	46.3 (25)
Milk production <sup>2</sup>	22.8 (15)
	90.9 (40)

<sup>1</sup> Mean (Standard Deviation), <sup>2</sup> % (n)

TABLE 2  
Number of food items by food insecurity status (n=52) <sup>1,2</sup>

Food Group <sup>3</sup>	Food Insecurity Status (FI)		p-value
	FI without Hunger <sup>4</sup>	FI with Hunger <sup>5</sup>	
All Foods	63.71	39.17	0.003
Vegetables	11.29	6.72	0.001
Oils	2.79	2.11	0.003
Processed Products	5.44	2.5	0.01
Snacks	1.21	0.17	0.01
Beverages	4.62	2.94	0.02
Meat	2.97	1.56	0.03
Legumes	2.82	1.83	0.04
Condiments	5.09	3.72	0.06
Cereals	7.88	6	0.25
Fruit	7.21	4.83	0.25
Dairy	1.68	0.89	0.34

<sup>1</sup> Mean number of food items by food group.

<sup>2</sup> Multivariate ANOVA analysis of food items by household food insecurity status, adjusting for mothers education level, mothers age, number of individuals in home, purchase patterns, production of milk, and community.

<sup>3</sup> Dairy products: powdered milk, pasteurized milk, fresh cow milk, goat milk, cream, nata, yogurt, and cheese. Cereal products: cornflakes, wheat, oats, barley, roasted corn, tapioca, quinoa, corn, bread, sweet bread, corn tortillas, corn flour, wheat flour, tortilla, tamales, noodles, rice, mote, pinol, milled corn, canguil, and barley flour. Vegetables: avocado, cauliflower, carrots, corn, gherkin pickles, papanabos, onions, garlic, broad beans, chilis, potatoes, sweet potatoes, sweet pumpkins, beets, cabbage, tomatoes, peppers, radishes, yucca, green leafy vegetables, tree tomatoes, red onions, celery, bell peppers, and mellocos. Legumes: beans, lentils, peas, nuts, coconut, tocte, garbanzo beans, peanuts, lima bean flour, and pea flour. Fruits: apple, pear, banana, plantain, berry, prickly pear, watermelon or melon, orange, grapefruit, mandarin orange, lemon or lime, mango, papaya, pineapple, babaco or chamburs, grape, strawberry, orito, little orange, guava, grenadine, taxos, passion fruit, cherry, plantain flour, blackberry, nogale, capuli, wild grape, and claudia. Oils and fats: butter, margarine, oil, lard, and vegetable oils. Beverages: coffee, medicinal herbs, tea, soda, beer, alcohol, juice, drink mix, and chocolate drink mix. Snack foods: saltines, cookies, cakes, chips, caramels, other cookies, and gelatin. Meats: beef, pork, sausage, giblets, chicken, fish, wild animals, sardines, and tuna fish. Condiments: mayonnaise, mustard, ketchup, salt, sugar, condiments, vinegar, squares of magi, vanilla, unrefined sugar, yeast, cinnamon, anis, and achiote. Processed foods: cornflakes, sweet bread, saltines, cookies, cakes, chips, caramels, other cookies, gelatin, sardines, tuna fish, squares of magi, soda, beer, alcohol, drink mix, chocolate drink mix and coffee.

<sup>4</sup> n=31

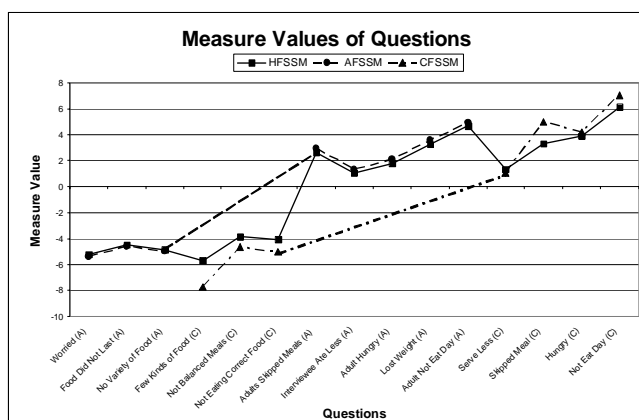
<sup>5</sup> n=21

Increased adult household food insecurity, as determined by the AFSSM, correlated with lower number of vegetables, beverages, snacks, oils, and processed products ( $p= 0.05$ ). Children food insecurity derived from the CFSSM correlated with decreased number of vegetables, legumes, fruits, and oil ( $p< 0.05$ ).

### Rasch model

As the severity of a question increases, so does the measurement value among the three food insecurity modules. For all three scales (HFSSM, AFSSM, and CFSSM) the lines followed an increasing trend in ‘measure values’, with some variations in the pattern of response (Figure 1).

FIGURE 1  
Rasch measure value of household food security (household, adult and child scales). (A) adult focused question. (C) child focused question



For the HFSSM, nearly the same value was given to the questions ‘not balanced meals served to children’ and ‘children not eating correct foods.’ Questions ‘adults skipped meals,’ ‘adult not eat whole day’ and ‘serve less to children’ did not follow the general upward trend. Within the AFSSM, ‘Adults skipped meals’ was the only question outside of the trend of increasing measurement values. The questions ‘not balanced meals served to children’ and ‘children not eating correct foods’ had nearly the same values in the CFSSM.

There was variation of the infit values for all 15-items from 0.36 to 1.55. We used a range of 0.6 to 1.4 for infit values resulting in eleven items within the acceptable parameters. The items outside of the range for the HFSSM included the following: ‘children were given few kinds of food,’ ‘adults skipped meals,’ ‘interviewee ate less’ and ‘less food was served to children.’

## DISCUSSION

The purpose of this study was to test an adapted version of the HFSSM for appropriateness in measuring household food insecurity in rural Ecuador. The overall pattern of affirmative responses to the HFSSM descended following the same patterns and empirical data in another location (29). This follows the conceptualization in the US that the HFSSM can be understood as a measure that quantifies a range of behaviors from least to most severe situations known to reflect food related stress (22). A negative association was found between the educational level of mothers and food insecurity status, consistent with results from Trinidad and Tobago (31). Criterion validity was established using correlations to household food supply and statistically significant differences were found in food supplies and household food security. Although differences in cereals and dairy products were not statistically significant, the trends followed the same direction as the others in the 15 question HFSSM (Table 2). The stronger correlations associated food groups with the 15 question HFSSM may be due to the larger total sample size ( $n=52$ ) compared to the CFSSM, which included only the 41 households with children. Even though significant correlations were not found between food insecurity and other demographic and economic variables (i.e., household size, government assistance, house construction material, source of water supply, food cultivation, animal husbandry or milk production), this could be related to the small size and the low variability in the sample. Most of the households in the area where the study took place were farmer families, whose main income source was milk production. In addition, most of the families had at least some domestic animals, they practiced some kind of agricultural food production, the construction materials used in the houses were very similar, as well as the main sources of water. The size of the households did not vary by food insecurity status, with five to six family members in average. Since most of the families in this area have a low-income status, almost two thirds received governmental assistance, which did not allow for identifying statistically significant differences among them with regards to their food insecurity status.

The Rasch Model has been used extensively to confirm the validity of the HFSSM (31, 22). Measurement values from Rasch Modeling in the complete HFSSM, were almost identical in severity for questions ‘not balanced meals served to children’ and ‘children not eating correct foods,’ suggesting the questions are addressing the same level of household food insecurity (Figure 1). Question ‘adults skipped meals’ had a higher level of severity than the following two questions suggesting that it should be moved to after the question ‘adult hungry’ because it is related to a decrease in quantity of food as opposed to the former questions. ‘Adult not eat whole day’

appears to fit better after the question 'children hungry,' which implies that in this region the children experience hunger and have decreased food available before the parents go without food for the entire day.

The AFSSM had only one point slightly outside of the expected position for 'adults skipped meals,' which confirms the idea of moving this question regarding amount of food after the two following questions regarding the quality of food. In the CFSSM, the questions 'not balanced meals served to children' and 'children not eating correct foods' were nearly the same as in the complete scale measure values once again demonstrating these questions may have the same conceptual severity for the interviewees and may be repetitive. An interesting variation found in the CFSSM was the higher severity for question 'children skipped meals' than 'children hungry' which warrants further investigation to determine which one is a coping strategy of households with more severe food insecurity. In this study we encountered no unusual behavior in the 'balanced food' question as previously reported (20, 25).

During the last five years, studies to validate the HFSSM or similar surveys have been conducted in Latin American countries: Brazil (20), Bolivia (21), Colombia (22), Mexico (23, 24), Venezuela (19, 32) and Trinidad and Tobago (25). Although different criterion variables and internal validity tests were frequently used in these studies, the results from our research in Ecuador matched their trends and confirmed the appropriateness of the HFSSM to determine food insecurity level of the household.

In Campinas, Brazil an adapted HFSSM was translated to Portuguese based on in-depth focus groups (20). Criterion validity of the tool was established using food intake and income strata based on minimum wages earned. These two variables were compared to food insecurity levels as opposed to household food supply which was used in this study in Ecuador. Food intake is more directly related to the actual nutrition level of individuals in the household but results were comparable to the interactions of food inventory and food insecurity in Ecuador. Researchers in Campinas found a dose-dependent relationship between food insecurity and income and food insecurity and food intake (20). Households at lower income strata were less food likely to be food secure. As food intake decrease, the food insecurity of the household also decreased. This study had a larger sample size (n=125), and included both rural and urban areas (20).

In a study conducted in 2003 by Freedom from Hunger in Bolivia, investigators used food expenditure as a comparison to the adapted HFSSM (21). Food expenditure per capita was found to be significantly correlated to food insecurity levels. This was particularly evident in expenditure of total foods, animal source foods, fruits and vegetables for both moderately and severely food insecure households. These results

demonstrated that the adapted HFSSM was appropriate for use in rural and urban settings in Bolivia (n=327) (21).

As with research in Ecuador, household food insecurity was compared to household food supply in Antioquia, Colombia using a regionally representative sample (n=1,624) (22). Researchers were primarily concerned with the internal validity which was established using Rasch modeling. The food insecurity score and food diversity of household food supply (total foods) showed an inverse correlation; as food insecurity increased, diversity of food decreased. The researchers asserted that an adapted HFSSM is appropriate for measuring food insecurity levels in the department of Antioquia (22).

Income strata, similar to the variable used in Brazil, and consumption were used as criterion variables in Mexico City, Mexico (23). This study demonstrated that household food insecurity was inversely correlated with household food consumption adding weight to the criterion validity of the HFSSM. Specifically, there was a decrease in fruit, fruit juices, vegetable, meats and dairy products as food insecurity increased. Food staples such as beans, eggs and tortillas were not associated with food insecurity in Mexico, whereas in Ecuador cereals, fruit, and dairy were not significantly associated. The difference in these food staples and their relation to food insecurity may be related to the nature of diets in different areas of the Latin America.

In Sierra de Manatlán, Jalisco, Mexico, researchers compared the variety of diet and food supply with levels of food insecurity (n=133). Variety of food in the diet was determined by three day food records. Researchers also found that as food insecurity increased the variety of diet decreased, as did the consumption of food (24). In this area there were a limited number of households that were food secure as was found in Ecuador, but even with the homogeneity in the population there were still differences between the food insecure groups with and without hunger.

Poor households in peri-urban Caracas, Venezuela were also used as a sampling population to test the HFSSM (n=238,155) (19, 32). Monthly income per person was positively associated with household food security (32). The less the individuals in the household earned, the more severe the mothers perceived their food insecurity. In addition, households with a greater number of children experienced higher levels of food insecurity (32). Food insecurity was also correlated with food diversity, as it was in Colombia. As food insecurity increased, the diversity of food decreased (19).

In the Caribbean islands of Trinidad and Tobago, researchers have evaluated the English version of the HFSSM for validity (n=3,858) (25). Adult and children items were divided and analyzed separately to determine calibrations using one parameter and two-parameter models to determine the fitness of the data. Researchers concluded that a one-

parameter model is generally sufficient to determine fitness of the HFSSM, as was the model used in our analysis (25). In relation to criterion validity of the HFSSM in Trinidad and Tobago, food insecurity was associated with monthly household income; as income increased, food insecurity decreased (25).

Our study in Ecuador confirmed our adapted version of the HFSSM is a viable option for determining household food insecurity in rural Ecuador. Comparisons of the HFSSM to household food inventory demonstrated the criterion validity. Rasch modeling affirmed the internal consistency of the questions in regards to severity. Additional research is needed with a larger, more heterogeneous population to confirm our findings on a larger scale.

### Limitations of study

The small convenience sample size (n=52) was a limiting factor in this study, as was the homogeneity of the households. The similarity between the households made it difficult to find a strong variation between them, whereas a heterogeneous sample would enable a more universal picture of what is occurring in Ecuadorian households. Even though the households were very similar in their socioeconomic profile, statistically significant differences between the groups with or without hunger were still found, and the trends were still consistent with studies done in the US and other countries, adding strength to the HFSSM as a valid measure of food insecurity. In this study there were not enough fully food secure households (n=2; food security score=0) to include in the bivariate and multivariate statistical analysis. Both households had a total food inventory score (84 and 63), which was above the average (55.9). The interviewees also had an education level in years that was similar to the average or higher (6 and 12).

Another limiting factor for the results of this study was that only one criterion (household food inventory) was used to correlate to the HFSSM. Other indicators closely related to food insecurity must be added in future research to confirm that other aspects of this phenomenon are taken into consideration with the HFSSM.

### Implications for research and practice

The adapted HFSSM is a suitable option as an inexpensive, simple to use tool to measure food insecurity in rural Ecuador. In the future, researchers throughout Latin America may be able to use an adapted HFSSM to measure levels of household food insecurity at local and national levels. Although there is no magic bullet to eliminate hunger and food insecurity, the HFSSM may play a role in teasing out possible causes. As the HFSSM continues to be validated in additional locations, it will be useful to target high nutrition risk groups to develop strategies for creating sustainable food systems. Another

important use for this tool will be in the evaluation of programs set up to household food insecurity to determine their effectiveness, thus the HFSSM can play a critical part in policy planning in Latin America.

### REFERENCES

1. Food a fundamental human right. Rome, Italy. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1996.
2. Anderson SA. Core indicators of nutritional state for difficult to sample populations. *J Nutr* 1990;120(1):1557S-1600S.
3. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of food security in the world 2005: eradicating world hunger- key to achieving the millennium development goals. Rome, Italy. 2005. Available at: <http://www.verticalfarm.com/pdf/FAO2005.pdf>. Accessed May 5, 2006.
4. Ruel MT. Can food-based strategies help reduce vitamin A and iron deficiencies? Washington, D.C. *International food policy research institute*. December 2001.
5. All human rights for all. Fiftieth anniversary of the universal declaration of human rights. Geneva, Switzerland. United Nations High Commissioner for Human Rights. 1998. Available at: <http://www.un.org/Overview/rights.html>. Accessed July 11, 2005.
6. Food: a fundamental human right. Vaile delle Terme di Caracalla, 00100 Rome Italy. Food and Agriculture Organization of the United States. Available at: <http://www.fao.org/> Accessed April 8, 2004.
7. Wolfe WS, Frongillo EA. Building household food security measurement tools from the ground up. *Food Nutr Bull*. 2001;22:5-12
8. Gillespie S, McLachlan M, Shrimpton R. Combating malnutrition - time to act. Washington, D.C. World Bank Health, Nutrition. *Population Peer Reviewed Series*. 2003.
9. Swindale A, Bilinsky P. Development of a universally applicable household food insecurity measurement tool: process, current status, and outstanding issues. *J Nutr*. 2006; 136: 1449S-1452S.
10. Frongillo EA. Validation of measures of food insecurity and hunger. *J Nutr*. 1999;129(2S Suppl):506S-509S.
11. Sapin C, Simeoni MC, El Khammar M, Antoniotti S, Auquier P. Reliability and validity of the VSP-A, a health-related quality of life instrument for ill and healthy adolescents. *J Adolesc Health*. 2005;36:327-36.
12. Radimer KL, Olson CM, Campbell CC. Development of indicators to assess hunger. *J Nutr*. 1990;120 Suppl 11:1544-8.
13. Derrickson JP, Fisher AG, Anderson JE. The core US Household Food Security Survey Module scale measure is valid and reliable when used with Asians and Pacific Islanders. *J Nutr*. 2000;130(11):2666-74.
14. Rose D. Economic determinants and dietary consequences of food insecurity in the United States. *J Nutr*. 1999;129(2S Suppl):517S-520S.
15. Kaiser LL, Melgar-Quiñonez HR, Lamp CL, Johns MC, Sutherlin JM, Harwood JO. Food security and nutritional outcomes of preschool-age Mexican-American children. *J Am Diet Assoc*. 2002;102(7):924-9.

16. Wolfe WS, Olson CM, Kendall A, Frongillo EA. Hunger and food insecurity in the elderly- its nature and measurement. *J Aging Health*. 1998;10(3):327-350.
17. Melgar-Quinonez H, Kaiser LL, Martin AC, Metz D, Olivares, A. Inseguridad alimentaria en latinos de California: observaciones de grupos focales. *Salud Pub Mex*. 2003;45(3):198-205.
18. Harrison GG, Stormer A, Herman DR, Winham DM. Development of a Spanish-language version of the U.S. household Household Food Security Survey Module. *J Nutr*. 2003;133(4):1192-7.
19. Lorenzana PA, Mercado C. Measuring household food security in poor Venezuelan households. *Public Health Nutr*. 2002;5(6A):851-7.
20. Pérez-Escamilla R, Segall-Corrêa AM, Maranhã LK, Sampaio MFA, Marín-León L, Panigassi G. An adapted version of the U.S. department of agriculture food insecurity module is a valid tool for assessing household food insecurity in Campinas, Brazil. *J Nutr*. 2004;134:1923-1928.
21. Melgar-Quinonez HR, Zubieta AC, Mknelly B, Nteziyaremye A, Gerardo MF, Dunford C. Household food insecurity and food expenditure in Bolivia, Burkina Faso, and the Philippines. *J Nutr*. 2006;136:1431S-7S.
22. Álvarez M C, Montoya C, Estrada A, Melgar-Quinonez H. Validación de escala de percepción de la seguridad alimentaria doméstica en Antioquia, Colombia. Submitted to *Salud Publica Mex*. 2006.
23. Pérez-Escamilla R, Parás P, Dolkar T, Melgar-Quinonez H. The USDA food security module is a valid tool for assessing household food insecurity in Mexico City. *The Faseb Journal*. 2005;19(5)Abstract;748.4:A1350.
24. Melgar-Quinonez, H., Zubieta A.C., Valdez E., Whitelaw B., Kaiser L. (2005) Desarrollo de un instrumento para monitorear inseguridad alimentaria en la Sierra de Manantlán, Jalisco. *Salud Publica Mex*. 47(6):413-422.
25. Gulliford MC, Nunes C, Roche B. The 18 Household Food Security Survey items provide valid food security classifications for adults and children in the Caribbean. *BMC Public Health*. 2006; 8;6(1):263.
26. Gulliford MC, Mahabir D, Roche B. Reliability and validity of a short form household food security scale in a Caribbean community. *BMC Public Health*. 2004; 6;4:22.
27. Nord M, Binkle G. Measuring children's food security in U.S. households, 1995-99. Washington, D.C. *Economic Research Service, US Department of Agriculture*. Available at: [www.ers.usda.gov/publications/fanrr25](http://www.ers.usda.gov/publications/fanrr25) Accessed: Nov 8, 2005.
28. Nord M, Andrews M, Winicki J. Frequency and duration of food insecurity and hunger in US households. *J Nutr Educ Behav*. 2002;34(4):194-200.
29. Bond TG, Fox CM. *Applying the Rasch Model Fundamental Measurement in the Human Sciences*. Mahwah, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates; 2001.
30. Hwang JL, Nochajski SM, Linn RT, Yow-Wu B. The development of the School Function Assessment- Chinese version for cross-cultural use in Taiwan. *Occup Ther Int*. 2004;11(1):26-39.
31. Gulliford MC, Mahabir D, Roche B. Food insecurity, food choices, and body mass index in adults: nutrition transition in Trinidad and Tobago. *Int J Epidemiol*. 2003 Aug;32(4):508-32.
32. Lorenzana PA, Sanjur D. Abbreviated measures of food sufficiency validly estimate the food security level of poor households: measuring household food security. *J Nutr*. 1999 Mar;129(3):687-92.

Recibido: 26-10-2006

Aceptado: 09-03-2007

## Relacion entre los factores de riesgo de enfermedades crónicas no trasmisibles y la sensibilidad a la insulina en adultos jóvenes de 18 a 39 años de la ciudad de Cali-Colombia

Mildrey Mosquera, Alberto Pradilla, Beatriz Gracia, Martha Liliana Cruz, Andrés Felipe Sánchez, Cecilia Aguilar de Plata

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Salud Pública, Departamento de Pediatría, Universidad del Valle. Colombia. Departamento de Medicina Preventiva. University of Southern California. E.E.U.U.

**RESUMEN.** En Colombia se desconoce la prevalencia de resistencia a insulina(RI) y factores de riesgo(FR) para el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles(ECNT). El objetivo del estudio fue determinar asociación entre FR de ECNT y el grado de sensibilidad a insulina (SI) en adultos jóvenes aparentemente sanos. Se seleccionaron por conveniencia 97 sujetos ( $24 \pm 4.66$  años), de quienes se obtuvo historia familiar y personal, antropometría, perfil lipídico y se practicó Test Corto de Tolerancia a Insulina para determinar prevalencia de RI y factores de riesgo asociados. La media del perfil lipídico y la antropometría estuvieron dentro de límites de referencia. La SI se categorizó en Alta, Media-Alta, Media-Baja y Baja, 51% de mujeres y 41% de hombres se ubicaron en los grupos de menor sensibilidad. Se encontró diferencia entre la circunferencia de cintura y peso entre sujetos con SI Baja y Media-Baja y SI Media Alta y Alta. Los grupos con Media-Baja y Baja presentaron como mínimo tres FR. Mas del 50% de los casos con antecedentes familiares de ECNT, sedentarismo, bajo C-HDL. Asociación negativa entre SI y glucosa en ayunas y positiva de triglicéridos en ayunas con el Índice de masa corporal, relación cintura cadera y peso. Los resultados muestran una presencia elevada de FR para el desarrollo de ECNT en población joven asociada a una prevalencia de disminución de la SI mayor que la reportada, permitirán proponer indicadores tempranos para detectar personas a riesgo y utilizar estrategias de prevención adecuadas.

**Palabras clave:** Sensibilidad a insulina, factores de riesgo, enfermedades crónicas no transmisibles.

### INTRODUCCION

La capacidad de la insulina como mediador de la captación de glucosa varía considerablemente entre individuos (1,2). La disminución de la sensibilidad a la insulina (SI) genera un aumento compensatorio de la secreción de esta hormona y se considera como manifestación inicial del Síndrome

**SUMMARY.** Association of risk factors for non transmissible chronic diseases with insuline sensitivity, in young adults in the city of Cali, Colombia. The prevalence of insulin resistance and risk factors for chronic diseases is not known in Colombia. The purpose of the study was of determine the association of insulin resistance and risk of chronic diseases in young, apparently healthy adults. By convenience, 97 subjects, mean age of 24 years were studied. Family and personal history, anthropometrics, lipid profile, and a short insulin tolerance test was done to each subject to identify prevalence o insulin resistance and its association with risk factors. Plasma lipids and anthropometrics were within acceptable range. Insulin sensitivity was categorized as high, border high, border low and low. Out of 97 subjects 47 had altered sensitivity. Most women (68%) were classified as border low, and most men (60%) as low. There was a difference between these two categories in waist circumference and weight. Border low and low cases had not less than 3 risk factors but the total number of factors was not different within the 4 groups. More than 50% of cases had family history of chronic diseases, sedentary life and low C-HDL. There was a negative association between insulin sensitivity and fasting Glycaemia and positive with fasting triglycerides, BMI, Waist hip ratio and weight. Results suggest a surprisingly high prevalence of risk factors in a young group associated with altered insulin sensitivity. It may be possible to identify early indicators of risk and develop appropriate strategies for prevention.

**Key words:** Insulin sensitivity, risk factors, non transmissible chronic diseases.

Metabólico (SM) (3-6) que comprende una asociación de anormalidades como obesidad abdominal, hipertrigliceridemia, bajos niveles de Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL), presión arterial alta e hiperglicemia en ayuno, estas alteraciones desempeñan un importante papel en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular (ECV) (5,7,8).

La determinación de la sensibilidad a la insulina es bastante compleja y la técnica considerada como el “Gold Standard” es el clamp euglicémico que presenta varios inconvenientes técnicos y metodológicos para su implementación, así que se han desarrollado técnicas alternas que pueden ser utilizadas en su reemplazo. Entre ellas se encuentra el Test Corto de

---

**Trabajo financiado por:** El Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología “Francisco José de Caldas” – COLCIENCIAS y La Universidad del Valle.

Tolerancia a la Insulina (TCTI) como un método práctico, ya validado reproducible, más barato, fácil de aplicar y que además tiene una sensibilidad de 83,3% y especificidad de 80,5 % ya comprobadas (9-12)

La relación entre SI, perfil de lípidos y estilo de vida ha sido ampliamente estudiada en otros países. Se ha estimado que más del 25% de las personas normoglucémicas no obesas presentan resistencia a la insulina (RI) (13) y que el 23,7% de adultos en los Estados Unidos padecen de SM (14) con aumento en la posibilidad de desarrollo de *Diabetes mellitus* no insulino dependiente (DMNID). Estudios realizados en países de ingresos altos con población multiétnica muestran una mayor prevalencia de diabetes en los hispanos (7,15-17). Los resultados obtenidos en el II Estudio Nacional de factores de riesgo de enfermedades crónicas mostraron una prevalencia de *diabetes mellitus* para Colombia del 2% y de glucosa alterada en ayunas 4,3% (18) pero esta es una medida indirecta de la sensibilidad a la insulina y hasta el momento se desconoce la prevalencia de RI y la presencia de factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (ECV) o de DMNID en esta población. El objetivo de este trabajo es determinar la asociación de factores de riesgos de enfermedades crónicas no transmisibles (ECV y DMNID) con el grado de sensibilidad a insulina en adultos jóvenes para desarrollar estrategias de intervención efectivas dirigidas a la prevención de la enfermedad y a educar de la población.

## MATERIALES Y METODOS

### Sujetos

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal. El número de sujetos para la prueba de determinación de sensibilidad a insulina se calculó utilizando como base la prevalencia de resistencia a insulina igual al 20%, reportada en población de origen hispano como la mexicana (19), con un nivel de confianza del 95%,  $n$  = primera estimación de cálculo de muestra,  $T = 1.96$  (95% nivel de confianza),  $P = 0.20$  (estimación de la prevalencia),  $q = 0.80$ ,  $d = 0.1$  (10 % exactitud),  $N_f$  = cálculo final de tamaño de muestra.

$$n = \frac{t^2 * p * q}{d^2} = \frac{3.84(0.20*0.80)}{0.01} = 61.44$$

$$n_f = \frac{n}{1+n} = \frac{61}{1+61} = \frac{61}{1+0.516} = \frac{61}{1.516} = 40.23$$

El resultado sugirió 40 casos, pero debido a que no existen datos reportados en Colombia; se optó por una muestra no probabilística y se usó una muestra por conveniencia en la cual se triplicó la muestra calculada para tratar de cubrir las posibles diferencias entre la población mexicana y la colombiana con respecto a la resistencia a la insulina; se

convocaron 118 sujetos principalmente estudiantes y trabajadores universitarios a los cuales se les invitó por convocatoria oral a participar en el estudio previa explicación de los objetivos del mismo; finalmente 97 sujetos (48 hombres y 49 mujeres) hicieron parte del estudio con edad media de  $24 \pm 4,66$  años. El protocolo del estudio fue presentado al Comité de Ética de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle y todos los participantes firmaron previamente el consentimiento informado. Dentro de los criterios de exclusión se tuvieron en cuenta: padecer algún tipo de enfermedad crónica ya diagnosticada o la simple sospecha de padecerla, tener una dieta especial o tener antecedentes de cambio brusco y/o reciente de peso corporal.

Se aplicó una encuesta diseñada para la recolección de datos personales, antecedentes familiares y personales de ECV y DMNID, hábito de fumar, consumo de medicamentos y práctica de actividad física por medio de recordatorio dirigido.

Todos los sujetos fueron citados en ayuno de 10 a 12 horas al Laboratorio de Metabolismo y Nutrición de la Universidad del Valle donde una nutricionista dietista les tomó medidas antropométricas: Peso en kg y un decimal, talla en cms y un decimal, circunferencias de cintura y cadera en cm. y un decimal. Con los datos obtenidos se calcularon los índices de masa corporal (IMC) (peso en kg/talla en  $m^2$ ) y relación cintura/cadera (20-22).

Se canalizó una vena superficial y se tomó la primera muestra de sangre para la determinación del perfil lipídico y glucosa. Se calculó la cantidad de insulina recombinante Humulin® (0,05 U x kg peso) para cada sujeto y se aplicó por vía intravenosa. Se recolectaron muestras de sangre a los 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 min después de la inyección, para determinación de glucemia.

Finalizada la prueba se proporcionó una bebida de 70 g de glucosa con el fin de normalizar los niveles de glucemia. Quince minutos después se realizó a los sujetos una determinación rápida de glucosa por medio de tira reactiva Bayer®, para verificar si el valor estaba dentro o por encima del rango normal (70-100 mg/dL). Para terminar se les proporcionó un desayuno ligero.

Las muestras fueron inmediatamente almacenadas a  $4^\circ C$  y la separación del plasma se realizó en los siguientes 30 min., por centrifugación a 3000 rpm / 15 min., y posterior almacenamiento a  $-20^\circ C$ . A la muestra en ayunas se le midió colesterol total (CT), triglicéridos (TAG), colesterol HDL (C-HDL) y glucosa y a las muestras posteriores a la inyección de insulina se les determinó glucosa. La cuantificación fue realizada en el autoanalizador BTS-370 de Biosystems® con métodos enzimáticos y reactivos Biosystems®(23).

Para el cálculo de colesterol VLDL y Colesterol LDL, se utilizaron las ecuaciones de Friedewald (24):  $VLDL = TAG \div 5$  y  $(C-LDL) = CT - (C-HDL) - VLDL$ .

Se efectuó regresión lineal de las concentraciones de glucosa vs. Tiempo para calcular la pendiente como indicador de sensibilidad a insulina. Se clasificaron las pendientes en cuartiles equivalentes a 4 grupos de sensibilidad definidos por el grado de disminución de la glucemia en el tiempo como respuesta a la inyección de insulina:

1. Sensibilidad Alta a la insulina: sujetos con valores de pendiente  $< -3,66$
2. Sensibilidad Media-Alta a la insulina: sujetos con valores de pendiente entre  $-3,66$  y  $-2,84$ .
3. Sensibilidad Media-Baja a la insulina: sujetos con valores de pendiente entre  $-2,83$  y  $-2,21$ .
4. Sensibilidad Baja a la insulina: sujetos con valores de pendiente  $> -2,21$

Los factores de riesgo de ECV y DMNID se definieron como (25):

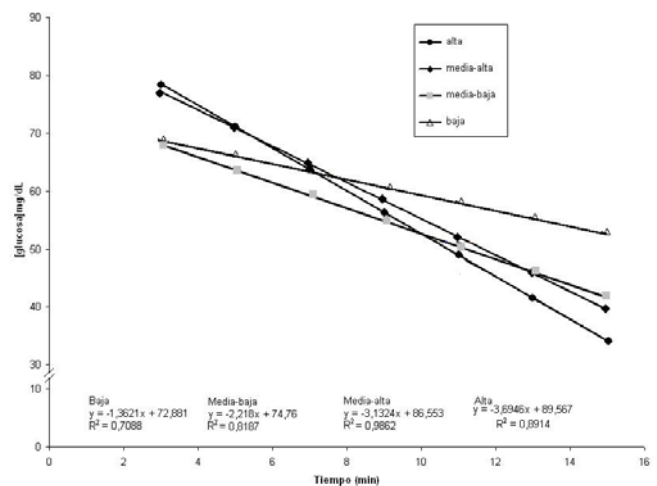
VARIABLES	Criterio de positividad
1. Antecedentes	Familiares en primer grado de consanguinidad familiares de ECNT que padezcan o hayan padecido de: accidente cerebrovascular o cardiovascular, Diabetes mellitus tipo II, obesidad, dislipidemias
2. Inactividad física	No práctica de deporte o la realización de este con frecuencia inferior a 3 horas / semana
3. Fumar	Consumo $\geq 2$ cigarrillos / semana
4. Triglicéridos altos	TAG $> 150$ mg / dL
5. Glucosa alta	Glucosa $\geq 110$ mg / dL
6. C-HDL Bajo	C-HDL $< 40$ mg / dL (hombres) C-HDL $< 50$ mg / dL (mujeres)
7. Obesidad	IMC $\geq 25,0$
8. Obesidad abdominal	Diámetro cintura $> 102$ (hombres) Diámetro cintura $> 88$ (mujeres)

Las variables se analizaron en forma estratificada por sensibilidad a insulina y cuando se consideró necesario se evaluaron con respecto a la edad y género. Se calcularon las diferencias por grupos de sensibilidad a insulina para las características físicas y / o metabólicas. Todos los sujetos se agruparon de acuerdo a la presencia de uno o más factores de riesgo y se calcularon porcentajes de distribución. Se determinaron las correlaciones (Pearson) entre las variables de perfil lipídico y antropometría con respecto a la sensibilidad a insulina y se realizó una regresión lineal para determinar la influencia de la sensibilidad a la insulina con respecto a algunos factores de riesgo. Todos los datos fueron analizados con ayuda del programa estadístico SPSS 10,0.

## RESULTADOS

La población estudiada es joven con media de edad de 24 años e igual número de mujeres y hombres. En la Figura 1 se encuentran las regresiones lineales de disminución de glucosa en el tiempo para los 4 rangos de SI definidos mediante el TCTI. Como se puede observar en la gráfica en los dos grupos de sensibilidad Media Baja y Baja se presentan valores menores de concentración de glucosa al inicio de la prueba y la disminución en el tiempo en la concentración de este metabolito es mucho menor con respecto a la observada en los dos grupos de mayor sensibilidad los cuales presentan valores mayores de glucosa basal y una disminución mayor de la glucemia. Los sujetos con SI Alta disminuyeron sus niveles de glucosa en más de un 50% con respecto al valor basal, los grupos SI Media-Alta y Media-Baja tuvieron una disminución menor (48% y 32% respectivamente) y los sujetos de SI Baja presentaron una disminución de aproximadamente un 20%. Ninguno de los casos presentó valores de glucosa basal por fuera del rango normal (hipo o hiperglucemia).

FIGURA 1  
Pendiente de glucemia en los grupos de clasificación del Test Corto de Tolerancia a la Insulina



La distribución por género fue homogénea pero se encontró un mayor porcentaje de mujeres en el grupo de sensibilidad Media-Baja (68%) y un mayor porcentaje de hombres (60%) con sensibilidad Baja. (Tabla 1) Una proporción elevada de sujetos tenía antecedentes familiares de ECNT y sedentarismo. La media de perfil lipídico y antropometría se encontró dentro de los límites de referencia. En el grupo de sensibilidad baja se observa una media más alta en las variables de perfil lipídico (colesterol total, C-LDL y triglicéridos) no significativa. Las características antropométricas de los par-

participantes; mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la circunferencia de la cintura y el peso entre el grupo de baja sensibilidad a la insulina y el grupo de sensibilidad media-

baja. No se encontraron diferencias con los otros dos grupos de mayor sensibilidad (Tabla 2).

TABLA 1  
Proporciones y medias de Características personales y metabólicas de los participantes de acuerdo a la sensibilidad a insulina

Características personales		Sensibilidad a la insulina				Total
		Alta	Media- Alta	Media-Baja	Baja	
Genero #(% )	Masculino	14(52%)	12(52%)	7(32%)	15(60%)	48(49%)
	Femenino	13(48%)	11(48%)	15(68%)	10(40%)	49(51%)
Edad (X±DS)	(años cumplidos)	23±4.4	24±4.6	24±4.4	26±5.3	24±4.7
Pendiente (X±DS)	(mg/dL)/min	-4.37±0.50	-3.35±0.20	-2.76±0.16	-1.72±0.64	-3.08±1.09
Glucosa (X±DS)	[mg/dL]	81.0±14.2	80.5±10.3	71.4±12.8	75.0±16.1	77.2±14.0
Triglicéridos (X±DS)	[mg/dL]	84.3±45.0	83.8±55.5	66.4±27.0	101.1±45.3	84.5±45.5
Colesterol total (X±DS)	[mg/dL]	138.3±31.9	137.3±37.4	138.1±36.0	145.1±36.2	139.8±34.9
C-HDL (X±DS)	[mg/dL]	40.8±16.9	37.4±12.1	43.1±14.6	39.6±14.8	40.2±14.7
C-LDL (X±DS)	[mg/dL]	80.7±32.4	83.1±27.3	81.7±31.9	85.3±34.5	82.7±31.3

TABLA 2  
Promedio y desviación estándar de características físicas de los participantes de acuerdo a sensibilidad a insulina

Características antropométricas		Sensibilidad a la insulina				Total
		Alta	Media- Alta	Media-Baja	Baja	
Talla (X±DS)	(mts)	1.66±0.1	1.66±0.1	1.61±0.1	1.66±0.1	1.65±0.1
Peso (X±DS)*	(kg)	61.2±9.9	61.2±9.0	56.6±9.2	66.0±14.6	61.5±11.3
Circunferencia cintura (X±DS)*	(cms)	73.0±7.8	73.6±8.2	69.7±7.5	76.9±11.0	73.4±9.0
Circunferencia cadera (X±DS)	(cms)	95.9±5.5	95.3±6.1	94.2±5.4	97.6±7.5	95.8±6.2
IMC (X±DS)	(kg/mts <sup>2</sup> )	22.2±2.8	22.1±3.0	21.9±2.8	23.8±3.1	22.5±3.0
Relación C/C (X±DS)		0.76±0.06	0.770.07	0.74±0.07	0.79±0.08	0.76±0.07

<sup>†</sup>  $P < 0.05$  entre sensibilidad media-baja y baja

El factor de riesgo para ECNT encontrado con mayor frecuencia fue el de antecedentes familiares. (Figura 2), seguido de la inactividad física y de valores bajos de C-HDL; los porcentajes de individuos que presentaron =1, 2, 3 o =4 factores de riesgo fueron 14, 33, 32 y 21% respectivamente dentro del grupo total. Sin embargo mas de la mitad de los casos con sensibilidad media baja y baja presentaban por lo menos 3 factores. (Figura 3) No se encontró diferencia ( $p > 0.05$ ) entre los grados de SI y el número de factores de riesgo en los sujetos.

Se encontró asociación entre la sensibilidad a la insulina y las concentraciones de glucosa en ayunas pero no para las variables de perfil lipídico. Estas últimas variables presentaron asociación con medidas antropométricas, como por ejemplo asociaciones positivas entre los triglicéridos y el IMC, C/C y el peso ( $p < 0.01$ ). Los modelos de regresión múltiple muestran SI relacionada ( $p < 0.05$ ) de manera negativa con el valor

de glucosa en ayunas y a los triglicéridos en asociación ( $p < 0.05$ ) positiva con el diámetro de cintura y negativa con el diámetro de cadera (Tabla 3 y 4).

TABLA 3  
Coeficientes de correlación de Pearson entre variables antropométricas y metabólicas

	Glucosa	C-Total	C-HDL	TAG
Pendiente	-.244*	.074	.051	.040
Peso	.196	.055	-.237*	.340†
IMC	.203*	.095	-.185	.346†
C/C	.296†	.173	-.165	.518†

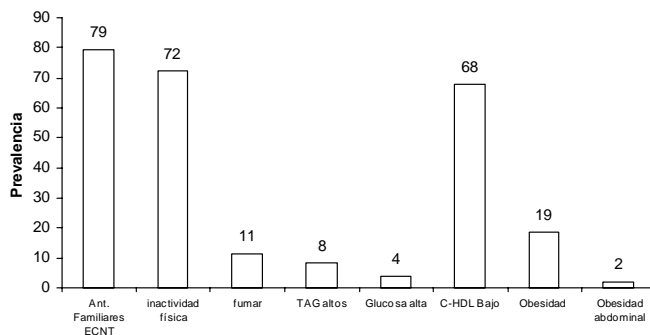
IMC: Índice de Masa Corporal, TAG: triglicéridos, C/C: relación cintura/cadera, C-total: colesterol total, C-HDL: colesterol HDL. <sup>2</sup>  $p < 0.05$ . † $p < 0.01$

**TABLA 4**  
Modelos de regresión múltiple para determinar la contribución de la sensibilidad a insulina en el cambio de las variables de perfil lipídico

Variable dependiente	Variabes independientes	$\beta$	P-Value
<b>Modelo 1: <math>R^2 = 0.19</math>. <math>p &lt; 0.05</math></b>			
Glucosa en ayunas	Género	-.030	n.s.
	Edad	.003	n.s.
	IMC	.336	n.s.
	Cintura	.251	n.s.
	Cadera	-.345	.057
	Pendiente	-.298	.003
<b>Modelo 2: <math>R^2 = 0.31</math>. <math>p &lt; 0.05</math></b>			
Triglicéridos	Género	.133	n.s.
	Edad	-.122	n.s.
	IMC	.247	n.s.
	Cintura	.742	.000
	Cadera	-.461	.006
	Pendiente	-.302	n.s.
<b>Modelo 3: <math>R^2 = 0.06</math>. <math>p = n.s.</math></b>			
Colesterol-HDL	Género	.144	n.s.
	Edad	-.049	n.s.
	IMC	-.116	n.s.
	Cintura	-.004	n.s.
	Cadera	-.038	n.s.
	Pendiente	.092	n.s.

**FIGURA 2**

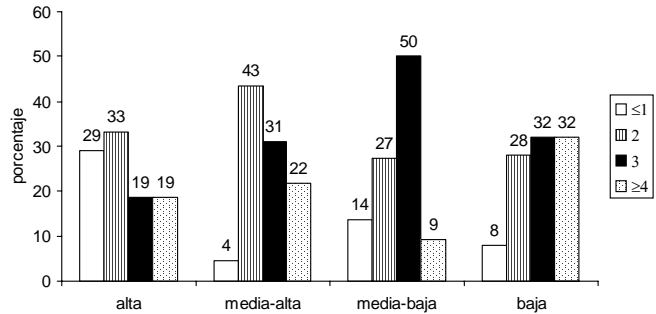
Frecuencia de factores de riesgo de ECNT en el total de casos



ECNT: enfermedades crónicas no transmisibles, TAG: triglicéridos, C-HDL: Colesterol HDL

**FIGURA 3**

Proporción de factores de riesgo de ECNT por grado de sensibilidad a insulina



**DISCUSION**

La resistencia a la insulina es una patología asintomática que se puede presentar en etapas muy tempranas de la vida y que cada vez tiene una mayor prevalencia en la población. La importancia de poder determinar el inicio de este proceso radica en la posibilidad de proporcionar tratamientos o medidas preventivas tempranas y de esta manera disminuir o detener el desarrollo de las patologías asociadas a este proceso como la ECV y la diabetes tipo II.

El objetivo de presente estudio fue determinar la posible asociación entre los factores de riesgo de ECNT y la sensibilidad a la insulina para buscar posibles marcadores de este proceso. El Test Corto de Tolerancia a la insulina utilizado como técnica para determinar los niveles de sensibilidad permitió una clasificación de los sujetos de acuerdo a su comportamiento durante la prueba.

En un estudio realizado en el Reino Unido en mujeres, utilizando el TCTI (26), los autores encontraron que entre las mujeres con y sin antecedentes de ECV no existía una diferencia con respecto a la sensibilidad a la insulina medida *in vivo*, versus la medida *in vitro* mediante el test, y aunque esta técnica para determinar la SI no permite conocer el recambio de glucosa por los tejidos, el hecho de encontrar una asociación entre la pendiente y las concentraciones de glucosa en ayunas podría indicar que los sujetos que están iniciando o tienen más avanzado el proceso de resistencia a la insulina presentan un aumento en la secreción de insulina (hiperinsulinemia) y por esa razón muestran valores menores de glucosa sin estar fuera del rango que se considera normal; esta asociación sugiere que este metabolito podría ser un buen predictor del grado de sensibilidad a la insulina. También se encontró que los grupos de casos con sensibilidad baja presentaron la mayor proporción de factores de riesgo, que sugiere una mayor probabilidad de aparición de enfermedades crónicas no trasmisibles en ellos. Actualmente la necesidad de determinar cuáles factores se encuentran asociados a la

resistencia a la insulina como mecanismos para poder realizar un diagnóstico temprano y trabajar un poco en prevención de estas enfermedades (26).

En otro estudio realizado para determinar la sensibilidad de las técnicas de rutina para predecir la presencia de resistencia a la insulina (27), se encontró que a partir del cumplimiento de determinadas condiciones y utilizando puntos de corte para ciertas variables como el índice de masa corporal, concentraciones de insulina y/o lípidos, se podían generar 3 modelos de decisión para determinar si un paciente tenía resistencia a la insulina o no, y del mismo modo que en el presente trabajo ellos encontraron que la glucosa asociada a otras variables podía ser utilizada como un buen predictor.

La valoración de la sensibilidad a la insulina se puede realizar por medio de varias técnicas entre las que se encuentran, la determinación de insulina basal y el cálculo del índice HOMA, en algunos países latinoamericanos se han realizado similares a este, pero utilizando otras técnicas para la determinación de la sensibilidad a la insulina (28) (29) Las poblaciones utilizadas incluyen adultos mayores, pero a pesar de estas diferencias con el presente estudio; en estas investigaciones se reportan asociaciones entre la sensibilidad a insulina y las medidas antropométricas y no se encuentran relaciones entre esta variable y las variables bioquímicas también confirmando la relación entre la sensibilidad a la insulina y el sobrepeso y/o la obesidad. Así como la importancia de dedicarle mayor cantidad de atención a este tipo de pacientes cuando se realiza prevención primaria para de esta manera disminuir el desarrollo de estas enfermedades en periodos posteriores.

En un estudio realizado en Brasil (30) se evaluaron 2 métodos diferentes para el diagnóstico de resistencia a la insulina en 56 sujetos entre 21 a 74 años de edad, teniendo en cuenta los criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de la Asociación Americana de Diabetes (ADA); y encontraron un 19,6% (11 sujetos) intolerantes a la glucosa según los criterios de la OMS y un 10,7 (6 sujetos) con glucosa alterada en ayunas según los criterios de la ADA y no encontraron diferencias significativas al analizar las variables bioquímicas y antropométricas entre los grupos estos 2 grupos, el hecho de que encontrarán un menor porcentaje de sujetos con alteraciones en los niveles de glucosa en sangre confirma que la glucosa y las variables bioquímicas no se pueden utilizar como únicos indicadores de la resistencia a la insulina y deben asociarse con las variables antropométricas.

Entre las variables que no mostraron relación con la sensibilidad a la insulina se observó que las de perfil lipídico sí se encontraron asociadas con las medidas antropométricas sugiriendo que las personas obesas de esta población muy seguramente manejan valores de lípidos de riesgo. Otra de las posibles explicaciones para las observaciones de las pocas alteraciones en lípidos y de la baja correlación entre estos y la

sensibilidad a la insulina, es la edad de los sujetos del estudio, que se conoce se caracteriza porque permite una mejor regulación metabólica de su organismo y una mayor adaptabilidad ante condiciones adversas, además, a diferencia de lo reportado por otros autores, que si muestran correlación entre estas variables en el presente estudio se observó prevalencia baja de obesidad.

Otro hallazgo importante es la alta prevalencia de factores de riesgo para ECNT en la población de adultos jóvenes participantes, especialmente la falta de actividad física como factor modificable en el estilo de vida y que permite pensar en una posible estrategia de prevención. En el informe presentado en la 63rd. Scientific Sessions de la American Diabetes Association (ADA) (31) se reportó que cambios en la dieta y en la práctica de deporte comparados con el uso de medicamentos, disminuía considerablemente el riesgo de desarrollar diabetes. Además, como es sabido la práctica de ejercicio regular eleva considerablemente los niveles de C-HDL (Colesterol cardio-protector), aumenta el  $VO_{2max}$  y disminuye la RI aún en sujetos de edad avanzada y con riesgo alto de enfermedad, obteniéndose de esta manera beneficio cardiovascular (32).

En otro trabajo para evaluar la presencia de síndrome metabólico (33) se encontró una prevalencia alta de esta condición en niños hispanos con sobrepeso y asociación entre la presencia de factores de riesgo y el grado de sensibilidad a la insulina. Aun cuando en el presente estudio no se observó esta asociación, si se encontró dentro del grupo estudiado un mayor porcentaje de individuos con menor grado de sensibilidad a la insulina y mayor número de factores de riesgo. En resultados mostró que hay asociación significativa de algunos factores entre si y asociación no significativa de algunos con la pendiente.

Al considerar otros factores de riesgo mayores para ECNT tales como (34) fumar, la hipertensión, aumento de colesterol total y la disminución de C-HDL, en la población estudiada se observó que la disminución de C-HDL constituyó el tercer factor de riesgo en prevalencia y se asoció de modo negativo al peso de los sujetos, sugiriendo entonces su posible utilidad como indicador para la identificación de personas a riesgo y que necesitan mayor atención. Igualmente como se puede deducir de los resultados obtenidos en estos sujetos, debe ser considerada la utilidad del uso de medidas antropométricas como el peso y la circunferencia de la cintura como indicadores de riesgo, por su asociación con las variables de perfil lipídico.

Los grupos con SI Baja y Media Baja presentan el mayor porcentaje de sujetos que tienen al menos tres factores de riesgo de desarrollar ECNT aun cuando no se encontró diferencia ( $p > 0.05$ ) entre los grados de SI y el número de factores de riesgo en los sujetos.

En conclusión, los resultados del estudio demuestran la

alta presencia de factores de riesgo para el desarrollo de ECNT en población joven, aparentemente sana, y su asociación con la disminución de la sensibilidad a la insulina, que permiten sugerir de manera racional la conveniencia de utilizar en etapas tempranas indicadores para detectar y prevenir el desarrollo de dichas enfermedades.

### AGRADECIMIENTOS

A todos las personas que participaron en el estudio. A Mauricio Palacios MD y Ricardo Plata MD por el control médico durante la realización de las pruebas clínicas. Al Enfermero Germán Florez por su asistencia técnica en la parte de toma de muestras. A Biosystems DRS S.A. por las facilidades proporcionadas en la adquisición de equipos y reactivos.

### REFERENCIAS

1. Reaven G, Brand R, Ida Chen J, Ashwini M, Goldfine I. Insulin resistance and insulin secretion are determinants of oral glucose tolerance in normal individuals. *Diabetes* 1993; 42:1324-1332.
2. Hollenbeck C, Reaven G. Variations in insulin-stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64(6):1169-1173.
3. Reaven G. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol. Rev* 1995; 75(3):473-486.
4. Henriksson J. Influence of exercise on insulin sensitivity. *J Cardiovasc Risk* 1995; 2:303-309.
5. Ginsberg H. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clinical Invest* 2000; 106(4):453-458.
6. Arslanian S, Suprasongson C. Insulin Sensitivity, lipids, and body composition in childhoods: Is "syndrome X" present? *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(3):1058-1062.
7. Dickinson S, Colagiuri S, Faramus E, Petocz P, Brand-Miller J. Postprandial hyperglycemia and insulin sensitivity differ among lean young adults of different ethnicities. *J Nutr* 2002; 132:2574-2579.
8. American Diabetes Association. Consensus development conference report. Proceedings of Consensus development conference on insulin resistance: 1997 5-6 Nov. *Diabetes Care* 1998; 21(2): 310-314.
9. Akinmoku A, Selby P, Ramaiya K, Alberti K. The short insulin tolerance test for determination of insulin sensitivity: A comparison with the Euglycaemic clamp. *Diabet Med* 1992; 9: 432-437.
10. Hirst, S. Reproducibility of the short insulin tolerance test. *Diabet Med.* 1993; 10:839-842.
11. Gelding SV, Robinson S, Lowe S, Ninthyananthan R. and Johnston DG. Validation of the low dose short insulin tolerance test for evaluation of insulin sensitivity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; 40: 611-615.
12. Graci S, Baratta R, Degano C, Lupp A, Vigneri R, Frittitta L, Trischitta V. The intravenous insulin tolerance test is an accurate method for screening a general population for insulin resistance and related abnormalities. *J Endocrinol Invest* 1999; 22: 472-475.
13. Reaven, G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37:1595-1607.
14. Ford E, Giles W, Dietz W. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. Findings from the third national health and nutrition examination survey. *JAMA* 2002; 287(3): 356-359.
15. McBean A, Li S, Gilbertson D, Collins A. Differences in diabetes prevalence, incidence, and mortality among the elderly of four racial/ethnic groups: whites, blacks, Hispanics, and Asians. *Diabetes Care* 2004; 27: 2317-2324.
16. Bacha F, Saad R, Gungor N, Janosky J, Arslanian S. Obesity, regional fat distribution, and syndrome X in obese black versus white adolescents: race differential in diabetogenic and atherogenic risk factors. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6):2534 - 2540
17. Kasim – Karakas, S. Ethnic differences in the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:670-671.
18. III Estudio nacional de salud bucal – ENSAB III. II Estudio nacional de factores de riesgo de enfermedades crónicas ENFREC II. Tomo V: Prevalencia de diabetes mellitus y de glucosa alterada en ayunas. Ministerio de Salud Nacional. Colombia 1999.
19. Gonzalez-Villalpando C., Stern M.P., Haffner S. The insulin resistance syndrome in México. Prevalence and clinical characteristics: a population based study. *Arch. Med. Res.* 1995; 26 spec No. S9-15
20. Molarius A, and Seidell JC. Selection of anthropometric indicators for classification of abdominal fatness a critical review. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 719-727.
21. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization. Reference Manual. Champaign: Human Kinetics Books; 1988.
22. WHO TRS N° 854. Physical status: The use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Comitee. Geneva: WHO; 1995.
23. Biosystems, Reagents & instruments. Barcelona España. 2000.
24. Friedewald WT, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18:499-502.
25. National Institutes of Health. Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Bethesda, Md: National Institutes of Health; 2001. NIH Publication 01-3670.b
26. Frost G, Leeds A, Trew G, Margara R, Dornhorst A. Insulin Sensitivity in women at risk of coronary heart disease and the effect of a low glycemic diet. *Metabolism* 1998; 47(10): 1245-1251.
27. Stern S, Williams K, Ferrannini E, DeFonzo R, Bogardus C, Stern M. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. *Diabetes* 2005; 54(2): 333-339.
28. Fernandez V, Clavell E, Villasmil J, Calmon G, Raleigh X, Morales LM *et al.* Niveles basales de insulina en una población del estado Zulia, Venezuela. *Invest. clin* 2006 jun; 47(2): 167-177.

29. Gómez A, Magana P, Ruiz J, Alvarez C. Sensibilidad a la insulina y función de la célula beta en los diferentes estados de tolerancia a la glucosa. *Invest clin* 2006 jun; 47(2): 155-166.
30. Costa A, Rossi A, Garcia N, Moreira A, Foss M. Análise dos critérios diagnósticos dos distúrbios do metabolismo de glicose e variáveis associadas à resistência insulínica. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2003. 39(2): 125-130.
31. The diabetes prevention program research group. The effects of Intensive Lifestyle Intervention (ILS) and metformin (Met) on C-Reactive Protein (CRP), tissue plasminogen activator (TPA) and fibrinogen (FIB) in the Diabetes Prevention Program (DPP). ADA 63rd Scientific Sessions: 2003 jun. 13-17; New Orleans, USA.
32. Cuff DJ, Meneilly GS, Martin A, Ignaszewski A, Tildesley HD, Frohlich JJ. Effective Exercise modality to reduce insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26(11): 2977-2982
33. Cruz ML, Weigensberg MJ, Huang TT-K, Ball G, Shaibi GQ, Goran MI. The metabolic syndrome in overweight Hispanic youth and the role of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89(1):108-113
34. Grundy SM, Balady GJ, Criqui MH, Fletcher G, Greenland P, Hiratzka LF, et al. Primary prevention of coronary heart disease: Guidance from Framingham. A statement for healthcare professionals from the AHA Task Force on risk reduction. *Circulation* 1998; 97:1876-1887.

Recibido:15-09-2006

Aceptado: 09-02-2007

## Homocisteína, ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> en adultos mayores venezolanos

*Lesbia Meertens G., Nayka Díaz W., Liseti Solano R., Maria Adela Baron, Adelmo Rodríguez M.*

Centro de Investigaciones en Nutrición. Facultad de Ciencias de la Salud. (CEINUT). Universidad de Carabobo. Valencia. Venezuela

**RESUMEN.** Los cambios anatómo-fisiológicos propios del envejecimiento hacen de los adultos mayores un grupo vulnerable a los estados de malnutrición y deficiencias específicas de nutrientes como la vitamina B<sub>12</sub> y el folato. El objetivo de este estudio fue establecer la relación existente entre la vitamina B<sub>12</sub>, folato, homocisteína y el consumo y adecuación de estos nutrientes. Se evaluaron 55 adultos mayores de 60 años de edad, de ambos sexos, no institucionalizados, a quienes se les determinó homocisteína sérica por inmunoensayo de polarización de fluorescencia, vitamina B<sub>12</sub> y folato sérico por radioensayo (RIA); consumo de nutrientes según recordatorio de 24 h y frecuencia de consumo de alimentos y estado nutricional antropométrico según Índice de Masa Corporal (IMC). Se encontraron niveles séricos de vitamina B<sub>12</sub> y folato dentro de los valores de referencia (423,3± 227,6 pmol/l y 6,4 ± 4,5 mg/ml); sin embargo, 17,5% se encontraban deficitarios de B<sub>12</sub> y 12% de ácido fólico, la homocisteína sérica estuvo por encima de los valores de referencia (15,8±4,4 mmol/l). Del grupo de estudio, 47,5% presentaban hiperhomocisteinemia (>15mmol/L), siendo significativamente más alta para el sexo masculino (p: 0,01). El consumo de nutrientes fue inadecuado por déficit. Según IMC, 11,8% de los adultos mayores se encontraban en déficit nutricional, 29,4% con sobrepeso y 20,6% en obesidad. Se observó una correlación inversa y negativa entre homocisteína y folato sérico. Todo esto sugiere la presencia de una deficiencia bioquímica de B<sub>12</sub> y folato, que se traduce en la homocisteína elevada, lo que constituye un factor de riesgo cardiovascular en este grupo de adultos mayores.

**Palabras clave:** Adultos mayores, homocisteína, folato, vitamina B<sub>12</sub>.

### INTRODUCCION

La proporción de población con edad mayor de 60 años está en constante y rápido crecimiento en diferentes partes del mundo. En Venezuela para el año 2050, este grupo representará 9% de la población general según estimación del Censo 2001 (1). El proceso de envejecimiento se acompaña de una serie de cambios anatómo-fisiológicos, que alteran la capacidad física del individuo y también los hábitos y conductas alimentarias del adulto mayor (2).

Estudios previos en el país han evidenciado malnutrición en ancianos (3,4) y sobre la situación de vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico. Meertens y Solano (5), reportaron 26,4% de adultos mayores venezolanos en situación de déficit y riesgo de déficit para vitamina B<sub>12</sub> y 43% para deficiencia de ácido fólico.

**SUMMARY. Serum homocysteine, folate and vitamin B<sub>12</sub> in Venezuelan elderly.** The anatomical and physiological changes of aging make elderly people a vulnerable group to malnutrition and specific deficiencies of nutrients such as vitamin B<sub>12</sub> and folate. This study was aimed to establish relationships among serum vitamin B<sub>12</sub>, folate, homocysteine concentrations and dietary intake and adequacy. Fifty five male and female elderly (60 and more years), free-living, were assessed. Measurements were: serum vitamin B<sub>12</sub> and folate by radioimmunoanalysis (RIA), homocysteine by polarized fluorescence immunoassay, nutrient intake by three 24 hours recalls and food frequency questionnaire. Nutritional status was determined by Body Mass Index (BMI). Serum vitamin B<sub>12</sub> and folate were at normal range (423,3±227,6 pmol/l and 6,4 ± 4,5 mg/ml), but 17,5% of elderly had B<sub>12</sub> deficiency and 12% had folate deficiency. Serum homocysteine was higher than reference values (15,8±4,4 mmol/l), but 47,5% showed concentrations above 15mmol/L, male population showed higher mean value (p: 0,01). Nutrient intake was inadequate by deficiency. BMI indicated 11,8% of undernutrition, 29,4% of overweight and 20,6% of obesity. A negative and inverse correlation between homocysteine and serum folate was found. Results suggest a biochemical deficiency of B<sub>12</sub> and folate that is expressed as elevated homocysteine levels. These findings represent a high cardiovascular risk factor for this elderly group.

**Key words:** Elderly, homocysteine, folate, vitamin B<sub>12</sub>.

Entre los cambios observados en los ancianos como una consecuencia de la declinación funcional de órganos y sistemas, se observa una disminución de la sensibilidad de los sentidos del gusto y el olfato, lo cual afecta el interés por los alimentos y por ende el apetito. Así mismo, las alteraciones gastrointestinales propias de la edad, producen un efecto adverso sobre la absorción de nutrientes, que comprometen el estado nutricional y dan lugar a cuadros de deficiencias específicas tales como la del ácido fólico y la vitamina B<sub>12</sub>, las cuales alcanzan una prevalencia a nivel mundial entre 2% y 20% en este grupo etario (6,7).

La vitamina B<sub>12</sub> es un cofactor esencial para la metionina sintetasa en el proceso de remetilación de la homocisteína a metionina, mientras que el ácido fólico, bajo la forma de 5 metil tetrahidrofolato (THF), en actúa como donador de gru-

pos metilos para la conversión de homocisteína a metionina, por tanto, las deficiencias de ambos nutrientes inciden en el incremento de los niveles de homocisteína en sangre (8,9).

La homocisteína es un aminoácido sulfurado que en elevadas concentraciones en sangre ejerce acciones deletéreas sobre el endotelio vascular. Investigaciones recientes han confirmado que la hiperhomocisteinemia constituye un factor de riesgo, claro e independiente, para aterosclerosis (10). Este aminoácido causa daño al endotelio, por la producción de peróxido de hidrógeno y radicales libres en su proceso de autooxidación, además, de promover la agregación plaquetaria y la formación de trombos (11).

Aproximadamente en dos tercios de los pacientes que presentan elevación de los niveles de homocisteína existe asociación con bajas concentraciones de vitaminas, como el ácido fólico y la vitamina B<sub>12</sub> (12).

La presente investigación tiene como objetivo evaluar el estado de la vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico en adultos mayores residenciados en sus hogares, a fin de establecer la relación existente entre estas variables y así aportar datos que mejoren la calidad de vida de este grupo etario.

## MATERIALES Y METODOS

Previo censo, realizado por la Asociación de Vecinos de la comunidad en el casco histórico del municipio Naguanagua de la ciudad de Valencia, región centro-norte de Venezuela, se pudo localizar las residencias en las cuales habitaban adultos mayores. Posteriormente, se realizó visita a 70 casas, informándosele acerca de la investigación y se solicitó el consentimiento escrito para su participación en el estudio. 10 de los adultos no cumplían con los criterios de inclusión y 5 no completaron la evaluación de consumo por lo que fueron excluidos, por lo que la muestra quedó constituida por 55 adultos mayores de 60 años de edad, quienes cumplían con los siguientes criterios de inclusión: estar aparentemente sanos, sin demencia senil, con capacidad de movilizarse y realizar sus actividades por sí mismo, que no estuvieran recibiendo suplementos de ácido fólico ni vitaminas de complejo B. Se excluyeron alcohólicos y pacientes con trastornos de la función renal.

Se registraron los datos personales de los participantes en el estudio y el consumo de medicamentos.

Los ancianos fueron categorizados por edad en dos grupos: entre 60 y 75 años y mayores de esta edad. Por razones de índole económica, las determinaciones de homocisteína solo se realizaron en 40 individuos, seleccionados al azar de la muestra total.

### Evaluación hematológica y bioquímica

Esta evaluación incluyó la determinación de hemoglobina (Hb) y hematocrito, homocisteína (Hcy), ácido fólico y

vitamina B<sub>12</sub> sérica. En condiciones de ayuno se tomó una muestra de 6 ml de sangre venosa, de la cual se colocaron 2 ml en tubo con anticoagulante para las determinaciones hematológicas que se realizaron el mismo día, en un contador hematológico marca Sysmex F500. Una vez centrifugado los 4ml restantes, el suero se separó en alícuotas, que fueron congeladas a -70°C hasta el momento de la determinación.

Se consideró anemia cuando la Hb fue <13 g/dl para el sexo masculino y <12g/dl para el sexo femenino (13).

La determinación de homocisteína se realizó por inmunoensayo de polarización de fluorescencia usando el Kit Comercial de Abbott. Los valores referenciales van de 5-15 mmol/l, se consideró elevada a valores > a 15mmol/l.

Se determinó ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> por Radioensayo (RIA), con el Kit Comercial Dualcount de Diagnostic Product Corporation. Los valores de referencia según Gibson (14) son los siguientes:

Acido Fólico:		Vitamina B <sub>12</sub>	
< 3 ng/ml	Déficit	<150 pmol/l	Déficit
3 – 6 ng/ml	Riesgo de déficit	150-258 pmol/l	Riesgo de déficit
> 6 ng/ml	Normal	>258 pmol/l	Normal

### Evaluación antropométrica

A los adultos mayores, en ropa ligera y sin zapatos se les midió el peso y la talla, en una balanza debidamente calibrada y un tallímetro de madera con una precisión de 100g y 0,5 cm respectivamente. Con dichas mediciones se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC), para realizar el diagnóstico del estado nutricional. Según este indicador, se consideró déficit  $\leq 20 \text{ kg/m}^2$ ; normal 20,1 a 24,9  $\text{kg/m}^2$ , sobrepeso  $\geq 25$  a 29,9  $\text{kg/m}^2$  y obesidad  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$  (15). La estatura fue validada con la medición de la altura talón-rodilla, a través del calíper Ross según técnica de Chumlea y col (16) midiendo la distancia entre el talón del pie y la parte superior de la rodilla, ambos flexionados en un ángulo de 90° grados (17). Se realizó la lectura de la medida en dos ocasiones no debiendo existir entre una y otra una diferencia mayor de 0.5 cm.

### Evaluación dietética

Se evaluó el consumo de energía, vitamina B<sub>12</sub> y folato y su adecuación mediante dos recordatorios de 24 horas realizados en días laborables y un cuestionario de frecuencia de consumo, esta información fue recolectada por personal debidamente capacitado y en presencia de familiares de los ancianos. A los fines de estudio, se utilizaron las recomendaciones venezolanas de energía y nutrientes para la población de mayores de 60 años de edad: para la vitamina B<sub>12</sub> 2,4 mg/d y para el ácido fólico 400 mg/d (18). El punto de corte para establecer un consumo adecuado del nutriente fue dos tercios de las recomendaciones internacionales (67%) (19). Los da-

tos obtenidos fueron procesados por el programa Food Processor versión 2, ampliado con la Tabla de Composición de Alimentos de Venezuela (20).

Los datos fueron tabulados y analizados estadísticamente utilizando el programa SPSS versión 11.0 (21), se calcularon los estadísticos descriptivos y la comparación de medias según t de Student para muestras independientes y asociaciones mediante  $\chi^2$ , Correlación de Spearman, las relaciones de riesgo (OR) se realizaron para las concentraciones de homocisteína y para la deficiencia y riesgo de B<sub>12</sub> y folato sérico. Las variables presentaron distribución normal según Test de Kolmogorov-Smirnov. El nivel de significación estadística utilizado fue de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Los adultos mayores presentaron edades en un rango de 60 a 89 años, siendo el promedio de  $70,0 \pm 8,1$ . Del total de los participantes 65% eran menores de 75 años de edad, 51,4% pertenecían al sexo femenino y 48,6% al masculino.

En la Tabla 1 se observan los valores promedios de las variables estudiadas: el IMC del grupo está dentro del rango normal, sin embargo, al clasificar el estado nutricional según este indicador, 11,8% de los adultos mayores se encontraba en déficit nutricional, 29,4% con sobrepeso y 20,6% en obesidad.

Con relación a las variables dietarias, la adecuación del consumo de las calorías totales fue normal, mientras que la ingesta del folato y B<sub>12</sub> fue deficiente. En el patrón alimentario se observó que solo 57% de ellos consumían carnes rojas, principal fuente de vitamina B<sub>12</sub> y en raciones menores de 100g en un promedio de tres veces/semana.

Los niveles séricos de ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> estuvieron dentro de los valores de referencia; sin embargo, para el ácido fólico se observó que 60% de los sujetos presentaban

riesgo de deficiencia y 12,5% déficit y para la vitamina B<sub>12</sub>, 17,5% se encontraban en déficit y riesgo de deficiencia. La concentración promedio de homocisteína está por encima de las cifras normales y la de hemoglobina dentro de los límites establecidos; sin embargo, 9,1% (n: 5) de los adultos evaluados presentaron anemia normocítica.

TABLA 1  
Valores promedio y desviación estándar de las variables estudiadas Naguanagua, Carabobo, 2005 (n= 55)

Variables antropométricas	X± DE	Rango
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,8 ± 5,0	10,3 -35,4
<b>Dietarias</b>		
Calorías Totales	1346,3 ± 543,8	642,0- 2643,0
Adecuación calorías (%)	97,6 ± 42,8	39-198
Consumo vitamina B <sub>12</sub> total (mg)	1,3 ± 1,2	0,2-4,9
Adecuación B <sub>12</sub> (%)	45,5 ± 42,8	7-163
Consumo folatos total (µg)	81,4 ± 58,8	6-181
Adecuación ácido fólico (%)	23,2 ± 20,7	2-83
<b>Bioquímicas y hematológicas</b>		
Vitamina B <sub>12</sub> sérica (pmol/L)	423,3 ± 227,6	104-997
Acido fólico sérico (µg/ml)	6,4 ± 4,5	1,1-24,8
Homocisteína (µmol/L)	15,8 ± 4,4	9,7-25,2
Hemoglobina (g/dL)	13,6 ± 1,3	10,6-17,3

Se puede observar en la Tabla 2, que a pesar de que las concentraciones de folato y vitamina B<sub>12</sub> fueron menores en los adultos mayores de 75 años, la homocisteína estuvo más elevada, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de edad. En el sexo femenino, los niveles promedio de folato y vitamina B<sub>12</sub> fueron más altos de forma significativa que en el masculino ( $p: 0,04$  y  $p: 0,003$ ), respectivamente; mientras que la homocisteína fue más alta en los ancianos, siendo su diferencia significativa ( $p: 0,01$ ).

TABLA 2  
Valores promedios y desviación estándar de las variables bioquímicas por edad, sexo y niveles de homocisteína Naguanagua, Carabobo, 2005

Variables	n	Edad		Sexo		Homocisteína	
		<75	>75	Masculino	Femenino	≤15 (µmol/L)	>15 (µmol/L)
Acido Fólico (ng/ml)	55	6,7 ± 4,8	5,6 ± 3,7	4,9 ± 2,5	7,2 ± 5,1*	8,1 ± 5,7****	4,6±1,8
Vit B <sub>12</sub> (pmol/ml)	55	425,2 ± 237,0	419,8 ± 214,9	372,0 ± 137,7	425,7 ± 63,1**	423,5 ± 236,4	351,0 ± 157,9
Homocisteína (µmol/L)	40	15,07 ± 4,54	17,25 ± 4,04	18,1 ± 3,88***	14,1 ± 4,14	12,3 ± 1,76	19,7 ± 3,0

\* t Student p: 0,049

\*\* t Student p: 0,003

\*\*\* t Student p: 0,01

\*\*\*\* t Student p: 0,001

En cuanto a la comparación de las concentraciones de B<sub>12</sub> y folato de acuerdo a los niveles de homocisteína, mostré valores menores en los sujetos que presentaron homocisteína elevada, alcanzando diferencia significativa para el folato (p: 0.001).

La distribución de adultos mayores según la edad, el sexo y valores de homocisteína se muestra en la Tabla 3. Se observa que 35% (n: 14) de los sujetos eran mayores de 75 años y de ellos 47,4% (n: 9) tenían homocisteína elevada. En los menores de 75 años, la mayoría presentó homocisteína normal. No se observó asociación significativa entre estas variables.

Al distribuir por sexo, se observó que 47,5% de los ancianos presentó niveles de homocisteína elevada y de ellos 68,4% pertenecían al género masculino. Se encontró una asociación significativa entre género y concentración de homocisteína (Chi<sup>2</sup>: 9,950; p: 0,002).

TABLA 3

Distribución de adultos mayores por nivel de homocisteína sérica según edad y sexo  
Naguanagua, Carabobo, 2005

Variable	Homocisteína Serica (µmol/L)		
	≤ 15	>15	Total
<b>Edad (años)</b>			
<75 años	16 (76,1%)	10 (52,6%)	26 (65%)
≥ 75 años	5 (23,9%)	9 (47,4%)	14 (35%)
Total	21 (52,5%)	19 (47,5%)	40 (100,0%)
<b>Sexo</b>			
Masculino	4 (19,0%)	13 (68,4%)	17 (42,5%)
Femenino	17 (81,0%)	6 (31,6%)	23 (57,5%)
Total	21 (52,5%)	19 (47,5%)	40 (100,0%)

Edad:  $\chi^2$ : 2,434; p: 0,119

Sexo:  $\chi^2$ : 9,950; p: 0,002

En la Tabla 4 se muestra que al distribuir los ancianos según niveles séricos de ácido fólico, vitamina B<sub>12</sub> y homocisteína, 72,5% (n: 29) de ellos se encontraban en situación de deficiencia y riesgo de déficit para el folato y 16 de los mismos tenían homocisteína elevada, mientras que los adultos mayores con folato normal, ocho (38,1%) tenían concentraciones de homocisteína dentro de los límites de referencia, no hubo asociación entre estas variables.

En relación con la vitamina B<sub>12</sub>, 35% (n:14) estaban en situación de riesgo y de déficit; de éstos siete (36,9%) presentaron concentraciones elevadas de homocisteína. De los 26 ancianos que mostraron niveles normales de B<sub>12</sub>, 14 (66,7%) también tenían la homocisteína dentro de los niveles de referencia, observándose asociación significativa entre estas variables (Chi<sup>2</sup>: 7,215 p: 0,027).

TABLA 4

Distribución de los adultos mayores según niveles séricos de homocisteína, ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub>  
Naguanagua, Carabobo, 2005

Variables	Valores de referencia	Homocisteína		
		≤15 µmol/l	> 15 µmol/l	Total
<b>Acido Fólico</b>				
<3 ng/ml		2 (9,5%)	3 (15,8%)	5 (12,5%)
3-6 ng/ml		11 (52,4%)	13 (68,4%)	24 (60,0%)
> 6 ng/ml		8 (38,1%)	3 (15,8%)	11 (27,5%)
Total		21 (100%)	19 (100%)	40 (100%)
<b>Vitamina B<sub>12</sub></b>				
< 150 pmol/l		6 (28,6%)	1 (5,3%)	7 (17,5%)
150-258 pmol/l		1 (4,8%)	6 (31,6%)	7 (17,5%)
> 258 pmol/l		14 (66,7%)	12 (63,2%)	26 (65,0%)
Total		21 (100%)	19 (100%)	40 (100%)

Acido fólico:  $\chi^2$ : 2,546; p: 0,280

Vitamina B<sub>12</sub>:  $\chi^2$ : 7,215; p: 0,027

Se observó una correlación negativa y significativa (r: -0,446; p: 0,007) entre las concentraciones séricas de homocisteína y folato. Asimismo, entre la adecuación del consumo dietario de ácido fólico y sus niveles séricos existe una correlación de tipo positiva y significativa (r: 0,475; p: 0,004).

Al determinar el riesgo relativo entre los niveles de homocisteína y folato sérico, se observó que los adultos mayores con déficit de folato y riesgo de déficit, mostraron una proporción de homocisteína alta dos veces superior al resto (OR: 2,023; 95% CI; rango: 0,730-5,606), mientras que la probabilidad de encontrar hiperhomocisteinemia en adultos mayores con vitamina B<sub>12</sub> en déficit o en riesgo de déficit fue de uno (OR: 1,083; 95% CI; rango: 0,555-2,114).

En relación con el consumo de medicamentos, 90% de los ancianos ingerían tres o más por día. Los de mayor frecuencia fueron antihipertensivos, antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la secreción gástrica, antiácidos y enzimas digestivas.

## DISCUSION

Las deficiencias de vitamina B<sub>12</sub> y de folato son frecuentes en los adultos mayores (22). En este estudio, los niveles séricos de estas vitaminas se encontraron dentro de los valores de referencia, no así la homocisteína que estuvo ligeramente elevada. Sin embargo, la mayoría de los ancianos estaban en situación de riesgo y de déficit para folato observándose una correlación inversa y significativa entre homocisteína y folato sérico.

El consumo de estos micronutrientes en el grupo fue defi-

ciente, estuvo por debajo de las recomendaciones establecidas para adultos mayores venezolanos (18), solo la mitad consumían carnes rojas, principal fuente de vitamina B<sub>12</sub>. En cuanto al folato, no se reportó la ingesta de fuentes principales de esta vitamina, tales como hígado y vegetales verdes, ya que no forman parte de los hábitos alimentarios del venezolano. También hay que acotar que estos ancianos no consumían productos fortificados con estos nutrientes

El estudio de Frammighan (23) muestra un consumo de B<sub>12</sub> adecuado, en el cual la fuente principal fue la carne roja, además de ingerir alimentos fortificados como los cereales. Chantal y col (24), reportan en adultos mayores un consumo de folato de  $245 \pm 64$  µg/d y de B<sub>12</sub> de  $4,14 \pm 1,63$  µg/d, como se observa son más elevados que los encontrados en esta investigación, ya que tenían un consumo mayor de vegetales, frutas y carnes.

Los niveles séricos de estos micronutrientes son el reflejo del consumo reciente de los mismos. En el caso del folato, la concentración sérica se correlacionó en forma positiva y significativa con la adecuación del consumo del nutriente. Todos los ancianos tenían una ingesta deficiente de esta vitamina y una concentración sérica en el límite inferior de los valores de referencia. Los niveles de vitamina B<sub>12</sub> estuvieron dentro de los límites normales, su consumo aunque deficiente presentó una adecuación mayor con relación al folato.

Al diferenciar los niveles séricos de estas vitaminas según la edad, se observan concentraciones menores en los sujetos mayores de 75 años de edad, esto pudiera explicarse por el consumo deficiente de ambos nutrientes y por las modificaciones gastrointestinales propias del envejecimiento, tales como la disminución en la absorción de los mismos que se acentúa a medida que avanza la edad. La gastritis atrófica es frecuente en los ancianos afectando entre un 20 a 30%, lo que limita la biodisponibilidad de la vitamina B<sub>12</sub> y la absorción del ácido fólico (25).

En los ancianos evaluados era de uso frecuente el consumo de medicamentos para esta patología, tales como antiácidos e inhibidores de la secreción gástrica, los cuales afectan la absorción de las vitaminas evaluadas, que aunado a lo antes expuesto pudiera explicar la prevalencia de deficiencia de ambos micronutrientes.

Clarke y col (26), mostraron niveles séricos más bajos de folato y de B<sub>12</sub> y un aumento de la prevalencia de la deficiencia a medida que aumentaba la edad. Igualmente, Obeid y col (22) reportan resultados similares, datos coincidentes con los obtenidos en esta investigación.

Salles-Montaudon y col (9) reportan 13,5% de prevalencia para deficiencia de vitamina B<sub>12</sub> y 11,7% para folato. Meertens-Solano (5) encontraron 16,7% de déficit para B<sub>12</sub> y 4% para folato, lo que se atribuyó a un consumo inadecuado de los nutrientes

El ácido fólico y la vitamina B<sub>12</sub> funcionan como

coenzimas del transporte de los grupos monocarbonados, Este metabolismo comprende una serie de reacciones bioquímicas interrelacionadas en las cuales, la unidad monocarbonada de un donador es transferida al tetrahidrofolato. La vitamina B<sub>12</sub> cede su grupo metilo a la homocisteína para formar metionina (25), por lo que las concentraciones séricas de este aminoácido son un reflejo de su metabolismo intracelular, es decir, estarían determinadas por el estado de estos nutrientes y de otros intermediarios metabólicos como la S-adenosil metionina, también dependiente de estas vitaminas. Un consumo y un estado inadecuado de folato y vitamina B<sub>12</sub> incrementan el riesgo para una elevación de este aminoácido (25).

En este estudio se observó que los niveles de homocisteína estuvieron por encima de los valores de referencia, con una prevalencia alta, lo que pudiera explicarse por el consumo deficiente de folato y de B<sub>12</sub>, que aún cuando los niveles séricos estaban dentro de los límites normales ya existía una deficiencia bioquímica en las vías metabólicas donde intervienen estas vitaminas, lo que dio lugar a los niveles elevados del aminoácido.

Huerta y col (27) obtuvieron valores de homocisteína de 13,3 µmol/l en ancianos españoles resultados que fueron menores a los reportados en esta investigación.

Mizrahi y col (28), reporta en un grupo de ancianos de edad promedio 74,6 años niveles de homocisteína de 11,7 µmol/l, no encontrando correlación significativa entre homocisteína y consumo de folato. En el estudio Oxford Healthy Ageing Project se mostró que la homocisteína sérica aumenta con la edad, asociada a deficiencia de B<sub>12</sub> y folato (26).

Cheng y col (29) reporta 34,6% de niveles elevados de homocisteína en ancianos, asociado a deficiencia de B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> y folato. Wolters y col muestra 17,4% de hiperhomocisteinemia y concentraciones de folato y B<sub>12</sub> normales (30).

Al diferenciar los ancianos según niveles séricos de ácido fólico, vitamina B<sub>12</sub> y concentración de homocisteína normal y elevada, la hiperhomocisteinemia fue mayor en el grupo de adultos mayores que estaba en situación de riesgo o déficit para dichos nutrientes, resultados que coinciden con los de Clarke y col (31), en ancianos de Gran Bretaña.

Estos investigadores, presentan en otro estudio (26) niveles de homocisteína dentro de los límites de referencia con B<sub>12</sub> y folato sérico normales. En otra investigación, reportan concentraciones de homocisteína elevada con niveles de B<sub>12</sub> en el rango de riesgo; como puede observarse, este aminoácido comienza a modificarse con la presencia de niveles séricos inadecuados de B<sub>12</sub>, lo que da lugar a alteraciones bioquímicas en las vías metabólicas. Esto pudiera explicar lo evidenciado en esta investigación.

La concentración sérica de homocisteína fue más alta en el grupo de ancianos mayores de 75 años de edad, también se observa en ellos niveles más bajos de B<sub>12</sub> y folato al comparar

con el grupo de menores de 75 años de edad. Asimismo, los niveles de homocisteína fueron más elevados en el sexo masculino, lo que coincide con B<sub>12</sub> y folato significativamente más bajos en ellos. Estas variables mostraron una asociación significativa (p: 0,002).

La hiperhomocisteinemia en los hombres pudiera explicarse por las diferencias existentes en la regulación metabólica del aminoácido según el sexo, lo que posiblemente condiciona unos requerimientos mayores de B<sub>12</sub> y folato en el grupo masculino.

Estos resultados son similares a los reportados por Gamble y col (12), Kim y col (10), Cheng y col (29) y Fukagawa y col (32), quienes explican este hecho por las diferencias que existen en la tasa de remetilación de la homocisteína según el sexo.

En esta investigación se observó una correlación inversa significativa entre los niveles de ácido fólico y los de homocisteína, hallazgos que coinciden con el trabajo de Carmel y col., (r: -0,29 p: 0,0001) (33), similar con el de Huerta y col (27) y el de Kim y col (10).

Estudios previos han evidenciado una asociación entre el consumo deficiente de folatos, niveles séricos deficiente de ácido fólico y valores elevados de homocisteína. Entre ellos, Koehbler y col (34) y Selhub y col (35).

Los ancianos de este estudio con niveles de folato sérico en déficit o en riesgo de déficit, presentaron una proporción de homocisteína alta dos veces superior que aquellos que tenían niveles normales de ácido fólico. Este hallazgo corrobora la utilidad de la homocisteína sérica como marcador del estado de folato.

En conclusión, el grupo de adultos mayores evaluados con edades comprendidas entre 60 y 89 años, presentaron estados de malnutrición por déficit y sobrepeso y obesidad (11,8% y 50%), respectivamente. Tenían un consumo deficiente de folatos y vitamina B<sub>12</sub>, niveles séricos de B<sub>12</sub> dentro del rango normal y de ácido fólico próximos al límite de riesgo. Estas características pudieran provocar alteraciones en las vías metabólicas en las cuales estos nutrientes intervienen, como son la del metabolismo monocarbonado y de metilación, lo que se traduciría en niveles de homocisteína ligeramente elevados; situación compatible con una deficiencia bioquímica de dichos nutrientes. La hiperhomocisteinemia constituye un factor de riesgo cardiovascular en este grupo de adultos mayores.

Se sugiere ampliar los estudios en este grupo etario, de tipo de intervención, suplementandos con los nutrientes evaluados.

## REFERENCIAS

1. PNUD Documento en línea]. [Acceso 26 de febrero de 2004]. Disponible <http://www.pnud.org.ve>
2. Falque L, Piñero M, Zambrano N, Quintero J, Souki A, Arias N. Estado Nutricional y Composición Corporal en un grupo de Adultos Mayores no Institucionalizados en el Estado Zulia, Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 1996; 46(3):190-195.
3. Peña E, Meertens de R L, Solano L. Valoración antropométrica y bioquímica de ancianos venezolanos institucionalizados. *Geriatr Gerontol* 2004; 39(6):360-366.
4. Díaz N, Meertens L, Solano L, Peña E. Caracterización nutricional antropométrica de ancianos institucionalizados y no institucionalizados. *Invest Clin* 2005; 46(2):111-119.
5. Meertens L, Solano L. Vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico y función mental en adultos mayores. *Invest Clin* 2005; 46(1):53-63.
6. Houston D, Johnson M, Nozza R, Gunter E, Shea K, Cutlter M, Edmonds J. Age-related hearing loss, vitamin B<sub>12</sub>, and folate in elderly Europeans. *J Nutr Health & Aging* 1999; 6(1):43-50.
7. Selhub J, Bagley LC, Miller J, Rosenberg I. B vitamins, homocysteine, and neurocognitive function in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(suppl):614S-20S.
8. Jacques P, Boston A, Wilson P, Rich S, Rosenberg I, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 613-21.
9. Salles-Montaudon N, Parrot F, Balas D, Bouzigon E, Rainfray M, Emeriau JP. Prevalence and mechanisms of hyperhomocysteinemia in elderly hospitalized patients. *J Nutr Health & Aging* 2003; 7 (2):111-116.
10. Kim MK, Ordovas J, Selhub J Campos H. B vitamins and plasma homocysteine Concentrations in an Urban and Rural Area of Costa Rica. *J Am Coll Nutr* 2003; 22 (3): 224-231.
11. Delpport R. Hyperhomocysteinemia related vitamins and dementias. *J Nutr Health & Aging* 2000; 4 (4):195-197.
12. Gamble MV, Absan H, Liu X, Factor-Litvak P, Ilievski V, Slavkovich V, Parvez F, Graciano JH. Folate and cobalamin deficiencies and hyperhomocysteinemia in Bangladesh. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(6):1372-7.
13. World Health Organization. Iron Deficiency Anaemia: Assessment, prevention and control. A guide for programme managers. [Documento en Internet]. WHO, 2001 [Acceso 15 de marzo de 2006]. Disponible en: [http://whqlib.doc.who.int/hq/2001/WHO\\_NHD\\_01,3.pdf](http://whqlib.doc.who.int/hq/2001/WHO_NHD_01,3.pdf).
14. Gibson R. Principles of Nutritional Assessment. Oxford University Press. New York. Oxford 1990.
15. Saava M, Kisper- Hint IR. Nutritional assessment of elderly people in nursing house and at home in Tallin. *J Nutr Health & Aging* 2002; 6 (1):93-95.
16. Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatr Soc* 1985; 33: 116-21.
17. Cockram D. Baumgartner R. Evaluation of accuracy and reliability of calipers for measuring recumbent knee height in elderly people. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 397-400.
18. MSDS. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Instituto Nacional de Nutrición. Valores de Referencia de energía y nutrientes para la población Venezolana. Revisión 2000. Caracas, Venezuela.

19. Institute of Medicine, Dietary Reference Intakes: Applications in Dietary Assessment, 2000 and Dietary reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Protein and Amino Acids (Macronutrients) 2002.
20. Manual Food Preprocessor II (1987-1988). Nutrition & Analysis System ESHA Research, USA.
21. SPSS. Statistical Package for Social Sciences. SPSS for Windows. Versión 11.0.
22. Obeid R Schorr H, Eckert R, Herrmann W. Vitamin B<sub>12</sub> status in elderly as judged by available Biochemical Markers. *Clinical Chemistry* 2004; 50(1):238-241.
23. Tucker K, Rich S, Rosenberg I, Jacques P, Duefal G, Wilson P, Selhub J. Plasma Vitamin B<sub>12</sub> concentrations relate to intake source in the Framingham Offspring Study. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:514-522.
24. Chantal Essama J, Guillaud JC, Potier de C G, Fuchs F, Richard D. Folate Status worsens in recently institutionalized elderly people without evidence of functional deterioration. *J Am Coll Nutr* 2000; Vol 19 (3): 392-404.
25. Selhub J. Folate, vitamin B<sub>12</sub> and vitamin B<sub>6</sub> and one carbon metabolism: *J Nutr Health & Aging* 2002; 6 (1): 39-42.
26. Clarke R, Grimley E, Schneede J, Nexo E, Bates C, Fletcher A, Prentice A, Johnston C, Ueland PM, Refsum H, Sherliker P, Birks J, Whitlock G, Breeze E, Scott JM. Vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency in later life. *Age Ageing* 2004; 33(1):34-41.
27. Huerta JM, González S, Vigil E, Prada M, San Martín J, Fernández S, Patterson AM, Lasheras C. Folate and cobalamin synergistically decrease the risk of high plasma homocysteine in a nonsupplemented elderly institutionalized population. *Clin Biochem* 2004; 37(10):904-10.
28. Mizrahi EH, Jacobsen DW, Debanne SM, Traore F, Lerner AJ, Friedland RP, Petot, GJ. Plasma total homocysteine levels, dietary vitamin B<sub>6</sub> and folate intake in AD and healthy aging. *J Nutr Health & Aging* 2003; 7 (3):160-165.
29. Chen KJ, Pan WH, Yang FL, Wei IL, Shaw NS, Lin BF. Association of B vitamins status and homocysteine levels in elderly Taiwanese. *Asia Pac J Clin Nutr* 2005; 14(3): 250-5.
30. Wolters M, Hermann S, Hahn A. B vitamin status and concentrations of homocysteine and methylmalonic acid in elderly German women. *Am J Clin Nutr* 2003; 78:776-72.
31. Clarke R, Refsum H, Birks H, Grimley Evans J, Johnston C, Sherliker P, Ueland P, Schneede J, Mc Partlin J, Nexo N, Scott J. Screening for vitamin B-12 and folate deficiency in older persons. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:1241-7.
32. Fukagawa NK, Martín JM, Wurthmann A, Prue AH, Ebenstein D, O'Rourke B. Sex-related Differences in Methionine Metabolism and Plasma Homocysteine Concentration. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 22-29.
33. Carmel R, Green R, Jacobsen DW, Rasmaussen K, Florea M, Azen C. Serum cobalamin, homocysteine, and methylmalonic acid concentrations in a multiethnic elderly population: ethnic and sex differences in cobalamin and metabolite abnormalities. *Am J Clin Nutr* 1999;70:904-910.
34. Kohebler KM, Romero LJ, Stauber PM, Pareo-Tubbeh SL, Liang HC, Baumgartner RN, Garry PJ, Allen RH, Stabler SP. Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J Am Coll Nutr* 1996; 15(4):364-376.
35. Selhub J, Jacques PF, Roseberg IH, Roger G, Bowman BA, Gunter EW, et al. Serum Total Homocysteine Concentrations in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1991-1994): Population Reference Ranges and Contribution of Vitamins Status to High Serum Concentrations. *Ann Intern Med* 1999; 131: 331-339.

Recibido: 14-12-2006

Aceptado: 09-04-2007

## O perfil de macronutrientes influencia a termogênese induzida pela dieta e a ingestão calórica

*Helen Hermana Miranda Hermsdorff, Ana Carolina Pinheiro Volp, Josefina Bressan*

Universidad de Navarra, Pamplona, España. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

**RESUMO.** A composição da dieta pode interferir diretamente na homeostase energética. No metabolismo energético, a via de oxidação e a termogênese induzida pela dieta são diferenciadas pela proporção de macronutrientes da dieta. Neste sentido, a dieta hiperprotéica é mais termogênica que as dietas hiperglicídicas e hiperlipídicas, enquanto que as dietas ricas em carboidrato parecem ser mais termogênicas que as ricas em lipídio, mas os resultados ainda são controversos. Em relação à ingestão calórica, a composição da dieta pode estimular ou inibir a mesma, de acordo com a palatabilidade dos alimentos e o grau de saciação e saciedade, relacionadas às quantidades de carboidrato, proteína e lipídio da mesma. Uma hierarquia tem sido relatada para a capacidade dos macronutrientes em induzir saciedade em que a proteína é o mais sacietógeno ao contrário dos lipídios, que são os menos sacietógenos. De modo geral, ainda há discrepâncias entre os estudos, em relação ao papel regulador dos macronutrientes em componentes do gasto energético e na ingestão calórica, devido às diferenças metodológicas como amostra, tempo de exposição à dieta, densidade calórica e conteúdo calórico total da mesma. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo analisar as evidências científicas mais consistentes a respeito do papel modulador da composição da dieta na termogênese induzida pela dieta e na ingestão calórica, para melhor entendimento da prevenção e controle da obesidade pela intervenção dietética.

**Palavras chave:** Carboidratos, proteínas, lipídios, termogênese, metabolismo energético, ingestão calórica, obesidade.

**SUMMARY.** **Macronutrient profile affects diet-induced thermogenesis and energy intake.** The diet composition can interfere directly in the energy homeostase. In the energy metabolism, the oxidation pathway and diet-induced thermogenesis are differentiated by diet macronutrients proportion. In this respect, the high-protein diet is the most thermogenic, compared to high-carbohydrate and high-lipid diets, while high-carbohydrate diet appears to increase the thermogenic effect more than high-lipid diet, but the studies are controversies. Towards energy intake, it can stimulate or inhibit the energy intake, according to the foods palatability, satiation and satiety degree, related to diet carbohydrate, protein and lipid content. A hierarchy has been observed for the satiating efficacies of the macronutrients protein, carbohydrate and fat, with protein as most satiating and fat as least satiating. In general, there are discrepancies between studies about the regulatory role of macronutrients in the components of energy expenditure and intake, due the methodological differences in the subjects, exposition time for diet, energy density, and total energy content. The present work seeks to analyze the more consistent scientific evidences toward the modulator role of diet composition on the diet induced thermogenesis and energy intake, for better understanding of obesity prevention and control by dietetic intervention.

**Key words:** Carbohydrates, proteins, lipids, thermogenesis, energy metabolism, energy intake, obesity.

### INTRODUÇÃO

O balanço energético, advindo do equilíbrio entre o gasto energético (GE) e a ingestão calórica (IC), tem um importante papel no controle do peso e da reserva de gordura corporal. Para entender como este balanço é perdido, é necessário investigar a ingestão, oxidação, termogênese e estocagem dos macronutrientes, a saber, carboidrato, proteína e lipídio, que juntos influenciam na IC, no GE e no balanço energético (1).

A oxidação da proteína e do carboidrato se ajusta espontaneamente à sua ingestão, mas isto não ocorre com o lipídio, que é principalmente estocado durante a fase pós-prandial (2,3). A termogênese induzida pela dieta (TID), por sua vez, tem o conteúdo calórico e a composição da dieta como importantes moduladores (4,5). A proteína é o macronutriente mais termogênico (6-8), enquanto que o poder termogênico do carboidrato e lipídio ainda é controverso.

Alguns estudos indicam que dietas ricas em carboidrato têm maior efeito na TID que dietas hiperlipídicas (9-10), enquanto outros não encontram diferença entre seus efeitos (6,11,12). A TID parece ser também influenciada pelos estímulos sensoriais (13), de modo que o aumento da palatabilidade dos alimentos está associado ao aumento da TID (4,6). Em relação ao estado nutricional, os indivíduos obesos têm apresentado menor resposta metabólica oxidativa (14-17) e termogênica (18-21) nos estados de jejum e pós-prandiais, suportadas pela hipótese de que ação do sistema nervoso simpático (SNS) é prejudicada pela redução do número e da sensibilidade dos  $\beta$ -adrenorreceptores (22-23).

A ingestão alimentar, um dos componentes do balanço energético, está intimamente ligada às sensações de fome, saciação, saciedade e apetite (24-25). Por isso, a influência dos macronutrientes na IC é muito investigada, mas os resultados também são controversos. Estudos mostram que

pessoas apresentam menor sensação de fome, menor IC e maior saciedade após a ingestão de uma carga de proteína, quando comparada à ingestão de cargas de carboidrato e lipídio (26-29). O lipídio parece ter menor efeito sacietógeno que o carboidrato, além de aumentar a palatabilidade dos alimentos e, apresentar maior conteúdo calórico (30-32). Entretanto, em alguns estudos, não houve diferença entre dietas hiperglicídicas e hiperlipídicas na saciedade, quando as mesmas apresentavam densidade calórica e palatabilidade similares (26,33), o que sugere a influência dessas características da dieta na IC.

Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo analisar as evidências científicas mais consistentes a respeito do papel modulador da composição da dieta na termogênese induzida pela dieta e na ingestão calórica, para melhor entendimento da prevenção e controle da obesidade pela intervenção dietética adequada.

## METODOLOGIA

Para a presente revisão, foi realizada uma busca a partir dos principais bancos de dados nacional e internacional em saúde disponíveis na Internet: *Web of Science*, Pubmed, Lilacs e Scielo (1990 – Abril, 2007), com o fim de se apresentar e discutir as publicações mais relevantes sobre o tema. Foram utilizadas as palavras chaves ‘carboidratos’, ‘proteínas’ e ‘lipídios’, ‘termogênese’, ‘metabolismo energético’, ‘ingestão calórica’, ‘obesidade’, em português e em sua respectiva tradução para as línguas inglesa e espanhola, quando necessário.

### **Termogênese induzida pela dieta e o papel dos macronutrientes**

O balanço energético, fundamental para a manutenção do peso corporal dos indivíduos, se faz pelo equilíbrio entre o GE e a IC. O fato de que o balanço é mantido quando a energia ingerida é igual a que é gasta nos processos metabólicos e atividade física, sugere que alta prevalência de gordura corporal total (GCT) é, provavelmente, causada por um ou mais fatores: (a) alterações no gasto energético pela atividade física; (b) alterações na eficiência do *turnover* metabólico (termogênese); (c) alterações na IC. Para entender como este balanço é perdido, faz-se necessário investigar a ingestão, oxidação e estocagem dos macronutrientes, a saber, carboidrato, proteína e lipídio, que juntos determinam a IE, o GE e o balanço energético (1).

A oxidação celular dos substratos é determinada pela necessidade do organismo em gerar adenosina trifosfato (ATP), utilizado nas diferentes funções metabólicas (manutenção de temperatura, atividades, etc.). A composição dos substratos metabólicos, destinada a fosforilação oxidativa, varia consideravelmente durante o dia (5). O quociente respiratório não protéico (QRNP), razão entre o volume de CO<sub>2</sub> expirado

e volume de O<sub>2</sub> inspirado, indica a proporção de GE na oxidação de carboidrato e lipídio, enquanto que a oxidação de proteína é independentemente estimada pela excreção de nitrogênio urinário de 24 horas (1).

A ingestão alterada de carboidrato não causa imediatamente mudanças na sua oxidação, sendo necessário um tempo para ajustar o QRNP ao novo estado (um a três dias). Após uma semana de dieta rica em carboidrato ou em proteína, a oxidação do macronutriente está equilibrada (1). Chawalibog & Thorbek (34) obtiveram uma redução significativa da oxidação noturna de carboidrato (5-7g de carboidrato/hora) em comparação a oxidação de carboidrato durante o dia (12-14g de carboidrato/hora). Esta diferença pode ser explicada pela necessidade de manutenção da homeostase glicídica. Durante o dia, enquanto o carboidrato é ingerido, as reservas de glicogênio permanecem saturadas e então, a maior parte do carboidrato ingerida é oxidada. Durante a noite, período de jejum, as reservas de glicogênio precisam ser utilizadas, reduzindo o nível de oxidação do carboidrato para preservação das mesmas.

Os QRNPs após a ingestão de uma dieta rica em gordura são menores que os obtidos após a ingestão de uma dieta pobre em gordura, devido à maior oxidação de lipídio na primeira (16,35). Entretanto, estudos em modelos animais e em humanos demonstram que a alta ingestão de lipídios pode causar uma redução na expressão de genes envolvidos na cadeia transportadora de elétrons e na biogênese mitocondrial, ou seja, na capacidade de fosforilação oxidativa (36,37). O lipídio, portanto, diferentemente do carboidrato e da proteína, que ajustam sua oxidação a sua ingestão, é principalmente estocado durante a fase pós-prandial (2,3,5). Além disso, o grau de saturação, a posição do ácido graxo (AG) no glicerol e o número de carbonos da cadeia do AG podem influenciar no metabolismo pós-prandial dos lipídios. Por exemplo, em modelos animais, dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados levaram a um menor acúmulo de gordura corporal, reduziram o QRNP e aumentaram a TID (27). Em humanos, as dietas hiperlipídicas ricas em ácidos graxos poliinsaturados promoveram menor acúmulo de gordura corporal que dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados, por estimulação da TID (5). Outros estudos obtiveram menor QRNP e maior oxidação de lipídio após ingestão de diglicerídios (DG), comparados a ingestão de triglicerídios (TG). A hipótese que justifica este resultado é a diferença no metabolismo dos DG e TG nos períodos pré e pós-absortivos. O TG é hidrolisado pela 1,3 – lipase em 1,2-DG ou 2,3-DG, que por sua vez, são hidrolisados em 2-monoacil-glicerol e AG para serem absorvidos na mucosa intestinal e transportados às células como quilomícrons. Os DG são, em sua maioria, consumidos na forma de 1,3-DG que são hidrolisados em AG e glicerol e transportados via sistema porta ao fígado, onde são preferencialmente oxidados (38). Este mecanismo também

justifica as menores concentrações plasmáticas de TG em jejum (39) e em estado pós-prandial (40) e menor acúmulo de gordura no tecido adiposo abdominal (41) após ingestão de dietas ricas em DG. Os TG contendo AG de cadeia longa (TCL) e AG de cadeia média (TCM) também têm sido investigados. As dietas em que 30 a 60% do valor calórico total é consumido na forma de TCM levaram a uma maior oxidação de lipídio (42-43), maior oxidação de carboidrato (44) e maior TID (45) que as dietas em que a mesma proporção calórica é consumida na forma de TCL. O mecanismo parece ser o mesmo dos DG, em que os TCM são transportados diretamente ao fígado via sistema porta e estimulam a  $\beta$ -oxidação hepática. O aumento da concentração plasmática de  $\beta$ -hidroxibutirato, após ingestão de DGs e TCM, indica o aumento da oxidação hepática (38,42). Apesar do efeito benéfico no metabolismo do lipídio, a utilização de TCM na alimentação habitual é dificultada por suas características sensoriais, que levam a rejeição na maioria dos indivíduos, mesmo em pequenas porções.

Estes resultados mostram que a resposta oxidativa, principalmente pós-prandial, está associada à proporção de macronutrientes oferecida na dieta. Para o lipídio, é ainda importante levar em consideração as quantidades de gorduras saturadas, mono e poliinsaturadas, bem como a presença dos DG e TCM.

A TID é o gasto energético gerado pelos processos de ingestão, digestão, absorção, utilização e estocagem dos alimentos ingeridos. Ela representa 5% a 15% do gasto energético total, o que indica seu importante papel na regulação do balanço energético e do peso corporal. Em uma dieta mista, a TID pode representar um gasto energético de 10% a 15% do conteúdo calórico de uma dieta mista, mas quando os macronutrientes são ingeridos separadamente, a proteína, o carboidrato e o lipídio apresentam TID de 20% a 30%, 5% a 10% e 0% a 3% do valor calórico total ingerido, respectivamente. A TID é composta por duas fases distintas. A fase cefálica ou facultativa ocorre pela ação do sistema nervoso simpático (SNS), ativado pelas características sensoriais da dieta, enquanto a fase gastrointestinal ou obrigatória se caracteriza pelo gasto energético na fase de absorção e utilização dos nutrientes pelo consumo de ATP (45,46).

Entre os vários fatores que modulam a TID, o conteúdo calórico e a composição da dieta são os mais importantes (4,5, 46).

A proteína é o macronutriente mais termogênico, levando a um gasto energético de 19% da energia ingerida para sua utilização e estocagem, enquanto que o lipídio, necessita de um gasto 3% para o mesmo metabolismo (6,7,27). Ao mesmo tempo, o efeito térmico da proteína é 50% a 100% maior que do carboidrato, geralmente atribuído ao custo metabólico da síntese de peptídeo ligante, ureogênese e gliconeogênese (29).

Os estudos sobre o efeito termogênico do carboidrato e lipídio ainda são controversos. Labayen et al (9) e Tentolouris et al (10) obtiveram maior TID após a ingestão de dieta rica em carboidrato, comparado a ingestão de dieta rica em lipídio, suportados pela hipótese de que o carboidrato é capaz de ativar o SNS pela resposta insulínica pós-prandial (10,47). Por outro lado, outros estudos em que a ingestão de dietas ricas em carboidrato e em lipídio não apresentou diferença significativa na TID (6,11,12,48). Em relação ao tipo de carboidratos e lipídios, a TID é maior após ingestão de dietas ricas em carboidratos complexos, comparadas a dietas ricas em açúcares (49,50) e após a ingestão de dietas ricas em TCM, comparadas a dietas ricas em TCL (42). Desse modo, não só a quantidade de carboidrato e lipídio oferecida na IC é importante no efeito térmico da dieta, mas também sua qualidade pode ser manipulada para obtenção de maior gasto energético pós-prandial.

A TID é reduzida em homens alimentados diretamente no estômago, comparada a TID dos 30 a 40 minutos após uma alimentação oral (fase cefálica da TID). Este resultado sugere que a TID pode ser influenciada pelos estímulos sensoriais (aparência, aroma, textura) da dieta. Em estudo com ratos, a ingestão de dieta palatável rica levou ao aumento da IC e maior ganho de peso, comparado a ingestão de uma dieta controle. Em outro estudo, depois da ingestão de dieta palatável, a TID foi maior em magros, associada a uma maior excreção de noradrenalina (maior resposta metabólica), enquanto que em obesos a TID não apresentou diferença significativa. A deficiência nos obesos de aumentar a TID pela dieta pode estar relacionada a diferentes respostas físicas, fisiológicas e psicológicas para estimular a TID, na sua fase cefálica (51). Ao mesmo tempo, não houve efeito da palatabilidade na TID em jovens e idosos em 6 horas de leitura pós-refeição, ou, em adultos após carga lipídica com a presença ou não da estimulação oral, sugerindo que o efeito da palatabilidade na hiperfagia pode não ser atenuado pelo gasto energético e, causar efeito direto na mudança da composição corporal (52-53). É importante notar que a composição da dieta (em açúcar e lipídio) pode influenciar os resultados sobre o efeito da palatabilidade na TID. Deste modo, as discrepâncias nos estudos da influência hedônica na TID podem estar relacionadas com as diferenças nos graus de palatabilidade das dietas e outras características como: tamanho, consistência, familiaridade, duração da estimulação sensorial e estresse psicológico induzido pela dieta. Além disso, variações individuais podem interferir na TID e na palatabilidade como resistência insulínica, composição corporal e idade, que estão negativamente associados à TID (53).

Além destes fatores, o tempo de leitura e a carga calórica oferecida interferem na capacidade de detecção das repostas da TID em relação aos macronutrientes e à palatabilidade. Geralmente, a TID necessita de uma leitura de 4 a 8 horas

para ser determinada, mas o tempo do aumento do GE pós-prandial que inclui a TID total e seu valor de pico varia bastante entre os estudos (4). Os valores de TID estão aumentados para dietas ricas em álcool e proteína no final de 5 horas de leitura, sugerindo que os efeitos destas refeições foram pronunciados por período mais longo (11). Após ingestão de uma dieta mista, a TID pode ser determinada em uma leitura de 3 horas, quando o conteúdo calórico está entre 360 e 620 kcal, ou ainda, quando o mesmo é equivalente a, aproximadamente, 15% do gasto energético total. Para dietas que oferecem 35% a 45% das necessidades energéticas, seriam necessárias 8 horas de leitura (18,48). A variabilidade da TID também se deve à pequena magnitude da sua resposta num longo período de tempo, à

influência do processo pós-prandial de nutrientes e a variabilidade intra-individual. Para um estudo obter efeito do tratamento ou diferença entre grupos de 10, 25 ou 50% na TID ( $\alpha=0,05$ ;  $\beta=0,10$  ou  $0,20$ ) seria necessária uma amostra maior que 10 indivíduos por grupo (18).

A TID é modulada, portanto, por vários fatores, o que dificulta na determinação da real influência dos macronutrientes da dieta. Entretanto, o efeito destes macronutrientes na oxidação e gasto pós-prandial indicam a importância da composição da dieta na homeostase energética.

A Tabela 1 mostra os principais resultados relacionados ao efeito da composição da dieta na TID.

TABELA 1  
Principais resultados científicos sobre o papel dos macronutrientes da dieta na termogênese induzida pela dieta

Autor (ano)	Amostra	Composição da dieta	Resultados
Crovetti et al. (6)	Mul E (n=10)	DRP (68%) vs. DRC (60%) vs. DRL (70%)	A TID foi maior após ingestão de DRP Não houve diferença entre as TIDs de DRC e DRL
Westerterp-Platenga et al. (7)	Mul E (n=8)	DRC/P (61%C-29%P- 10%L) vs. DRL (30%C-9%P- 61%L)	A TID foi maior após ingestão de DRC/P comparada a DRL
Tentolouris et al. (10)	Mul E/SB (n=15/15)	DRC (95%C) vs. DRL (88%L)	A TID foi maior após ingestão de DRC em Mul E e SB Não houve diferença entre os grupos
Raben et al. (11)	Hom/Mul E (n=10/9)	DRC (65%C-12%P-23%L) vs. DRP (37%C-32%P-31%L) vs. DRL (24%C-12%P-64%L) vs. DRA (43%C-12%P-24%L-23%A)	A TID foi maior para DRA, comparada às outras dietas Não houve diferença entre DRC, DRP e DRL
Johnston et al. (29)	Mul E (n=8)	DRP (40%C-30%P- 30%L) vs. DRC (60%C-15%P- 25%L)	A TID após ingestão de DRP foi duas vezes maior comparada a de DRC
Marques-Lopes et al. (47)	Hom E/SB (n=6/7)	DRC (80%C-17%P-3%L)	Obesos apresentaram maior TID com DRC
Suen et al. (48)	Mul OB (n=7)	DRC (72%C-12%P-16%L) vs. DRP (35%C-43%P-26%L) vs. DRL (10%C-22%P-68%L)	Dietas hipocalóricas durante 7 dias Não houve na TID entre as dietas
Sawaya et al. (52)	Hom E (n=20)	Dieta com 65%C-12%P- 23% L, palatável vs. não palatável	Não houve diferença no efeito da palatabilidade na TID, mas QRNP foi maior para dieta palatável
Tittelbach & Mattes (53)	Hom/Mul (n=8/8) E/SB	DRL (7%C-15%P-78%L) em cápsulas ou com estímulo oral	Estímulo orosensorial não alterou a TID

E: indivíduos eutróficos; SB: indivíduos com sobrepeso; OB: indivíduos obesos; Mul: mulheres; Hom: Homens; C: carboidrato; P: proteína; L: lipídio; A: álcool; DRC: dieta rica em carboidrato; DRP: dieta rica em proteína; DRL: dieta rica em lipídio; DRA: dieta rica em álcool; TID: termogênese induzida pela dieta; QR: quociente respiratório.

Como comentado anteriormente, o SNS tem importante papel na regulação da termogênese e utilização de lipídio. Estudos em que catecolaminas e epinefrina (ambos  $\alpha$ - e  $\beta$ -adrenoreceptores) são infundidas, o gasto energético é aumentado por meio do aumento da lipólise e da oxidação de lipídio (22). Em humanos, é proposto que a termogênese

seja mediada por  $\beta$ 1- e  $\beta$ 2- adrenoreceptores, diferentes de outros mamíferos em que a ativação da termogênese ocorre via  $\beta$ 3- adrenoreceptores (54). O SNS, via  $\beta$ - adrenoreceptores excita a resposta termogênica via ativação das proteínas desacopladoras de elétrons (uncoupling protein; UCP), que liberam a energia eletroquímica advinda da fosforilação

oxidativa respiratória na forma de calor, sem geração ATP (54,56). O SNS pode ser estimulado por corticotropina (CRH) ou inibido pelo neuropeptídeo Y (NPY), sendo mediado, portanto, por peptídeos ligados a homeostase energética. Sua atividade também é aumentada em resposta à alimentação (~5 a 10%) principalmente quando o conteúdo de energia da dieta é aumentado, por exemplo, pelo consumo de alimentos palatáveis. A ingestão de carboidrato, mas não de proteína e lipídio é acompanhada de aumento na atividade do SNS em animais e humanos, enquanto que em estado de jejum os níveis de noraepinefrina e batimentos cardíacos são reduzidos em magros e obesos (efeito inibitório). A glicemia pós-prandial modulada pela ingestão de carboidratos também interfere na homeostase energética do SNS, associada às alterações da insulina, leptina e glicocorticóides, via alteração da captação e utilização de glicose nos tecidos hepático, muscular e adiposo (54,55).

Além disso, indivíduos podem ser mais susceptíveis ao ganho de peso após o consumo de dietas ricas em lipídios, em presença de polimorfismos genéticos das UCPs, descritas anteriormente por sua ação termogênica. A UCP-1 se localiza no tecido adiposo marrom, adquirindo importância especial durante os primeiros anos de vida, quando este tecido se apresenta em maiores concentrações. Em estudo realizado com crianças entre 8 a 11 anos, aquelas que continham o polimorfismo resultante da substituição de adenina por guanina na posição -386 (alelo GG) da região promotora do cromossomo 4, apresentaram uma TID menor que as crianças com presença de alelo AA + AG, após consumo de dieta rica em lipídios (70% do valor calórico total) (36,37). Em relação as UCPs 2 e 3, elas são expressas no tecido adiposo branco, no músculo esquelético e em outros tecidos (fígado, timo, pulmão, coração, rins), indicando que a regulação termogênica pelas UCPS também pode ocorrer na fase adulta e é difusa pelo organismo (54-55, 57). Em ratos a expressão das UCPs 2 e 3 estão elevadas em resposta à dieta rica em lipídios no cérebro e no músculo esquelético, respectivamente (57). Com relação à interação polimorfismo genético e fenótipo, a existência de polimorfismo genético na UCP-2 em humanos, representada pela substituição de guanina por adenina na posição -866 da região promotora do cromossomo 11, também está relacionada com maior risco para obesidade e hipertensão arterial. Sobre a UCP-3, as mutações existentes são de muito baixa frequência (56).

A composição da dieta tem forte poder modulador na resposta metabólica oxidativa e termogênica nos estados de jejum e pós-prandiais, mas em obesos essa resposta pode ser reduzida. Estudos, comparando a resposta oxidativa de indivíduos magros e obesos, relatam uma maior oxidação do lipídio após dieta rica em lipídios em magros, mas não em obesos (14-17, 20). Isso porque o GE é menor nos obesos, agindo como uma força que se opõe às alterações da dieta

(aumento do valor calórico em lipídios) e mantém a alta reserva de gordura corporal, por um balanço energético positivo (14, 20, 58). Em indivíduos obesos, a lipólise e a oxidação de lipídios via ação do SNS é reduzida pela redução do número e da sensibilidade dos  $\beta$ -adrenorreceptores (22,23). A participação de peptídeos na ativação do SNS sugere uma associação entre a composição corporal e a resposta metabólica (10,48,54). Em relação a TID, é mais significativo o número de estudos em que a mesma é menor em obesos e pós-obesos. Outros estudos ainda mostram uma forte correlação negativa entre a TID e a resistência insulínica e, as concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres, enquanto que as concentrações de leptina são positivamente associadas à TID (18-21). Estes dados suportam, portanto, a hipótese de que a TID, apesar de representar pequena proporção do GE total, tem papel relevante na patogênese da obesidade e da síndrome metabólica.

De acordo com os estudos apresentados e discutidos, a proteína é o macronutriente que proporciona maior GE, enquanto que o carboidrato parece ser o segundo macronutriente no GE, devido a sua ação no SNS e na liberação de hormônios relacionados a homeostase energética (insulina, leptina). O lipídio, portanto, tem fraco poder no GE, facilitando o acúmulo de gordura corporal, principalmente em indivíduos já obesos. Apesar disso, a modulação do tipo de lipídio a ser oferecido na intervenção dietoterápica pode ser uma alternativa interessante para minimizar o efeito deletério do lipídio.

### **Ingestão calórica e o papel dos macronutrientes**

Sendo a ingestão alimentar um dos componentes do balanço energético, faz-se necessário destacar os vários processos que estão intimamente ligados ao ato de se alimentar como a fome, saciação, saciedade e apetite. A fome é a força que leva ao ato de se alimentar, podendo se referir à sensação ou ao desejo conscientes de obter e comer alimentos (24,25). A saciação é o processo em que o período de alimentação é interrompido e a saciedade é o estado de inibição da alimentação que ocorre entre as refeições. O apetite, por sua vez, é o desejo físico e emocional por um alimento específico (24,59).

Uma diferença em torno dos sinais responsáveis por nosso comportamento alimentar gera um padrão alimentar baseado nas refeições. Estes sinais interferem em diferentes tempos após a ingestão alimentar. A saciedade sensorial específica reflete o processo precoce da saciedade, ou seja, é o momento em que há pouca influência da digestão e absorção de nutrientes na saciedade e as propriedades sensoriais específicas inibem a alimentação, principalmente por alimentos de características semelhantes (59,60). Esta fase da saciedade é uma resposta cefálica iniciada pela visão, aroma e sabor dos alimentos, em que os sinais são a salivação, resposta gástrica, secreção pancreática e eventos intestinais (24). Uma outra

etapa se inicia 20 a 30 minutos após o início da ingestão, ou seja, depende de mudanças pré-absortivas, como distensão gástrica, taxa de esvaziamento gástrico, liberação de hormônios (colecistocinina), estimulação do nutriente no trato gastrointestinal por meio de receptores fisioquímicos (24,33). A fase pós-absortiva da saciedade inclui mecanismos de ação de metabólitos após a absorção no intestino e sua entrada na corrente sanguínea como a glicose e aminoácidos, que podem agir diretamente no cérebro ou podem influenciar indiretamente, via neurônios aferentes pós-estimulação de quimiorreceptores ou, ainda, via modulação hormonal (insulina, ghrelina, leptina) (24,61). Deste modo, a influência dos macronutrientes na IC, por meio de mecanismos orosensoriais, pré e pós-absortivos, tem sido muito investigada.

Em relação aos mecanismos orosensoriais de saciedade dos macronutrientes, alguns investigadores sugerem que a palatabilidade tem grande efeito sobre a saciação, e não na saciedade, ou seja, a palatabilidade poderia interferir no consumo *ad libitum* durante a refeição, aumentando o apetite e modificando o perfil de alimentos ingeridos, mas não na IC, horas após a refeição (18,24,62). Entretanto, alguns estudos mostram que o estímulo orosensorial exerce grande influência na manutenção da refeição e no desenvolvimento da saciedade (30,59,63,64). A palatabilidade é associada a relações complexas entre respostas sensoriais aprendidas ou não do alimento e a preferências condicionais ao sabor e ao odor. Esta preferência a alimentos específicos, em humanos, é influenciada pelo conteúdo calórico, advindo de carboidratos e lipídios e não de proteína que é considerada pouco palatável (31,61). O sabor doce, principalmente, parece ter efeito na saciedade (30,62,65). Isto poderia nos levar a pensar que o uso de adoçantes artificiais diminuiria a IC e manteria a saciedade, mas isso não é verdade. A sacarina, a sucralose e o aspartame contribuem para o sabor doce nos alimentos, e somente são associados ao aumento da saciedade, quando acompanhados de conteúdo calórico (62,65). O intervalo entre as refeições é ainda associado positivamente com a carga de açúcar (30). Deste modo, não a palatabilidade *per se*, mas o sabor doce dos carboidratos simples, associado ao seu conteúdo calórico estimula a saciedade. O lipídio, por sua vez, não apresenta uma relação positiva entre a palatabilidade e a saciedade (30,66), o que sugere que esse macronutriente aumenta a IC por apresentar melhor palatabilidade e não ter efeito no intervalo entre as refeições.

Além de diferentes efeitos sensoriais, a proteína, o carboidrato e lipídio têm diferentes ações nos mecanismos pré e pós-absortivos da saciedade. Estudos mostram que pessoas têm menor fome, maior saciedade e apresentam menor IC após a ingestão de proteína, quando comparada à ingestão de carboidrato e lipídio (6,26-29). Dentre os processos envolvidos no maior poder sacietógeno da proteína destacam-se: 1) Sua menor palatabilidade em relação aos outros macronutrientes

e conseqüente IC reduzida; 2) A presença de quimiorreceptores no lúmen intestinal que são ativados pelos aminoácidos e promovem a saciedade por via aferente do nervo vago ao núcleo do trato solitário, localizado no hipotálamo; 3) Produção de neurotransmissores (serotonina, histamina) e de catecolaminas (dopamina, adrenalina e noradrenalina), dependente de aminoácidos precursores (histidina, triptofano, tirosina), que levam a uma redução na IC e um aumento no GE (61).

Em relação ao efeito do carboidrato e do lipídio na saciedade, alguns investigadores identificaram maior poder sacietógeno do carboidrato em relação ao lipídio (30, 32, 44). As hipóteses que justificam as diferenças entre esses macronutrientes na promoção da saciedade estão relacionadas à hierarquia dos mesmos na resposta oxidativa e termogênica. A teoria glicostática propõe, por exemplo, que a glicemia indica a quantidade de energia disponível ou necessária, em relação à utilização de glicose pelos tecidos, por meio de receptores glico-sensíveis em neurônios centrais (hipotálamo) e periféricos (nervo *vagus*) (44,67). Maiores taxas de utilização de glicose comparada aos seus estoques poderiam estimular a IC seguinte e, o inverso também (68), sendo a insulina sinal direto para saciedade (59). Esta teoria suporta a hipótese de que alimentos com alto índice glicêmico (IG) teriam maior efeito na saciedade que alimentos de baixo IG devido a maiores concentrações de glicose e liberação de insulina pós-prandiais (62). Entretanto a relação entre IG e saciedade deve ser avaliada com cuidado, pois o IG é uma unidade de medida específica para avaliar a resposta glicêmica de 50 g de carboidrato padrão (glicose ou pão branco) e não para dietas com diferentes proporções de carboidrato, proteína e lipídio. Além disso, outros mecanismos pré e pós-absortivos do carboidrato estão envolvidos no seu poder sacietógeno (cocção, conteúdo de fibras, tipos de carboidrato) (58,69).

Uma outra hipótese é que a diferença entre os macronutrientes em relação ao efeito na saciedade está associada diretamente ao seu efeito no gasto energético e oxidação pós-prandial. A proteína é o macronutriente mais termogênico e seu aumento obrigatório no metabolismo após ingestão de aminoácidos é mais fortemente relacionado com a saciedade que na ingestão de carboidrato, que por sua vez, é maior que na ingestão de lipídios. Em um estudo, as diferenças na área abaixo da curva de saciedade foram correlacionadas com diferenças na TID, maior e menor, para dietas hiperglicídicas e hiperlipídicas, respectivamente. (7) Desta forma, a hierarquia para a saciedade produzida pelos macronutrientes seria parcialmente relacionada com a hierarquia em que os estoques são regulados para disposição oxidativa. A relação pode ser direta ou causada pelo reflexo de outros eventos neuroendócrinos presentes (6,8,61).

Por outro lado, outros estudos não obtiveram efeitos do carboidrato e do lipídio significativamente diferentes (6,11).

Quando dietas ricas em de carboidrato e lipídio são oferecidas, apresentando mesma densidade calórica e palatabilidade, estas parecem não exercer uma resposta fisiológica suficiente para detecção na motivação de comer e saciedade (26,33,70). Ao mesmo tempo, em indivíduos com peso normal e em obesos, a densidade calórica e o volume das refeições oferecidas são positivamente relacionados ao retardo da saciação e à maior IC, sem causar alguma compensação na saciedade e, ou, na IC seguinte (64,71,72). Apesar do maior volume da refeição promover maior ingestão, em estudos em que o conteúdo calórico era idêntico em dieta com pequeno e grande volume, a saciedade foi maior para a última (73). Tais resultados indicam que o maior conteúdo calórico consumido em dietas com alta densidade calórica ou em refeições de grande volume

pode levar ao aumento da IC, independente da composição da dieta.

Deste modo, duas características dos alimentos ricos em gordura influenciam no seu fraco efeito inibitório durante a ingestão, nas refeições seguintes e na maior captação de energia: (1) São alimentos muito palatáveis, que pode causar um feedback positivo na alimentação (maior apetite) e, conseqüentemente menor saciação; (2) Aumentam a densidade calórica, o que leva a uma menor distensão gástrica, menor estimulação de mecanorreceptores e, conseqüente redução na saciedade.

A Tabela 2 mostra os principais resultados relacionados ao efeito da composição dieta na IC.

TABELA 2  
Principais resultados científicos sobre o papel dos macronutrientes da dieta na ingestão calórica

Autor (ano)	Amostra	Composição da dieta	Resultados
Crovetti et al. (6)	Mul E (n=10)	DRP (68%) vs. DRC (60%) vs. DRL (70%)	A saciedade foi maior para DRP Não houve diferença entre a saciedade de DRC e DRL
Fischer et al. (8)	Hom E (n=17)	400 kcal DRC (100% C) vs. DRP (100%P) vs. DRL (100% L)	Saciedade imediatamente após refeição maior e fome menor para DRP. Desejo de comer maior para DRL
Jonhstone et al. (26)	Hom E (n=6)	DRC (61%C/10%P/29%L) vs. DRP (34%C/37%P/28%L) vs. DRL (33%C/10%P/37%L)	A fome foi menor e a saciedade maior para DRP, seguida de DRC e DRL Não houve diferença na ingestão calórica seguinte.
Poppitt et al. (28)	Mul E (n=12)	DRC (68%C/11%P/21%L) vs. DRP (20%C/68%P/20%L) vs. DRL (21%C/11%P/68%L)	A saciedade foi maior para DRP Não houve diferença entre a saciedade de DRC e DRL
St-Onge et al. (50)	Hom E (n=20)	600 kcal DRCC(67%C-17%P-16%L) vs. DRS (67%S-17%P-16%L)	A saciedade foi maior e a IE seguinte foi menor para DRCC
Vozzo et al. (70)	Hom E (n=16)	720 kcal DRC (60%C/14%P/26%L) vs. DRP (44%C/29%P/27%L) vs. DRL (42%C/16%P/42%L)	Não houve diferença entre dietas para a ingestão calórica seguinte.

E: indivíduos eutróficos; Mul: mulheres; Hom: Homens; C: carboidrato; P: proteína; L: lipídio; A: álcool; S: Sacarose; DRC: dieta rica em carboidrato; DRP: dieta rica em proteína; DRL: dieta rica em lipídio; DRA: dieta rica em álcool; DRCC: Dieta rica em carboidrato complexo; DRS: dieta rica em sacarose.

Um dos maiores problemas na investigação da IC é a acurácia na medição da ingestão alimentar de indivíduos e população. O relato subestimado (quando ingestão calórica é menor que gasto energético calculado ou medido), de forma consciente ou inconsciente é reconhecidamente maior para indivíduos com sobrepeso ou obesos (74). Segundo Barkeling et al. (75), obesos apresentaram maiores escores para fome e desinibição para comer que indivíduos com peso normal em condições de vida livre. Por outro lado, quando avaliados em

laboratório, os escores para fome, sensação de plenitude gástrica foram menores para os obesos. A explicação para este comportamento é a inabilidade social, característica presente nos obesos e que está relacionada à dificuldade em relatar com veracidade a ingestão alimentar e as sensações de fome e saciedade. A relação inversa entre IMC e IC, não é apenas resultado de registros subestimados, mas também pode representar diferenças na atividade física, TID, capacidade oxidativa e substrato oxidado, presença de hábitos restritivos,

julgamentos sensoriais associados aos aspectos cognitivos (aprendizado, memória, crenças e conhecimento) (74,75). Obesos são mais responsivos a fatores externos como o horário do dia, presença do alimento e eventos situacionais e, menos sensíveis a fatores internos como os sinais fisiológicos de fome e saciedade (31).

Desta forma, vários fatores contribuem para os diferentes resultados encontrados quando se avaliam os efeitos da composição da dieta na ingestão e apetite. Dentre eles, pode-se citar a palatabilidade, o perfil de macronutrientes da dieta, a densidade calórica, o volume da refeição oferecida, o grau de conhecimento sobre o alimento que está sendo consumido, a interação dos efeitos da dieta com os hábitos alimentares das pessoas em estudo e as características dos indivíduos (idade, sexo, restrição alimentar, composição corporal).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

O gasto energético, em especial, os seus componentes relacionados à oxidação de substratos e à TID, é importante no controle do peso corporal, e sofre influência do conteúdo calórico e dos macronutrientes ingeridos.

Por outro lado, a composição da dieta também pode interferir na ingestão calórica pelo grau de palatabilidade e poder de saciação e saciedade que proporciona aos alimentos. O conteúdo calórico total, os tipos de carboidratos e lipídios, a densidade calórica e a palatabilidade do plano alimentar também devem ser considerados.

Apesar da existência de vários estudos com o objetivo de identificar a influência da composição da dieta em componentes do metabolismo energético e na ingestão calórica, bem como a interação destas variáveis na homeostase energética, as diferenças entre os efeitos do carboidrato, proteína e lipídio e os mecanismos envolvidos não estão totalmente esclarecidos. As diferenças metodológicas (dieta, protocolo, tempo do estudo, características dos participantes) podem ser uma possível explicação para tais controvérsias. Desta forma, são necessários mais estudos para identificar os mecanismos e a magnitude dos efeitos dos macronutrientes no balanço energético para prevenção e controle da obesidade por meio de uma intervenção dietética adequada.

### AGRADECIMENTOS

Nossa equipe agradece a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado e, a FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais), pelo financiamento do projeto de pesquisa.

### REFERÊNCIAS

1. Schutz Y. Macronutrient and energy balance in obesity. *Metabolism* 1995; 44 (9Suppl3):7-11.
2. Arvaniti K, Richard D, Tremblay A. Reproducibility of energy and macronutrient intake and related substrate oxidation rates in a buffet-type meal. *Br J Nutr* 2000; 83(5):489-95.
3. Maffei C, Schutz Y, Chini L, Grezzani A, Piccoli R, Tato L. Effects of dinner composition on postprandial macronutrient oxidation in prepubertal girls. *Obes Res* 2004; 12(7): 1128-34.
4. Jonge L, Bray GA. The thermic effect of food and obesity: a critical review. *Obes Res* 1997; 5(6):622-31.
5. Labayen I, Martínez JA. Distribución de macronutrientes de la dieta y regulación del peso y composición corporal: papel de la ingesta lipídica en la obesidad. *An Sist Sanit Navar* 2002; 25 (Suppl.1):79-90.
6. Crovetti R, Porrini M, Santangelo A, Testolin G. The influence of thermic effect of food on satiety. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52(7):482-8.
7. Westerterp-Plantenga MS, Rolland V, Wilson SAJ, Westerterp KR. Satiety related to 24 h diet-induced thermogenesis during high protein/carbohydrate vs high fat diets measured in a respiration chamber. *Eur J Clin Nutr*. 1999; 53(6):495-502.
8. Fischer K, Colombani PC, Wenk C. Metabolic and cognitive coefficients in the development of hunger sensations after pure macronutrient ingestion in the morning. *Appetite* 2004; 42(1):49-61.
9. Labayen I, Forga L, Martínez JA. Nutrient oxidation and metabolic rate as affected by meals containing different proportions of carbohydrate and fat, in healthy young women. *Eur J Nutr* 1999; 38(3):158-166.
10. Tentolouris N, Tsigos C, Perea D, Koukou E, Kyriaki D, Kitsou E, Daskas S, Daifotis Z, Makriakis K, Raptis AS, Katsilambros N. Differential effects of high-fat and high-carbohydrate isoenergetic meals on cardiac autonomic nervous system activity in lean and obese women. *Metabolism* 2003;52(11):1426-32.
11. Raben A, Agerholm-Larsen L, Flint A, Holst JJ, Astrup A. Meals with similar energy densities but rich in protein, fat, carbohydrate, or alcohol have different effects on energy expenditure and substrate metabolism but not on appetite and energy intake. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(1):91-100.
12. 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(3):1475-82.
13. LeBlanc J, Labrie A. A possible role of palatability of the food in diet-induced thermogenesis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21(12):1100-3.
14. Weinsier RL, Nelson KM, Hensrud DD, Darnell BE, Hunter GR, Schutz Y. Metabolic Predictors of Obesity. Contribution of resting energy expenditure, thermic effect of food, and fuel utilization to four-year weight gain of post-obese and never-obese women. *J Clin Invest* 1995; 95(3):980-5.
15. Buemann B, Toubro S, Astrup A. Substrate oxidation and thyroid hormone response to the introduction of a high fat diet in formerly obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22(9):869-77.

16. Colling J, Blundell J. Differences in energy expenditure and substrate oxidation between habitual high fat and low fat consumers. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22(7):612-8.
17. Blaak EE, Hul G, Verdich C, Stich V, Martinez A, Petersen M et al. Fat oxidation before and after a high fat load in the obese insulin-resistant state. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(4):1462-9.
18. Weststrate JA. Resting metabolic rate and diet-induced thermogenesis: a methodological reappraisal. *Am J Clin Nutr* 1993; 58:592-601.
19. Mourão DM, Monteiro JBR, Hermsdorff HHM, Leite MCT. Alimentos modificados e suas implicações no metabolismo energético. *Rev Nutr* 2005; 18(1):19-28.
20. Blaak EE, Hul G, Verdich C, Stich V, Martinez JA, Petersen M et al. Impaired fat-induced thermogenesis in obese subjects: The NUGENOB Study. *Obes*. 2007; 15(3):653-63.
21. Marrades MP, Martinez JA, Moreno-Aliaga MJ. Differences in short-term metabolic responses to a lipid load in lean (resistant) vs. obese (susceptible) young male subjects with habitual high-fat consumption. *Eur J Clin Nutr*. 2007; 61(2):166-74.
22. Schiffelers SLH, Saris WHM, Boomsma F, van Baak MA.  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2- adrenoceptor-mediated thermogenesis and lipid utilization in obese and lean men. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(5):2191-9.
23. Buijs MM, Burggraaf J, Wijbrandts C, de Kam ML, Frölich, M, Choen AF et al. Blunted lipolytic response to fasting in abdominally obese women: evidence for involvement of hypsomatotropism. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(3):544-50.
24. Blundell JE. Appetite disturbance and the problems of overweight. *Drugs* 1990; 39 (Suppl 3):1-19.
25. Hetherington MM. The physiological-psychological dichotomy in the study of food intake. *Proc Nutr Soc* 2002; 61(4):497-507.
26. Johnstone AM, Stubbs RJ, Harbron CG. Effects of overfeeding macronutrients on day-to-day food intake in man. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50(7):418-30.
27. Doucet E, Tremblay A. Food intake, energy balance and body weight control. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51(12):849-55.
28. Poppitt SD, McCormack D, Buffenstein R. Short-term effects of macronutrient preloads on appetite and energy intake in lean women. *Physiol Behav* 1998; 64(3):279-85.
29. Johnston CS, Day CS, Swan PD. Postprandial thermogenesis is increased 100% on a high-protein, low-fat diet versus a high-carbohydrate, low-fat diet in healthy, young women. *J Am Coll Nutr* 2002; 21(1): 55-61.
30. Woodend DM, Anderson GH. Effect of sucrose and safflower oil preloads on short term appetite and food intake of young men. *Appetite* 2001; 37(3):185-95.
31. Ulijaszek SJ. Human eating behaviour in an evolutionary ecological context. *Proc Nutr Soc* 2002; 61(4):517-26.
32. Rumpler WV, Kramer M, Rhodes DG, Paul DR. The impact of the covert manipulation of macronutrient intake on energy intake and the variability in daily food intake in nonobese men. *Int J Obes* 2006; 30(5):774-81.
33. Rolls BJ, Bell EA. Intake of fat and carbohydrate: role of energy density. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53(Suppl 1):S166-73.
34. Chwalibog A, Thorbek G. Energy expenditure and oxidation of carbohydrate and fat in humans during day and night. *Thermochimica Acta* 2002; 394:247-52.
35. Blundell JE, Cooling J, King NA. Differences in postprandial responses to fat and carbohydrate loads in habitual high and low fat consumers (phenotypes). *Br J Nutr* 2002; 88(2):125-32.
36. Nagai N, Sakane N, Ueno LM, Hamada T, Moritani T. The -3826 A-G variant of the uncoupling protein-1 gene diminishes postprandial thermogenesis after a high fat meal in healthy boys. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(12):5661-7.
37. Sparks LM, Xie H, Koza RA, Mynatt R, Hulver MW, Bray GA et al. A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. *Diabetes* 2005; 54(7):1926-33.
38. Kamphuis MM, Mela DJ, Westerterp-Platenga MS. Diacylglycerols affect substrate oxidation and appetite in humans. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(5):1133-9.
39. Taguchi H, Watanabe J, Onizawa K, Nagao T, Gotoh N, Yasukawa T et al. Double-blind controlled study on the effects of dietary diacylglycerol on postprandial serum and chylomicron triacylglycerol responses in healthy humans. *J Am Coll Nutr* 2000; 19(6):789-96.
40. Yamamoto K, Asakawa J, Tokunaga K, Watanabe H, Matsuo N, Tokimitsu I et al. Long-term ingestion of dietary diacylglycerol lowers serum triacylglycerol in type II diabetic patients with hypertriglyceridemia. *J Nutr* 2001; 131(12):3204-7.
41. Nagao T, Watanabe H, Goto N, Onizawa K, Taguchi H, Matsuo N et al. Dietary diacylglycerol suppresses accumulation of body fat compared to triacylglycerol in men a double-blind controlled trial. *J Nutr* 2000; 130(4):792-7.
42. Bendixen H, Flint A, Raben A, Hoy Carl-Erik, Mu H, Xu Xuebing, Bartles EM, Astrup A. Effect of 3 modified fats and a conventional fat on appetite, energy intake, energy expenditure, and substrate oxidation in healthy men. *Am J Clin Nutr* 2002; 75(1):47-56.
43. St-Onge MP, Jones PJH. Greater rise in fat oxidation with medium-chain triglyceride consumption relative to long-chain triglyceride is associated with lower initial body weight and greater loss of subcutaneous adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27(12):1565-71.
44. Van Wymelbeke V, Louis-Sylvestre J, Fantino M. Substrate oxidation and control of food intake in men after a fat-substitute meal compared with meal supplemented with an isoenergetic load of carbohydrate, long-chain triacylglycerols or medium-chain triacylglycerols. *Am J Clin Nutr* 2001; 74(5):620-30.
45. Tappy L. Thermic effect of food and sympathetic nervous system activity in humans. *Reprod Nutr Dev* 1996; 36:391-7.
46. Hermsdorff HHM, Monteiro JBR, Mourão DM, Leite MCT. Termogênese induzida pela dieta: uma revisão sobre seu papel no balanço energético e no controle de peso. *Rev Bras Nutr Clin* 2003; 18(1):37-41.
47. Marques-Lopes I, Forga L, Martinez JA. Thermogenesis induced by a high-carbohydrate meal in fasted lean and overweight Young men: insulin, body fat, and sympathetic nervous system involvement. *Nutrition* 2003; 19(1):25-29.

48. Suen VMM, Silva GA, Tannus AF, Unamuno MRDL, Marchini JS. Effect of hypocaloric meals with different macronutrient compositions on energy metabolism and lung function in obese women. *Nutrition* 2003; 19(9):703-7.
49. Raben A, Macdonald I, Astrup A. Replacement of dietary fat by sucrose or starch: Effects on 14d ad libitum energy intake, energy expenditure and body weight in formerly obese and never-obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21(10):846-59.
50. St-Onge MP, Rubiano F, DeNino WF, Jones A Jr, Greenfield D, Ferguson PW et al. Added thermogenic and satiety effects of a mixed nutrient vs a sugar-only beverage. *Int J Obes Metab Disord* 2004; 28(2):248-53.
51. Hashkes PJ, Gartside PS, Blondheim SH. Effect of food palatability on early (cephalic) phase of diet-induced thermogenesis in nonobese and obese man. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21(7):608-13.
52. Sawaya AL, Fuss PJ, Dallal GE, Tsay R, McCrory MA, Young V, Roberts SB. Meal palatability, substrate oxidation and blood glucose in young and older men. *Physiol Behav* 2001; 72(1-2):5-12.
53. Tittelbach TJ, Mattes RD. Effect of orosensory stimulation on postprandial thermogenesis in humans. *Physiol Behav* 2002; 75:71-81.
54. Janský P, Janský L. Sites and cellular mechanisms of human adrenergic thermogenesis- a review. *J Therm Biol* 2002; 27:269-77.
55. Schwartz MW, Baskin DG, Kaiyala KJ, Woods SC. Model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. *Am J Clin Nutr* 1999; 69(4):584-96.
56. Reyes JGG, Mier GM, Rivera AZ, Zúñiga AS. Genómica nutricional y obesidad. *Rev Endocrinol Nutr*. 2006; 14(4):247-56.
57. Fisler JS, Warden CH. Uncoupling proteins, dietary fat and the metabolic syndrome. *Nutr Metab*. 2006; 3:38.
58. Hirsch J, Hudgins LC, Leibel RL, Rosebaum M. Diet composition and energy balance in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67(3 Suppl):S551-5.
59. Reid M, Hetherington M. Relative effects of carbohydrates and protein on satiety- a review of methodology. *Neurosci Biobehav Rev* 1997; 21(3):295-308.
60. Snoek HM, Huntjens L, van Gemert LJ, Graaf C, Weenen H. Sensory-specific satiety in obese and normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 2004; 80(4):823-31.
61. Tome D. Protein, amino acids and the control of food intake. *Br J Nutr* 2004; 92(Suppl 1): 27-30S.
62. Poothullil JM. Role of oral sensory signals in determining meal size in lean women. *Nutrition* 2002; 18(6):479-83.
63. Anderson GH, Woodend D. Consumption of sugars and the regulation of short-term satiety and food intake. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(4):S843-9.
64. McCrory MA, Saltzman E, Rolls BJ, Roberts SB. A twin of the effects of energy density and palatability on energy intake of individual foods. *Physiol Behav* 2006; 87(3):451-9.
65. Mitchell CP, Flaherty CF. Differential effects of removing the glucose or saccharin components of a glucose-saccharin mixture in a successive negative contrast paradigm. *Physiol Behav* 2005; 84(4):579-83.
66. Ronbison TM, Gray RW, Yeomans MR, French SJ. Test-meal palatability alters the effects of intragastric fat but not carbohydrate preloads on intake and rated appetite in healthy volunteers. *Physiol Behav* 2005; 84(2):193-203.
67. Flatt JP. The difference in the storage capacities for carbohydrate and for fat, and its implication in the regulation of body weight. *Ann NY Acad Sci* 1987;499:104-23.
68. Mayer J. Glucostatic mechanism of regulation of food intake. *New Engl J Med* 1953; 249; 13-16.
69. Saris WH, Foster GD. Simple carbohydrates and obesity: Fact, Fiction and Future. *Int J Obes*. 2006; 30(Suppl 3):S1-3.
70. Vozzo R, Wittert G, Cocchiario C, Tan WC, Mudge J, Fraser R, Chapman I. Similar effects of foods high in protein, carbohydrate and fat on subsequent spontaneous food intake in healthy individuals. *Appetite* 2003; 40(2):101-7.
71. Bell EA, Rolls BJ. Energy density of foods affects energy intake across multiple levels of fat content in lean and obese women. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(6):1010-8.
72. Rolls B, Morris EL, Roe LS. Portion size of food affects energy intake in normal-weight and overweight men and women. *Am J Clin Nutr* 2002; 76(6):1207-13.
73. Mourão DM, Monteiro JBR, Hermsdorff HHM, Leite MCT. Effects of Modified Foods on Appetite of Overweight Men. *Rev Bras Nutr Clin* 2004; 19(2):47-53.
74. Bolton-Smith C, Woodward M. Dietary composition and fat to sugar ratios in relation to obesity. *Int J Obes* 1994; 18(12):820-8.
75. Barkeling B, Rössner S, Sjöberg A. Methodological studies on single meal food intake characteristics in normal weight and obese men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19(4):284-90.

Recibido: 29-09-2006

Aceptado: 02-04-2007

## Instrumentos de inquérito dietético utilizados na avaliação do consumo alimentar em adolescentes: comparação entre métodos

*Kiriaque Barra Ferreira Barbosa, Lina Enriqueta F. P. de Lima Rosado, Sylvia do Carmo Castro Franceschini, Silvia Eloiza Priore*

Universidade Federal de Viçosa (UFV), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Brasil

**RESUMO.** Diante das dificuldades existentes em torno do processo de avaliação do consumo alimentar, especificamente na adolescência, o presente estudo se propôs a comparar diferentes instrumentos de inquérito dietético utilizados no grupo etário em questão. Tal estudo foi realizado com 60 adolescentes, do sexo feminino, entre 14 e 18 anos de idade. Foram aplicados o 3 repetições do Recordatório de 24 Horas (R24H), Registro Alimentar de três dias (RA) e Lista de Compras (LC): da Família (LCF) e do Adolescente (LCA). Os R24H e RA mostraram boa reprodutibilidade, sendo possível inferir que uma única aplicação do R24H ou RA foi capaz de refletir a média (ou mediana) de ingestão do grupo populacional estudado. A utilização LC permitiu o conhecimento da disponibilidade de alimentos no contexto em que o indivíduo se insere. Todos os instrumentos dietéticos são passíveis de erros, assim a escolha do mais adequado deve se basear nos propósitos do estudo, bem como, na população estudada.

**Palavras-chaves:** Adolescência, consumo de alimentos, inquérito sobre dieta.

**SUMMARY.** Dietary records used for food consumption evaluation in adolescents: comparison among methods. Given the difficulties surrounding evaluating food consumption, specifically during adolescence, the goal of the present study was to compare different dietary assessment instruments used for this age group. The study was carried out with a group of 60 female adolescents between 14 and 18 years of age. Three repetitions of 24-Hour Recall, three-day Dietary Records and Purchase List of the adolescents and their families were collected. The 24 Hour Recall and Dietary Records had good repeatability, allowing to infer that only one application of one of these instruments was capable of reflecting the ingestion average (or median) of the study population group. The Purchase List allowed us to know the food availability within the context of the individual's conditions. All dietary assessment instruments may contain errors, therefore the choice of the most adequate method must rely on the objectives of the study being developed, as well as the study population.

**Keywords:** Adolescence, food intake, food records.

### INTRODUÇÃO

Diante do pressuposto da existência de associação entre consumo alimentar na infância e adolescência e a crescente prevalência de doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta, justifica-se o interesse em se estudar a avaliação do consumo alimentar neste grupo etário (1). É impossível avaliar o consumo alimentar sem erros, já que estes são inerentes aos indivíduos, bem como ao método escolhido para a avaliação (2).

A principal característica do consumo alimentar de indivíduos ou populações sadias é a variabilidade da dieta, ou seja, a variação do consumo de alimentos existente entre os indivíduos (variabilidade interindividual) e num mesmo indivíduo, em relação ao dia-a-dia (variabilidade intraindividual) (3). Além da variabilidade da dieta, a estimativa do consumo alimentar também é influenciada pelas variações decorrentes do próprio processo de avaliação, desde a obtenção das informações relatadas pelos indivíduos até a compilação dos dados. Entre tais variações destacam-se a padronização inadequada de medidas caseiras na aplicação de instrumentos de inquérito dietético, falta de treinamento dos entrevistadores, viés de memória referente ao entrevistado,

estimativas errôneas do tamanho e da frequência das porções consumidas, tendência a superestimação e/ou subestimação do relato da ingestão de alimentos e má qualidade dos dados das tabelas de composição química de alimentos (4).

Visto às dificuldades metodológicas concernentes à avaliação do consumo alimentar, não existe um instrumento de inquérito dietético ideal, sendo que para escolha do instrumento mais adequado é necessário se considerar os propósitos do estudo, bem como, a população estudada (5).

A adolescência, por ser um período típico, para a formação e consolidação dos hábitos alimentares, tem aspectos característicos referentes ao comportamento alimentar. Cabe ressaltar que diante de tais peculiaridades, seria necessária maior atenção para a realização de estudos, neste grupo etário específico. Crianças e adolescentes têm dificuldade e muitas vezes são incapazes de estimar corretamente o tamanho das porções consumidas (6-10).

Considerando as dificuldades existentes em torno do processo de avaliação do consumo alimentar, especificamente na adolescência, o presente estudo se propôs a comparar diferentes instrumentos de inquérito dietético utilizados no grupo etário em questão.

## MATERIAL E MÉTODOS

A população estudada foi constituída de 60 adolescentes do sexo feminino, entre 14 e 18 anos de idade, estudantes de um Colégio Específico, vinculado à Universidade Federal de Viçosa. O município de Viçosa está localizado na região da Zona da Mata no estado de Minas Gerais, Brasil.

As participantes do estudo foram selecionadas com base em dois critérios de inclusão: já terem apresentado a menarca há pelo menos um ano (11) e morarem em Viçosa, acompanhadas da família. Tais critérios foram estabelecidos visando promover maior homogeneidade da amostra e evitar a interferência nos resultados da avaliação dietética, respectivamente.

Para a avaliação do consumo alimentar, foram utilizados o Recordatório de 24 Horas (R24H), Registro Alimentar (RA) e Lista de Compras (LC). Na aplicação do R24H, as adolescentes foram orientadas a relatarem todos os alimentos sólidos e líquidos, com exceção da água, consumidos no dia anterior, registrando-se as quantidades em medidas caseiras, comerciais ou unidades. O R24H foi aplicado em três momentos com intervalo de aproximadamente quinze dias, utilizando a média entre as três aplicações (XR24H) para contemplar a média de ingestão do grupo populacional estudado (3,4).

Quanto ao RA, foi requisitado às participantes do estudo que anotassem em formulários próprios, o que foi consumido ao longo do dia. Tal procedimento foi realizado em dois dias não consecutivos (de segunda a sexta-feira) e em um dia de final de semana (sábado ou domingo). A média dos três RA (XRA) foi utilizada para refletir a média de ingestão do grupo populacional estudado (4).

A lista de compras da família (LCF) foi aplicada junto a própria adolescente, orientado-a a obter com os responsáveis pela compra dos alimentos, informações quanto à quantidade mensal de gêneros alimentícios adquiridos pela família. Tais informações foram obtidas por meio dos cupons fiscais referentes à compra dos alimentos pela família ou da estimativa da quantidade e frequência de alimentos adquiridos, feita pelos responsáveis pela compra (12). Para o cálculo da quantidade de alimento disponível para o consumo per capita diário, dividiu-se a quantidade mensal de alimentos comprados pelo número de moradores da casa e pelo número de dias do respectivo mês (13).

A lista de compras do adolescente (LCA) consistiu em informações referentes à quantidade e frequência dos alimentos que ele próprio comprava, sendo que tais alimentos foram somados à quantidade per capita de alimentos obtida pela LCF, obtendo a quantidade total de alimentos consumidos pelo adolescente dentro e fora do domicílio (LCF + LCA).

Por meio das informações referentes à disponibilidade de alimentos, obtidas pela aplicação da lista da LCF, analisaram-se as quantidades disponíveis para o consumo de óleo, açúcar

e sal, comparando-se a quantidade disponível para o consumo per capita destes gêneros alimentícios com a quantidade recomendada para o consumo (13). Foram estabelecidas como adequadas as quantidades per capita diárias propostas pelo guia da pirâmide alimentar adaptada à população brasileira, sendo 2 colheres de sopa de óleo (16 mL) e açúcar (56g) (14) e I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica; sendo 6g de sal por dia (15).

Em relação à LC, ocorreram perdas amostrais, pois nem todas as adolescentes fizeram a estimativa, junto aos responsáveis pela compra dos alimentos, da quantidade mensal de gêneros alimentícios adquiridos no seu domicílio. Dessa forma, para tal instrumento (LCF isolada e LCF+LCA), trabalhou-se com uma amostra de 41 adolescentes (68,3% da população estudada). Entre estas, aquelas que não especificaram a quantidade e/ou a frequência de compra de um determinado alimento citado, teve o consumo de tal alimento desconsiderado. Assim, em relação à análise da quantidade disponível para o consumo per capita de óleo, açúcar e sal, trabalhou-se com amostras de 33 (80,4%), 35 (85,3%) e 19 (46,3%), respectivamente.

Considerando que a forma de coleta de dados e as técnicas de entrevista influenciam a qualidade dos resultados obtidos, foram adotados alguns cuidados metodológicos em torno dos instrumentos de inquérito dietético aplicados. Entre tais cuidados, pode-se citar a utilização de recursos visuais para auxiliar na estimativa da quantidade de alimentos e das porções referidas mediante a aplicação do R24H, e nas orientações para o preenchimento dos formulários do RA; a padronização utilizada para a conversão das medidas caseiras e/ou unidades relatadas pelos entrevistados em pesos e volumes, utilizando-se as informações da tabela de medidas caseiras (16); a aplicação de todos os instrumentos de inquérito dietético por um único observador.

A tabela de medidas caseiras se constitui em padronizações de receitas propostas por Pinheiro *et al.* (16), tal tabela foi utilizada no sentido de desmembrar as preparações caseiras citadas pelos adolescentes em seus respectivos ingredientes, a fim de melhor classificar os alimentos segundo os grupos da pirâmide alimentar e converter as quantidades citadas em pesos e volumes. O cálculo da composição química dos alimentos consumidos foi realizado utilizando-se o programa *Diet Pró*® (versão 3.0) (17), com banco de dados de alimentos adaptado, acrescentando-se as informações da composição química dos alimentos da industrializados, obtidas a partir das informações nutricionais disponíveis nos seus rótulos e/ou serviços de atendimento ao consumidor (SAC).

Em relação aos alimentos da lista de compras do adolescente, esta foi construída com base nos alimentos vendidos na cantina do Colégio, no qual houve a seleção das adolescentes que participaram deste estudo e também considerando os alimentos mais comumente consumidos,

pelos adolescentes do município de Viçosa, com base nos dados de adolescentes assistidos por serviço de saúde específico (Programa de Atenção à Saúde do Adolescente - PROASA), da Universidade Federal de Viçosa. As listas construídas foram testadas antes do início do processo da coleta de dados. Tal pré-teste foi realizado reproduzindo a mesma metodologia do presente estudo. Este procedimento foi realizado no sentido de verificar se as listas construídas eram adequadas ao grupo do estudo.

As adolescentes só participaram do estudo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos pais ou responsáveis.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Universidade Federal de Viçosa.

Utilizaram-se os testes estatísticos não paramétricos, de

Kruskall-Wallis e o procedimento de comparações múltiplas de Dunn's. O nível de significância foi  $\alpha < 5\%$ .

## RESULTADOS

Nas Tabelas 1 e 2, verifica-se a ingestão energética e de nutrientes avaliada pelas três aplicações isoladas do R24H e RA, respectivamente, bem como, pela média dos mesmos (XR24H e XRA). Independente do instrumento de inquérito dietético utilizado (R24H ou RA), não se observou diferença entre as aplicações isoladas, para nenhum dos nutrientes avaliados. Comparando-se a média de ingestão do grupo populacional estudado (XR24H e XRA) com cada uma das aplicações isoladas dos mesmos, também não se observou diferença para nenhum dos nutrientes avaliados.

TABELA 1

Comparação entre as três aplicações isoladas do Recordatório de 24 Horas (R24H1, R24H2 e R24H3) e a média entre elas (XR24H), em adolescentes do sexo feminino, entre 14 e 18 anos de idade, residentes no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil no ano de 2005

	R24H1		R24H2		R24H3		XR24H		p‡
	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	
Caloria (Kcal)	2128,60 ± 736,58	1975,66	2035 ± 630,70	1932,04	2108,47 ± 596,30	2060,40	2090,93 ± 523,59	2035,87	0,850
Carboidrato (g)	267,53 ± 82,96	253,66	276,39 ± 100,60	262,85	283,59 ± 92,62	264,44	275,83 ± 65,48	266,56	0,713
Proteína (g)	79,89 ± 29,69	72,58	27,45 ± 27,45	74,27	79,42 ± 29,67	74,90	78,46 ± 21,04	74,36	0,890
Lipídio (g)	79,98 ± 40,07	72,18	71,45 ± 27,90	70,53	75,66 ± 32,73	71,41	75,70 ± 27,68	71,07	0,831
Cálcio (mg)	687,34 ± 344,17	656,21	621,51 ± 306,70	59,81	639,51 ± 413,72	541,32	649,45 ± 263,82	604,75	0,449
Ferro (mg)	12,56 ± 4,96	12,24	14,96 ± 25,17	11,03	12,72 ± 4,70	12,49	13,42 ± 8,79	12,05	0,473

\* Média, Desvio Padrão (n=60) † Mediana (n=60)

‡ Teste de Kruskal-Wallis com nível de significância de 5% (p<0,05)

TABELA 2

Comparação entre os três Registros Alimentares (RA1, RA2 e RA3) e a média entre eles (XRA), em adolescentes do sexo feminino, entre 14 e 18 anos de idade, residentes no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil no ano de 2005

	RA1		RA2		RA3		XRA		p‡
	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	
Caloria (Kcal)	2116,04 ± 619,23	2067,31	2147,35 ± 629,02	2081,10	2146,54 ± 839,91	2072,36	2136,64 ± 548,21	2087,85	0,962
Carboidrato (g)	289,50 ± 87,46	275,01	293,84 ± 97,53	281,61	284,86 ± 107,46	272,26	289,40 ± 74,41	292,91	0,992
Proteína (g)	76,05 ± 29,05	74,74	79,59 ± 24,99	79,27	73,34 ± 30,85	71,31	76,31 ± 20,70	74,18	0,628
Lipídio (g)	73,65 ± 30,08	72,61	72,75 ± 29,07	68,23	78,57 ± 43,56	74,95	74,99 ± 25,38	69,44	0,939
Cálcio (mg)	694,19 ± 360,91	616,97	677,23 ± 323,57	595,38	677,14 ± 441,09	641,18	682,85 ± 284,78	642,75	0,956
Ferro (mg)	22,61 ± 55,38	12,54	16,11 ± 25,16	11,98	11,54 ± 4,78	11,53	16,75 ± 26,12	11,78	0,293

\* Média, Desvio Padrão (n=60) † Mediana (n=60)

‡ Teste de Kruskal-Wallis com nível de significância de 5% (p<0,05)

Na Tabela 3 verifica-se a ingestão energética e de nutrientes avaliada por meio da XR24H, XRA, avaliação da disponibilidade per capita de alimentos obtida pela soma das LCF+LCA e LCF isolada. Para o carboidrato, houve diferença da ingestão obtida pela LCF+LCA quando comparada à obtida pela XR24H. Para

proteína e ferro, além da ingestão obtida pela LCF+LCA, a ingestão obtida pela LCF isolada, também se diferenciou da obtida pela XR24H. Observou-se ainda, que a ingestão de proteína e ferro obtida pela LCF isolada e LCF+LCA, se diferenciou também da ingestão obtida pela XRA.

TABELA 3

Comparação entre a média das três aplicações do Recordatório de 24 Horas (XR24H), média dos três Registros Alimentares (XRA), soma da Lista de Compras da Família e Adolescente (LCF + LCA) e Lista de Compras da Família (LCF), em adolescentes do sexo feminino, entre 14 e 18 anos de idade, residentes no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil no ano de 2005

	XR24H		XRA		LCF + LCA		LCF		p‡
	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	X ± DP*	Mi†	
Caloria (Kcal)	2090,93 ± 523,59 <sup>a</sup>	2035,87	2136,64 ± 548,21 <sup>a</sup>	2087,85	2323,61 ± 776,67 <sup>a</sup>	2238,79	1930,03 ± 692,63 <sup>a</sup>	1867,80	0,101
Carboidrato (g)	275,83 ± 65,48 <sup>a</sup>	266,56	289,40 ± 74,41 <sup>a,b</sup>	292,91	339,83 ± 121,36 <sup>b</sup>	318,47	282,20 ± 109,95 <sup>a,b</sup>	260,27	0,033**
Proteína (g)	78,46 ± 21,04 <sup>a</sup>	74,36	76,33 ± 20,70 <sup>a</sup>	74,18	64,76 ± 32,26 <sup>b</sup>	59,98	58,35 ± 31,65 <sup>b</sup>	51,21	<0,001**
Lipídio (g)	75,70 ± 27,68 <sup>a</sup>	71,07	74,99 ± 26,38 <sup>a</sup>	69,44	77,13 ± 36,64 <sup>a</sup>	73,70	61,67 ± 30,19 <sup>a</sup>	57,00	0,074
Cálcio (mg)	694,45 ± 263,82 <sup>a</sup>	604,75	682,85 ± 284,78 <sup>a</sup>	642,75	593,33 ± 377,14 <sup>a</sup>	495,88	548,57 ± 367,75 <sup>a</sup>	486,72	0,073
Ferro (mg)	13,42 ± 8,79 <sup>a</sup>	12,05	16,75 ± 26,12 <sup>a</sup>	11,76	8,02 ± 7,62 <sup>b</sup>	6,07	7,43 ± 7,62 <sup>b</sup>	6,07	<0,001**

\* Média, Desvio Padrão (XR24H e XRA, n=60; LCF+LCA e LCF, n=41)

† Mediana (XR24H e XRA, n=60; LCF+LCA e LCF, n=41)

‡ Teste de Kruskal-Wallis com nível de significância de 5% (p<0,05)

\*\* Teste de Comparações Múltiplas de Dunn's, letras diferentes na mesma linha, indicam diferença estatística entre médias ao nível de 5% de significância (p<0,05)

Em relação à LCF isolada, na tabela 4, observou-se que (33) 80,4%, (35) 85,3% e (19) 46,3% das adolescentes nas quais foi aplicado tal instrumento (n=41), especificavam adequadamente a compra familiar de óleo, açúcar e sal, respectivamente. Comparando-se a quantidade disponível para o consumo per capita destes gêneros alimentícios e a quantidade recomendada para o consumo, pôde-se observar que para óleo e sal, a mediana da quantidade comprada e provavelmente consumida, supera a mediana da quantidade recomendada. Tal situação é reforçada na tabela 5, verificando-se que entre os indivíduos que relatavam a compra dos alimentos em questão, 78,8% e 73,7%, mostravam quantidade disponível para o consumo acima da recomendada para óleo e sal, respectivamente.

## DISCUSSÃO

Os instrumentos para avaliação do consumo alimentar podem ser classificados em dois grupos: aqueles que avaliam o consumo atual (Recordatório de 24 Horas e Registro Alimentar) e aqueles que são freqüentemente utilizados para avaliar o consumo habitual (Questionários de Freqüência Alimentar) (4).

Willett (3) assinala que em função da grande variabilidade diária da ingestão de alimentos, existe diferença considerável entre consumo alimentar atual e habitual. Neste sentido, acrescenta que o conhecimento do consumo alimentar habitual seria de grande importância, refletindo o consumo mais próximo do verdadeiro, ou seja, a medida de interesse.

Partindo do exposto, o melhor instrumento para a avaliação do consumo alimentar seria o Questionário de Freqüência Alimentar. No entanto, sua utilização requer uma validação

prévia para a população específica na qual será aplicado. Neste sentido, surge importante limitação para os estudos de avaliação do consumo alimentar, uma vez que o processo de validação consiste em comparar os resultados obtidos pelo instrumento que se quer testar com os de um método que ofereça avaliação exata do consumo alimentar.

É bem evidenciado, segundo Beaton *et al.* (5) e Willett (3) que não existe um método que ofereça avaliação exata do consumo alimentar, já que todos são passíveis de erros. Assim, uma alternativa para a avaliação do consumo alimentar habitual seria a média de repetidas aplicações de instrumentos de inquérito dietético que avaliam o consumo atual (18,19).

Outra característica importante a ser analisada na verificação da qualidade dos resultados obtidos por instrumento de inquérito dietético se refere à reprodutibilidade, que seria a capacidade do instrumento de reproduzir os mesmos resultados em condições semelhantes de aplicação (3).

No presente estudo, o fato de não ter havido diferenças entre as três aplicações isoladas do R24H e RA para energia e nenhum dos nutrientes avaliados (Tabelas 1 e 2), mostra boa reprodutibilidade dos dados. É também de extrema importância relatar que se comparando a XR24H e XRA com as aplicações isoladas dos mesmos, não houve diferença para nenhum dos nutrientes avaliados (Tabelas 1 e 2), sendo possível inferir que, na população do presente estudo, uma única aplicação do R24H ou RA seria capaz de refletir a média (ou mediana) de ingestão do grupo populacional estudado.

O fato de uma única aplicação do R24H ou RA, ter sido capaz de refletir a média de ingestão de energia e de todos os nutrientes avaliados, torna-se de grande importância, principalmente, para estudos realizados com o objetivo de

avaliar a média de ingestão de crianças e adolescentes, uma vez que segundo McPherson *et al.* (20), especialmente neste grupo populacional, as aplicações repetidas de instrumentos de inquérito dietético, têm sua utilização limitada devido à tendência ao seu baixo nível de motivação e cooperação.

Por outro lado, quando se pretende calcular a prevalência de inadequação da ingestão de nutrientes, de um determinado grupo populacional, seria interessante utilizar aplicações repetidas do R24H ou RA, pois, para ambos, observou-se que os desvios padrão, mostraram tendência a serem menores em relação à média das três aplicações (X24H e XRA) quando comparados às aplicações isoladas. Sabe-se que a utilização de aplicações repetidas, possibilita a diminuição da variabilidade intraindividual. Dessa forma, o desvio padrão se torna menor em função de expressar, especialmente, a variabilidade interindividual.

Segundo Willett (3), um aspecto importante em relação à reprodutibilidade dos dados dietéticos diz respeito ao número de repetições necessárias para caracterizar o consumo alimentar habitual de indivíduos ou grupo de indivíduos. Assim, alguns estudos, entre as décadas de 70 e 80 foram desenvolvidos neste sentido (5,21-24). Tais estudos apresentaram resultados diversos. No entanto, são categóricos e convergem para a afirmativa de que tal determinação depende da variabilidade do nutriente estudado e da população alvo, pois alguns nutrientes tendem à maior variabilidade.

Além da variabilidade da dieta, a estimativa do consumo alimentar também é influenciada pelas variações decorrentes do próprio processo de avaliação do consumo alimentar, desde a coleta das informações relatadas pelos indivíduos, até a compilação dos dados. Destacam-se ainda as fontes de variação referentes aos entrevistados e à análise dos dados (4).

Assim, a possível inferência de que no presente estudo, uma única aplicação do R24H ou RA foi capaz de refletir o consumo habitual para todos os nutrientes avaliados (Tabela 1 e 2), pode ser reforçada pelo fato dos cuidados metodológicos em torno dos instrumentos de inquérito dietético aplicados, uma vez que tais cuidados garantem a melhoria da qualidade dos dados obtidos, aumento assim, o poder inferencial do estudo.

Os instrumentos de inquérito dietético LCF+LCA e LCF isolada refletem a disponibilidade per capita diária de alimentos e não o consumo direto tal como ocorre no R24H e RA (13). Assim, no presente estudo pode-se inferir que, para a maioria dos nutrientes avaliados, tais instrumentos não foram capazes de refletir a média de ingestão do grupo populacional estudado. Foram observadas diferenças tanto da LCF+LCA quanto da LCF isolada em relação à XR24H e XRA para a ingestão de proteína, ferro e carboidrato (Tabela 3).

A subestimação observada para a ingestão de proteína e ferro, referente à LCF+LCA e LCF isolada quando comparada à XR24H e XRA (Tabela 3), possivelmente se deve à

metodologia utilizada na aplicação da LCF+LCA e LCF isolada. Era requisitado às adolescentes que fizessem uma estimativa da quantidade de gêneros alimentícios comprados mensalmente, por meio de cupons fiscais de compras. Estes na maioria das vezes traziam informações incompletas, principalmente em relação à compra de carnes. As adolescentes forneciam somente o cupom da compra mensal de supermercado, não complementando tal informação com a quantidade de carne esporadicamente comprada em açougues.

No entanto, mesmo considerando que a LCF+LCA e LCF não foram instrumentos capazes de refletir a média de ingestão para a maioria dos nutrientes avaliados, sua aplicação é de extrema importância, a fim de auxiliar na avaliação do consumo alimentar. Segundo Barbosa *et al.* (13) sua utilização permite o conhecimento da disponibilidade de alimentos no contexto em que o indivíduo se insere, sendo esta uma condição imprescindível no planejamento eficaz de práticas de intervenção e orientação nutricional junto ao indivíduo, possibilitando maior respaldo para a tomada de decisões no que diz respeito à intervenção e a prática da educação nutricional.

Cabe ainda ressaltar que outra importante vantagem da aplicação da LCF+LCA e LCF isolada diz respeito ao fato desta possibilitar a obtenção de informações relacionadas à quantidade disponível para o consumo per capita de alimentos específicos (Tabela 4 e 5), pois o R24H e RA são instrumentos limitados no sentido de captar informações quanto a quantidade de óleo, açúcar e sal adicionada às preparações.

TABELA 4

Quantidade disponível para o consumo per capita, obtida pela LCF, e quantidade recomendada de óleo, açúcar e sal, em adolescentes do sexo feminino, entre 14 e 18 anos de idade, residentes no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil no ano de 2005

	Disponibilidade para consumo			Quantidade	
	n*	%†	X ± DP‡	Mi	** recomendada
Óleo (ml)	33	80,4	26,62 ± 11,55	24,00	16,0 <sup>(a)</sup>
Açúcar (g)	35	85,3	54,26 ± 29,83	41,66	56,0 <sup>(b)</sup>
Sal (g)	19	46,3	10,00 ± 7,86	8,00	6,0 <sup>(c)</sup>

Fonte: (a) e (b) Guia da Pirâmide de Alimentos adaptada à população brasileira (14), (c) I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (15)

\* indivíduos que especificaram adequadamente a quantidade e a frequência da compra familiar de cada um dos gêneros alimentícios: óleo, açúcar e sal

† Porcentagem em função do número total de observações (n=41)

‡ Média, Desvio Padrão

\*\* Mediana

TABELA 5

Adequação da quantidade disponível para o consumo per capita de óleo, açúcar e sal obtida pela LCF, em adolescentes do sexo feminino, entre 14 e 18 anos de idade, residentes no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil no ano de 2005

	n*	%†
Óleo (a)		
Acima	26	78,8
Adequado	07	21,2
TOTAL	33	100,0
Açúcar (b)		
Acima	12	34,3
Adequado	23	65,7
TOTAL	35	100,0
Sal (c)		
Acima	14	73,7
Adequado	05	26,3
TOTAL	19	100,0

Fonte: (a) e (b) Guia da Pirâmide de Alimentos adaptada à população brasileira (14), (c) I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (15)

\* indivíduos que especificaram adequadamente a quantidade e a frequência da compra familiar de cada um dos gêneros alimentícios: óleo, açúcar e sal

† porcentagem em função do número de observações para óleo (33)\*, açúcar (35)\* e sal (19)\*

Tais informações são de extrema importância. Priore *et al.* (25) afirmam que as práticas alimentares da região na qual foi realizado o estudo (Minas Gerais – Brasil) são marcadas pela presença de preparações muito temperadas, chamando a atenção também para a quantidade de açúcar presente nos doces, ressaltando ainda o hábito marcante em consumir vegetais e folhosos refogados, em preferência aos crus, o que acrescenta uma quantidade vantajosa de óleo nas refeições.

Para verificar se um instrumento de avaliação do consumo alimentar é válido, ou seja, se mede corretamente aquilo que se propõe a medir, teoricamente, bastaria comparar os resultados obtidos pelo instrumento que se quer testar com os resultados de um método que ofereça uma avaliação exata do consumo alimentar. No entanto, é bem evidenciado, que não existe um método ideal para avaliação do consumo alimentar, já que todos são passíveis de erros (3).

Assim, em função da inexistência de um método de referência, estudos de validação de instrumentos dietéticos se caracterizam por um procedimento de validação relativa, nos quais os resultados obtidos pelo instrumento que se quer testar são comparados com outro instrumento dietético que se julgue superior, tal julgamento se faz levando em consideração a população alvo e os objetivos do estudo (4).

Em relação à utilização dos marcadores bioquímicos como

método de referência em estudos de validação de instrumentos dietéticos, Willett (3) coloca que as principais desvantagens de tal procedimento se concernem ao fato das técnicas de avaliação dos marcadores bioquímicos serem extremamente caras e dispendiosas e por outro lado, avaliam um nutriente de cada vez.

Sempos *et al.* (26), afirmam que as alterações dos marcadores bioquímicos se desencadeiam sob um processo multicausal, no qual o consumo alimentar seria apenas um dos fatores ambientais. Além disso, a exposição às práticas alimentares inadequadas se expressa com grande diversidade entre os indivíduos, tanto em relação à magnitude dos efeitos, quanto ao tempo necessário para tal expressão.

Em estudo de revisão, Barbosa *et al.* (27) ressaltam que a maioria dos estudos acerca da associação entre consumo alimentar e marcadores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis e síndrome metabólica são baseados no efeito de alimentos e nutrientes, em detrimento daqueles que consideram o efeito de padrões dietéticos.

Moreno *et al.* (9) acrescentam que quando se considera o efeito dos padrões dietéticos, leva-se em conta a interação entre nutrientes e alimentos habitualmente consumidos na dieta de um determinado grupo populacional. Randall *et al.* (28) já sugeriam a existência de efeito sinérgico entre os nutrientes e alimentos quando estes são considerados em conjunto.

Neste sentido, evidenciam-se na literatura atual alguns estudos, realizados especificamente com crianças e adolescentes, que surgem com a proposta de validar, através de marcadores bioquímicos, a estimativa do consumo alimentar neste grupo etário. No entanto, a maioria destes estudos é baseada em nutrientes isolados. Dixon *et al.* (29) estudaram a associação entre ingestão dietética de cálcio e nível de colesterol sérico em crianças de 4 a 10 anos de idade. Budek *et al.* (30) avaliaram o consumo de proteína utilizando os marcadores de turnover ósseo em adolescentes pré-pubescentes. McNaughton *et al.* (31) se propuseram validar um questionário de frequência alimentar seletivo para a ingestão de ácidos graxos poliinsaturados, utilizando-se marcadores plasmáticos de ácidos graxos livres. Gunnarsson *et al.* (32) associaram a ingestão dietética aos marcadores plasmáticos do estado nutricional de ferro, em crianças de 6 anos de idade.

Diante das dificuldades metodológicas existentes em torno dos estudos de estimativa do consumo alimentar e considerando a adolescência como um período crítico, em função da sua susceptibilidade diante da formação e consolidação dos hábitos alimentares, o que pode conduzir os indivíduos deste grupo etário à adoção de um padrão alimentar distorcido e às conseqüências desfavoráveis à saúde futura, ressalta-se a importância de estudos mais detalhados acerca da estimativa do consumo alimentar neste grupo etário,

possibilitando inferir qual seria o instrumento dietético mais adequado às particularidades do comportamento alimentar dos indivíduos em questão.

### CONCLUSÃO

Pelos resultados apresentados torna-se possível inferir que, para o grupo populacional estudado, uma única aplicação do Recordatório de 24 Horas (R24H) ou Registro Alimentar (RA) seria capaz de refletir a média de ingestão de energia e de todos os nutrientes avaliados. Cabe também ressaltar que o R24H e RA mostraram-se instrumentos com boa reprodutibilidade.

Por outro lado, quando se pretende calcular a prevalência de inadequação da ingestão de nutrientes, de um determinado grupo populacional, seria interessante utilizar aplicações repetidas do R24H ou RA.

A Lista de Compras da Família (LCF), bem como a Lista de Compras da Família associada a do Adolescente (LCF+LCA) não foram instrumentos capazes de refletir a média de ingestão do grupo populacional estudado, para a maioria dos nutrientes avaliados. No entanto, sua aplicação seria de extrema importância a fim de auxiliar na avaliação da disponibilidade para o consumo alimentar, possibilitando maior respaldo para a tomada de decisões no que diz respeito à intervenção e a prática da educação nutricional, pois tais instrumentos permitem captar informações não refletidas no R24H e/ou RA.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição da Universidade Federal de Viçosa.

### REFERÊNCIAS

1. Rockett HRH, Colditz GA. Assessing diets of children and adolescents. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1116-22.
2. Beaton GH. Approaches to analysis of dietary data: relationship between planned analyses and choice of methodology. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 253-61.
3. Willet WC. *Nutritional Epidemiology*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 1998.
4. Serra-Majem L, Aranceta-Bratrina J, Mataix-Verdú J, editors. *Nutrición y Salud Pública*. Barcelona: Masson; 1995.
5. Beaton GH, Milner J, McGuire V, Feather TE, Lillte A. Source of variance in 24-hour dietary recall data: implications for nutrition study design and interpretation. *Carbohydrate sources, vitamins and minerals*. *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 986-95.
6. Buzzard JM, Sievert YA. Research priorities and recommendations for dietary assessment methodology. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 275-80.
7. Kaskoun MC, Johnson RK, Goran MI. Comparison of energy intake by semiquantitative food-frequency questionnaire with total energy expenditure by the doubly labeled water method in young children. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 43-7.
8. Contento I, Balch GI, Bronner YL, Lytle LA, Maloney SK, White SL. The effectiveness of nutrition education and implications for nutrition education policy, programs and research: a review of research. *JNEB* 1995; 27: 284-318.
9. Moreno LA, Kersting M, Henauw S, González-Gross M, Sichert-Hellert W, Matthys C, et al. How to measure dietary intake and food habits in adolescence: the European perspective. *Int J Obes* 2005; 29: 66-77.
10. Ventura AK, Loken E, Mitchell DC, Smiciklas-Wright H, Birch LL. Understanding reporting bias in the dietary recall data of 11-year-old-girls. *Obesity* 2006; 14: 1073-84.
11. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969; 44: 291-303.
12. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas. Pesquisa de Orçamentos Familiares. Rio de Janeiro: IBGE; 2004.
13. Barbosa KBF, Franceschini SCC, Priore SE. A importância da visita domiciliar na avaliação do hábito alimentar e dos condicionantes de saúde e nutrição de adolescentes e de suas famílias. *Nutr Brasil* 2004; 3: 341-50.
14. Phillippi ST, Latterza AR, Cruz ATR, Ribeiro LC. Pirâmide alimentar adaptada: guia para a escolha dos alimentos. *Rev Nutr* 1999; 12: 65-80.
15. Sociedade Brasileira de Hipertensão. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia et al. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol* 2005; 84: 3-28.
16. Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação do consumo alimentar em medidas caseiras. 5th ed. São Paulo: Atheneu; 2005.
17. Esteves EA, Siqueira AD, Monteiro JBR, Ludwig A. Sistema de apoio à decisão para avaliação do estado nutricional e prescrição de dietas. *Arch Latinoam Nutr* 1998; 48: 236-241.
18. Salvo VLMA, Gimeno SGA. Reprodutibilidade e validade do questionário de frequência de consumo de alimentos. *Rev Saúde Pública* 2000; 36: 505-12.
19. Hudson TS, Forman MR, Cantwell MM, Schatzkin A, Albert PS, Lanza E. Dietary fiber intake: assessing the degree of agreement between food frequency questionnaires and 4-day food records. *J Am Coll Nutr* 2006; 25: 370-81.
20. McPherson RS, Hoelscher DM, Alexander M, Scalon KS, Serdula MK. Dietary assessment methods among school-aged children: validity and reliability. *Prev Med* 2000; 31: 11-33.
21. Balogh M, Kanh HA, Madalie JH. Random repeated 24-hour dietary recalls. *Am J Clin Nutr* 1971; 24: 304-10.
22. Liu K, Stampfer J, Dye A, McKeever J, McKeever P. Statistical methods to assess and minimize the role of intraindividual variability in obscuring the relationship between dietary lipids and serum cholesterol. *J Chr Dis* 1978; 31: 399-418.
23. Beaton GH, Milner J, Corey P, McGuire V, Cousins M, Stewart E, et al. Sources of variance in 24-hour dietary recall data: implications for nutrition study design and interpretation. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 2546-59.

24. James WPT, Bingham SA, Cole T. Epidemiological assessment of dietary intake. *Nutr Cancer* 1981; 2: 203-12.
25. Priore SE, Pereira CAS, Ribeiro SMR, Cintra IP, Oliveira SP, Freitas SN, Franceschini SCC. Minas Gerais: alimentação de ontem e de hoje. En: Fisberg M, Wehba J, Cozzolino SMF. Um, dois, feijão com arroz: a alimentação no Brasil de Norte a Sul. São Paulo: Atheneu; 2002, 418p.
26. Sempos CT, Liu K, Ernest ND. Food and nutrient exposures: what to consider when evaluating epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 Suppl: 1330-1338.
27. Barbosa KBF, Franceschini SCC, Priore SE. Dietary instruments in adolescence. *J Brazilian Soc Food Nutr* 2006; 31(2): 135-149.
28. Randall E, Marshall JR, Brasure J, Graham S. Dietary patterns and colon cancer in western New York. *Nutr Cancer* 1992; 18: 265-76.
29. Dixon LB, Pellizzon MA, Jawad AF, Tershakovec AM. Calcium and dairy intake and measures of obesity in hyper- and normocholesterolemic children. *Obes Res* 2005; 13 (10): 1727-1738.
30. Budek AZ, Hoppe C, Michaelsen KF, Bugel S, Molgaard C. Associations of total, dairy, and meat protein with markers for bone turnover in healthy, prepubertal boys. *J. Nutr* 2007; 137: 930-934.
31. McNaughton SA, Hughes MC, Marks GC. Validation of a FFQ to estimate the intake of PUFA using plasma phospholipids fatty acids and weighed food records. *Br J Nutr* 2007; 97(3): 561-568.
32. Gunnarsson BS, Thordottir I, Palsson G. Associations of iron status with dietary and other factors in 6-year-old children. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61(3): 398-403.

Recibido: 03-01-2007

Aceptado: 02-04-2007

## Evaluación del efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus rhamnosus* adicionado a yogurt natural y con probióticos comerciales sobre poblaciones de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*

Oscar Calderón, Carolina Padilla, Carolina Chaves, Laura Villalobos y María Laura Arias

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

**RESUMEN.** Se evaluó el efecto de diferentes tipos de cultivos probióticos en yogurt sobre poblaciones conocidas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*. Los tres tipos diferentes de yogurt comercial utilizados fueron: sin probióticos adicionados, con probióticos CHR HANSEN® (*Lactobacillus casei* CRL\_431 y *L. acidophilus* CRL\_730) y otro con los mismos probióticos mencionados anteriormente, adicionado con cultivo de *Lactobacillus rhamnosus* (LR-35). Se inoculó aproximadamente 10<sup>9</sup> UFC/mL de cada bacteria potencialmente patógena en los diferentes tipos de yogurt, se mantuvo en refrigeración a 4°C durante la vida útil de cada uno de estos alimentos (aproximadamente 30 días) y se realizó un recuento bacteriano cada cuatro días incluyendo el mismo día de la inoculación. Los resultados obtenidos demuestran que, existe diferencia en cuanto a inhibición entre los yogures sin probióticos y el yogurt comercial con probióticos, observándose un efecto inhibitorio evidente, por parte del segundo sobre las poblaciones de *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 y *L. monocytogenes*. Con respecto a los yogures comerciales con probióticos más *L. rhamnosus*, no se observó alguna diferencia con respecto al efecto inhibitorio que poseen los yogures con probióticos *L. casei* y *L. acidophilus*. En los yogures en que se evaluó *S. enteritidis* se obtuvo la muerte de ésta al cabo de cuatro días. El presente estudio confirma el efecto antagónico que poseen los cultivos probióticos sobre bacterias potencialmente patógenas para el ser humano y animales que pueden estar contenidas en los alimentos. No obstante, el uso del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* no ejerce un efecto inhibitorio adicional.

**Palabras clave:** Probióticos, yogurt, *L. rhamnosus*, bacterias patógenas.

### INTRODUCCION

Hoy en día los cultivos probióticos poseen gran relevancia a nivel mundial, debido a que mediante numerosos estudios se ha logrado demostrar diversos efectos benéficos para el ser humano, tales como el favorecimiento del equilibrio de la microflora intestinal, estimulación del sistema inmune, competencia contra patógenos, entre otros (1).

**SUMMARY.** Evaluation of the effect of *Lactobacillus rhamnosus* probiotic culture added to yogurt over *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* populations. The effect of different types of probiotics present in yogurt over known populations of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* was evaluated. The three types of yogurt used were: without added probiotics, with added probiotics (*Lactobacillus casei* CRL\_431 and *L. acidophilus* CRL\_730 CHR HANSEN®) and another one with the same probiotics mentioned above and *Lactobacillus rhamnosus* (LR-35) culture. About 10<sup>9</sup> CFU/mL of each potentially pathogenic bacteria was added to each type of yogurt tested, and kept in refrigeration at 4°C during its shelf life, about 30 days. Bacterial count was done the initial day and every four days. Results obtained show that there is a difference in the inhibition between yogurts without added probiotics and the commercial yogurt with added probiotics; there is a clear inhibitory effect of the last one over *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. The yogurt with added probiotics and *L. rhamnosus* did not show any additional inhibitory effect over the bacteria tested when compared with the yogurt with added probiotics. *S. enteritidis* could not be evaluated because it was not detectable in any yogurt samples evaluated four days after its inoculation. This study confirms the antagonistic effect of probiotic cultures over potentially pathogenic bacteria for human beings and animals that may be present in food. Nevertheless, the use of *L. rhamnosus* did not produce any additional inhibitory effect.

**Key words:** Probiotics, yogurt, *L. rhamnosus*, pathogenic bacteria.

Con respecto a este último punto, la producción de ácidos orgánicos, compuestos carbanílicos y bacteriocinas podría explicar el mecanismo por el cual los probióticos ejercen su efecto antagónico sobre otras bacterias (2). Pero la hipótesis que tiene mayor vigencia establece que las bacterias probióticas se instalan en la mucosa intestinal y ahí producen las sustancias inhibitorias que combaten la acción de las bacterias toxigénicas (3).

*Lactobacillus rhamnosus* es un componente principal de la población de lactobacilos que habitan naturalmente el tracto gastrointestinal de humanos y animales (4). Este organismo ha sido estudiado extensamente y se ha encontrado que posee un número de propiedades que constituyen las bases para implementar su uso en salud y en investigación clínica (5).

Dentro de las características asociadas a esta bacteria, se encuentra que no posee actividad antimicrobiana contra otras bacterias ácido lácticas y posee una buena adhesión a las glicoproteínas del ileon humano y a los productos con fibra de la dieta (6). También, es tolerante al pH bajo y a los fluidos pancreáticos y biliares.

Por otro lado, diversos estudios han demostrado actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens in vitro*; así como una actividad antilisteria cuando es aplicada como cultivo iniciador bioprotector de carne en embutidos secos, en etapas iniciales del proceso de maduración (7).

Esta bacteria es aerotolerante, posee excelente viabilidad en yogurt durante cuatro semanas de almacenamiento a 4°C y es útil en su producción, ya que es capaz de crecer durante la fermentación y además proporciona buenas propiedades organolépticas (8).

Mediante la presente investigación, se pretende comparar los efectos del yogurt tradicional sin probióticos adicionados, yogurt tradicional con probióticos adicionados (*Lactobacillus acidophilus* y *L. casei*) y yogurt tradicional adicionado con probióticos y *Lactobacillus rhamnosus* sobre la multiplicación de cuatro bacterias potencialmente patógenas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*, en condiciones normales de almacenamiento del producto, con el fin de determinar si hay diferencias importantes entre ellos en lo que respecta a la reducción de poblaciones bacterianas patógenas.

## 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 los meses de Abril a Noviembre del 2005.

### Cepas utilizadas

Las cepas evaluadas fueron: *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Listeria monocytogenes* ATCC 19116, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* O157:H7 de origen clínico.

### Yogurt

Se utilizó yogurt sin cultivos probióticos (Yogurt A), yogurt

con cultivos probióticos adicionados (*Lactobacillus casei* CRL\_431 y *L. acidophilus* CRL\_730) Christian Hansen (CHR HANSEN®) (Yogurt B) y yogurt con probióticos CHR HANSEN® (idéntico al anterior) pero adicionado con la cepa *Lactobacillus rhamnosus* (Yogurt C). El probiótico *Lactobacillus rhamnosus* (LR-35) fue obtenido de la casa comercial Christian Hansen en forma de "pellets" y se agregó en una concentración de 10<sup>11</sup> UFC/g a cada yogurt. Los tres tipos de yogurt eran pasteurizados y poseían como cultivo tradicional iniciador el YC 180, el cual contiene una mezcla de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*.

### Definición de los sistemas

Se conformaron doce sistemas para analizar que se resumen en la Tabla 1.

TABLA 1  
Definición de los diferentes sistemas utilizados

Sistema	Yogurt	Bacteria patógena
1	A	<i>S. aureus</i>
2	A	<i>E. coli</i> O157:H7
3	A	<i>L. monocytogenes</i>
4	A	<i>S. enteritidis</i>
5	B	<i>S. aureus</i>
6	B	<i>E. coli</i> O157:H7
7	B	<i>L. monocytogenes</i>
8	B	<i>S. enteritidis</i>
9	C	<i>S. aureus</i>
10	C	<i>E. coli</i> O157:H7
11	C	<i>L. monocytogenes</i>
12	C	<i>S. enteritidis</i>

### Inoculación de bacterias patógenas en el yogurt

Durante tres ocasiones diferentes, se preparó una suspensión de aproximadamente 10<sup>9</sup> UFC/mL de cada bacteria patógena. De esta suspensión, se tomaron 25 mL para inocular 1L de yogurt de fresa para cada sistema. Cada uno de estos sistemas se almacenó en refrigeración a 4°C durante la vida útil del yogurt (30 días).

### Medición de las poblaciones de bacterias patógenas y bacterias lácticas

El recuento bacteriano se realizó en diversos medios selectivos: para *Listeria monocytogenes* se utilizó agar Oxford, para *Escherichia coli* agar MacConkey + Sorbitol, para *Salmonella enteritidis* agar XLD, para *Staphylococcus aureus* agar Baird Parker y para las bacterias lácticas se utilizó agar MRS (9).

De cada uno de los sistemas, se realizaron diluciones decimales seriadas hasta  $10^{-9}$  en agua peptonada estéril 0.1% (APE). Luego cada una de éstas se inoculó por esparcimiento en el respectivo medio selectivo. Las placas de MRS se incubaron en atmósfera incrementada de  $\text{CO}_2$  a  $25^\circ\text{C}$  por 4 días. Las placas de los otros medios se incubaron a  $37^\circ\text{C}$ , en atmósfera normal durante 4 días. Luego de la incubación, las poblaciones se monitorearon durante 24-28 días, cada 4 días. (10).

### Medición del pH

Se determinó a todos los sistemas, utilizando un pHmetro Cole-Parmer, durante cada día de determinación de las poblaciones bacterianas.

Todos los procedimientos descritos anteriormente se realizaron por duplicado y se utilizó el promedio de las mediciones como valor final para interpretar los resultados.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En los últimos años en diversas investigaciones se ha demostrado el efecto antagónico que poseen varias especies de probióticos sobre microorganismos de deterioro de alimentos y de patógenos intestinales (11). Este efecto se pudo comprobar en este trabajo al evaluar los diferentes sistemas de yogurt con cultivos probióticos adicionados inoculados con bacterias patógenas a través del tiempo, tal y como se presenta en las Figuras 1 y 2.

En la Figura 1 se presenta el comportamiento de las bacterias Gram positivas evaluadas según el tiempo de almacenaje. Se evidencia la rápida disminución de la población de *Staphylococcus aureus* ante la presencia de lactobacterias, independientemente de si se trata del yogurt comercial original compuesto por *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* o del yogurt adicionado con *Lactobacillus rhamnosus*. En el yogurt sin probióticos adicionados, *S. aureus* tardó 16 días en llegar a niveles no detectables, en los yogurts con probióticos, tardó únicamente 12 días. No se observó un efecto adicional en esta inhibición debido a la presencia de *L. rhamnosus*.

De la misma manera, *Listeria monocytogenes* muestra un comportamiento similar. El sistema sin probióticos adicionados alcanza el conteo mínimo a los 20 días, mientras que en los sistemas con probióticos se alcanza el día 12.

En la Figura 2, se muestra el comportamiento de *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella enteritidis*. Con respecto a *Escherichia coli*, la población disminuyó a niveles no detectables en 20 días para el sistema sin probióticos, y en ocho días en los sistemas con probióticos, sin haber diferencias entre ellos.

FIGURA 1

Comportamiento de bacterias gram positivas en yogurt

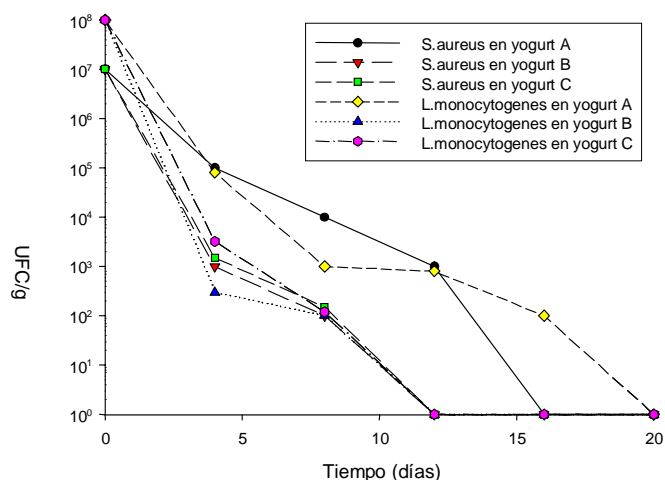
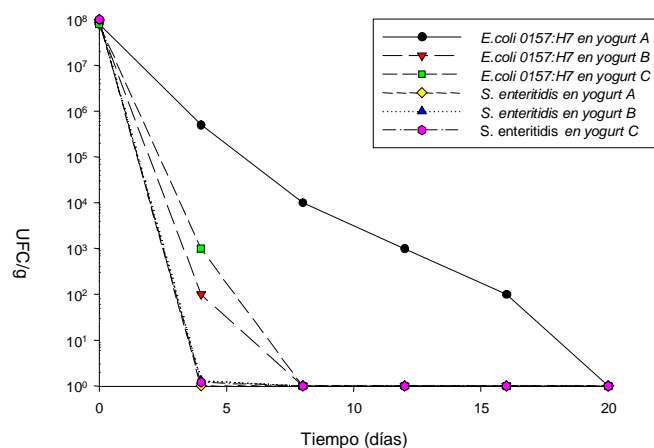


FIGURA 2

Comportamiento de bacterias gram positivas en yogurt



Cabe destacar que el pH de los sistemas evaluados fue de 4,5 constante, mas éste no es un factor inhibitorio para el crecimiento de *S. aureus* o *E. coli*, pues ambas bacterias son viables en ámbitos de pH amplios. También, este pH resulta despreciable para *L. monocytogenes*, pues diversos estudios documentan su supervivencia incluso a pH de 3.87, debido a su adaptación a condiciones ácidas, mediante el fenómeno de respuesta ácido tolerante (ATR) (12).

También, es importante destacar que el número de bacte-

rias lácticas presentes en los diferentes sistemas de yogurt fue constante a través del tiempo, ya que se mantienen en un rango de  $10^7$  -  $10^8$  UFC/g, siendo este el necesario para ejercer acción bactericida *in vitro*, además de ser el número recomendado por la OMS como la cantidad de bacterias necesaria para que ejerzan efectos benéficos sobre el organismo.

*Salmonella enteritidis* presentó un comportamiento totalmente diferente a los descritos anteriormente (Figura 2), ya que llegó a números no detectables durante los cuatro primeros días de ensayo.

Lo anterior resulta contradictorio al comportamiento normal de esta bacteria, ya que se considera que es sumamente resistente a condiciones extremas, tanto de pH como de temperatura una vez que se adapta a éstas (13). El anterior comportamiento se puede explicar con base a que esta bacteria fue adicionada a un medio considerablemente ácido sin darse una adaptación progresiva. Jacobsen *et al.* (1999) describen resultados similares, ellos detallan que algunas cepas de *Lactobacillus rhamnosus* (271, LGG, Lc 705, 19020-8, 19070-2, CHCC2100 y CHCC 2099) inhiben ampliamente a las bacterias *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Yersinia enterocolitica*, mientras que para *Salmonella typhimurium* y *Shigella flexneri* la inhibición del crecimiento fue débil o prácticamente nula (14).

Al comparar bacterias Gram positivas con Gram negativas, se observa que la disminución del número de estas últimas es más rápida que la de Gram positivas. En varias investigaciones se afirma que las bacterias Gram negativas son poco sensibles a bacteriocinas, debido a la estructura de la membrana externa y a la constitución de su pared. Esta diferencia de comportamiento puede ser debida al efecto de las diversas sustancias producidas por las bacterias ácido lácticas además de las bacteriocinas, como ácidos orgánicos (ácido láctico y ácido acético), peróxido de hidrógeno, dióxido de carbono; así como la producción de otros compuestos antimicrobianos como el diacetilo, el ácido piroglutámico, etc. (6). Se ha comprobado que el diacetaldehído es más efectivo contra bacterias Gram negativas, levaduras y hongos que contra bacterias Gram positivas (15).

Es importante destacar que los sistemas libres de probióticos adicionados también presentaron una paulatina disminución en el número de bacterias inoculadas. Esta puede deberse al agotamiento de nutrientes en el medio, la acumulación de metabolitos o bien a la generación de sustancias bactericidas por parte del cultivo iniciador YC 180 por sí solo (*S. thermophilus* y *L. bulgaricus*). Diversos estudios han demostrado la presencia de proteasas extracelulares generadas en leche por *Lactobacillus bulgaricus*, así como la producción de proteasas intracelulares por parte de *S. thermophilus* (16).

Por otro lado, como se demuestra a través de los resultados obtenidos, aún cuando el probiótico *Lactobacillus*

*rhamnosus* posee efectos beneficiosos tanto en la producción de alimentos lácteos como en aspectos terapéuticos y nutricionales, su adición al yogurt comercial con probióticos, no ejerce un efecto adicional sobre los microorganismos patógenos que podrían encontrarse en estos productos.

Los resultados obtenidos con respecto a la actividad de los probióticos en general, demuestran nuevamente la capacidad que tienen los cultivos probióticos de eliminar y competir contra ciertos patógenos intestinales, de ahí el gran potencial que representan para la industria alimenticia (17),

## REFERENCIAS

1. Saavedra JM. Clinical applications of probiotic agents, Am J Clin Nut. 2001; 73:1147-1151.
2. Marteau P, Vrese M, Cellier CJ, Schrezenmeier J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. Am J Clin Nut. 2001; 73: 430-436.
3. Hansen C. Simposium de quesos y productos lácteos fermentados. Costa Rica. 1998; pp. 2-4
4. Mitsuoka T. 1992. The human gastrointestinal tract. Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. vol 1. Wood BJB. Elsevier Applied Science.
5. Casas I, Edens FW, Dobrogosz WJ. 1998. *Lactobacillus rhamnosus*: An effective probiotic for poultry and other animals. *Lactic Acid Bacteria*. 2nd ed. Salminen S and von Wright A. Marcel Dekker Inc. New York.
6. Ouwehand AC, Tuomola EM, Tolkko S & Salminen S. Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. Int J Food Microbiol. 2001; 64: 119-126.
7. Työppönen S, Markkula A, Petäjä E, Suihko ML, Mattila-Sandholm T. Survival of *Listeria monocytogenes* in North European type dry sausages fermented by bioprotective meat starter cultures. Food Control 2003; 14: 181-185.
8. Kontula P. *In vitro* and *in vivo* characterization of potential probiotic lactic acid bacteria and prebiotic carbohydrates. Fin J Dairy Sci. 1999; 54. Thesis.
9. Forbes B, Sahm D, Weissfeld AS. 2002. Diagnostic Microbiology. 11th ed. Mosby Inc, USA.
10. FDA. Bacteriological Analytical Manual. 8 ed. APHA. Washington, 1995.
11. Berrocal D, Arias ML, Henderson M, Wong E. Evaluación de la actividad de cultivos probióticos sobre *Listeria monocytogenes* durante la producción y almacenamiento de yogurt. ALAN. 2002; 52(4), 375-380.
12. Gahan C, O'Driscoll B & Hill C. Acid adaptation of *Listeria monocytogenes* can enhance survival in acidic foods and during milk fermentation. Food Tech. 1996; 62: 3128-3132.
13. Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. 2001. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. 1<sup>st</sup> Edition. Ed ASM Press, Washington, D C.
14. Jacobsen CN, Rosenfeldt V, Hayford AE, Møller PL, Michaelsen KF, Pærregaard A, Sandström B, Tvede M, Jakobsen M. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by *in vitro* techniques and evalu-

- ation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65:4949-4956.
15. Naidu A. Probiotics spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB). *Critical Rev. Food Science Nut.* 1999; 38: 13-126.
  16. Gallardo N, Flores V, Hernández S. Estudio de la cinética de crecimiento de las bacterias del yogurt y caracterización parcial de una proteasa de *Streptococcus thermophilus*. *Procesamiento y conservación de Alimentos de América Latina e Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y Tecnología.* 1997, 2: 178-193.
  17. Campos JA. Cultivos Probióticos y Protectores, Propiedades Funcionales (Nutraceúticas) de Valor Agregado en los Derivados Lácteos. *Lácteos y Cárnicos Mexicanos.* 2002; Jun/Jul 26-37.

Recibido: 17-11-2006

Aceptado: 14-02-2007

## Optimización de una formulación de queques (cakes) con características funcionales a partir de almidones resistentes, *Sphagnum magellanicum* y harina desgrasada de avellana (*Gevuina avellana Mol*)

Mario Villarroel, Carla Reyes, Julia Hazbun, Julia Karmelic

Departamento de Ingeniería Química, Fac. Ingeniería. Departamento de Nutrición. Universidad de La Frontera, Temuco. Chile

**RESUMEN.** Almidón resistente (AR) “Hi Maize 260”, musgo *Sphagnum magellanicum* (SM), recursos naturales ricos en fibra dietaria total y harina desgrasada de avellana (HDA) como fuente de proteínas, se utilizaron en el diseño y formulación de un producto de pastelería (queques) con características funcionales. La metodología Taguchi fue utilizada en el proceso de optimización trabajando con la matriz ortogonal  $L_9 3^4$  con cuatro factores de control AR; SM; HDA y Master Gluten 4000 (MG), 3 niveles de trabajo y 9 corridas experimentales. La mejor respuesta de calidad sensorial (CS) y relación Señal/Ruido (índice de Robustez) equivalentes a buena/muy buena se obtuvo combinando las variables independientes en sus mínimos niveles de trabajo, información interesante por la importancia económica que tiene este resultado. Análisis de efectos promedios y ANOVA demostraron que los factores de control SM y HDA influyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) en la CS con un porcentaje de contribución relativa de 83%. En la caracterización química de la formulación optimizada es importante destacar su alto contenido en fibra dietaria total (8.67%) atribuido principalmente a la presencia de AR y SM, y su aporte proteico (7.22%). El producto almacenado a temperatura de refrigeración no alteró significativamente las características sensoriales sabor, apariencia y textura destacando la buena preferencia demostrada para el sabor. Sin embargo no ocurrió lo mismo cuando se almacenó a 20°C. Resultados del test hedónico mostraron una opinión muy favorable del producto alcanzando un 100% de aceptabilidad, información que permite predecir una buena recepción de este producto a nivel de segmentos de consumidores interesados en proteger su salud.

**Palabras clave:** Fibra, almidón resistente, optimización, Taguchi, calidad sensorial.

**SUMMARY.** Optimization of a cake formulation with functional characteristics using resistant starch, *Sphagnum magellanicum* moss and defatted hazel nut flour (*Gevuina avellana, Mol*).

Resistant starch (RS) Hi Maize 260, *Sphagnum magellanicum* Moss (SM) both natural resources rich in total dietary fiber, and defatted hazel nut flour (DHN) as protein resource were used in the development of a pastry product (cheque) with functional characteristics. Taguchi methodology was utilized in the optimization process using the orthogonal array  $L_9 3^4$  with four control factors: RS, SM, DHN and Master Gluten 4000 (MG), 3 factor levels and 9 experimental trials. The best result of Sensory Quality (SQ) and signal to noise ratio (S/N) was obtained combining the minor levels of the independent variables. Main effect (average effects of factor) analysis and anova analysis showed that SM and DHN were the control factors with a significant influence ( $p < 0.05$ ) on the CS with a relative contribution of 83%. It is important to emphasize the total dietary fiber (8.7%) and protein (7.2%) values, the formers due to the presence of RS and SM. Shelf life study showed that the sensory characteristics flavour, appearance and texture were not affected when samples were stored at refrigerated temperatures but not at 20°C, specifically flavour always kept a good preference during the whole period of time. Samples of optimized cakes showed very good results when they were submitted to hedonic test with 100% of favorable consumer's opinions.

**Key words:** Fiber, resistant starch, optimization, Taguchi, sensory quality.

### INTRODUCCION

La aparición en el mercado de los alimentos funcionales surgió como una respuesta al cambio de conducta a nivel mundial de los consumidores preocupados por la calidad de su alimentación y la necesidad de tener acceso a una alimentación que proteja su salud. En este sentido, la responsabilidad de la industria alimentaria fue responder a esta emergen-

te preocupación diseñando y lanzando al mercado productos que se adaptarán a las exigencias de este tipo de consumidores, como lo demuestra la presencia en los supermercados de una interesante gama de productos con estas características (1,2).

En la investigación de la fibra dietaria destaca la búsqueda permanente de nuevos recursos naturales que posean cantidades interesantes de este tipo de compuestos, para consumirlos

como tales o en mezcla con otros alimentos (3-8).

El interés de la comunidad científica por el estudio del almidón resistente (9-11) y sus efectos beneficiosos en el organismo como resultado de su fermentación por parte de la flora bacteriana ha sido ampliamente divulgado en la literatura científica dando origen entre otros compuestos a ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (10,11) entre ellos el butirato que a su vez es uno de los nutrientes preferido por la flora colónica, (12) que ejercen un efecto protector sobre la estructura de la membrana intestinal (13), ya que provee energía para las células epiteliales del colon (14), evitando la transformación de éstas a células nocivas o tumorosas. Podría también inhibir la actividad genotóxica de nitrosamidas y peróxidos de hidrógeno en las células del colon humano, con lo que de esta manera podría inhibir o disminuir el riesgo de cáncer. Por otro lado el propionato, otro de los AGCC generados, actuaría reprimiendo la síntesis de colesterol (9). Otra propiedad interesante de los AR es que reducen la densidad calórica de los alimentos (15), con lo que son capaces de disminuir la respuesta glicémica (16,17). Su incorporación a la dieta traería consigo una disminución de los niveles de colesterol y triglicéridos (18-20) un incremento significativo de la oxidación lipídica que, por lo tanto, podría disminuir la acumulación de grasa a largo plazo (21), con lo que la posible reducción de factores de riesgo de algunas enfermedades tales como la arterosclerosis, diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer de colon. Los AR son dignos de destacar no sólo por los ya mencionados beneficios para la salud si no también, porque su inclusión en formulaciones alimenticias no alteran características organolépticas como lo hacen tradicionalmente las fuentes ricas en fibra (16).

El musgo *Sphagnum magellanicum* es un recurso natural abundante en la región sur de nuestro país, el cual al ser caracterizado químicamente dio como resultado un 77% de fibra dietaria (4) transformándose en una excelente fuente de este componente funcional, destacando además sus propiedades físicas tales como elevada capacidad de absorción y retención de agua, moléculas orgánicas, e intercambio iónico (22). Los principales usos de este recurso son moldes para embalaje de flores, agente descontaminante de residuos industriales, bactericida (23), siendo escasos los ejemplos de su empleo como ingredientes para productos de consumo humano (22).

Una de las alternativas de uso de la avellana es su elevado contenido en aceite que a la fecha su destino es la incorporación a formulaciones de productos de cosmética y en mucha menor proporción en formulaciones alimenticias para consumo humano, sin embargo, luego de la extracción del aceite queda como residuo una torta o residuo desgrasado, del cual se obtiene harina destinada para consumo humano o animal ya que es rica en proteínas, hidratos de carbono y fibra (24). Esta harina ha demostrado poseer excelentes condiciones para la elaboración de productos de panadería y pastelería (25).

La tendencia del mercado alimenticio actual es segmentar hasta casi el infinito el universo de consumidores en busca de satisfacer la más amplia gama de requerimientos posibles. Teniendo en cuenta esto se planteó como objetivo formular un producto de pastelería incorporando nuevas fuentes de fibra y proteína, aprovechando y diversificando los recursos naturales de nuestro país, y entregando una alternativa que apunte a satisfacer las necesidades de los consumidores interesados en productos que contribuyan a su salud y bienestar; empleando para la optimización del mismo la metodología Taguchi.

## MATERIALES Y METODOS

### Materias primas

Muestras comerciales de AR "Hi-Maize 260" fueron donadas por la empresa BKN Ltda., Santiago, Chile; Master Gluten 4000 fue donado por la empresa Granotec S.A., Santiago, Chile. En cuanto a la muestra de musgo *Sphagnum magellanicum* fue donada por la empresa Los Volcanes, ubicada en Puerto Mont, X Región, Chile. El SM fue sometido a operaciones de selección, eliminación de impureza, secado hasta una humedad de 6% para luego envasarla en bolsas de polietileno y almacenada a temperatura ambiente. Posteriormente fue sometido a molienda en un molino de platos marca Fisher y finalmente fue cernida por un sistema de tamices ASTM seleccionándose la fracción tamaño de partícula de 0.42 mm. La harina desgrasada de avellana se obtuvo a partir de la torta semidesgrasada de avellana, triturada en un molino de platos marca Fisher), y cernida seleccionándose la fracción de partícula 0.18 mm. El resto de las materias primas empleadas en la formulación de los queques fueron: harina de trigo, polvo de hornear, azúcar, huevos, margarina light, extracto de vainilla y chip de chocolate, todos adquiridos en el mercado local.

### Metodología Taguchi

Siendo el objetivo principal de este estudio optimizar la formulación de queque, se utilizó la metodología Taguchi., entendiéndose que optimizar es obtener la mejor combinación de variables dentro de una serie de alternativas posibles para desarrollar tanto productos como procesos con la mayor rapidez y menor costo posible. En este sentido, la metodología Taguchi (26-31), se caracteriza por utilizar arreglos ortogonales disminuyendo drásticamente el número de experimentos obteniéndose un producto de calidad, según las características que los consumidores esperan. En este estudio las cuatro variables independientes fueron AR; SM; HDA y Master Gluten 4000 (MG), 3 niveles de trabajo (Tabla 1) y 9 corridas experimentales (matriz ortogonal  $L_9$  ( $3^4$ )). Las variables respuestas fueron Calidad Sensorial (CS) y relación Señal/Ruido (S/R) La primera etapa para la elaboración de las

formulaciones experimentales consistió en la combinación de los factores de control de acuerdo a los niveles de trabajo propuestos, con el resto de los ingredientes. La masa formada fue colocada en moldes y horneadas por un tiempo igual a 12 minutos a una temperatura de 250°C (Tabla 2).

TABLA 1  
Factores de control y niveles de trabajo (%)

Factores de Control	Niveles*		
	1	2	3
Almidón resistente	11	18	25
<i>Sphagnum magellanicum</i>	1,5	3,0	4,5
Harina desgrasada de avellana	12	17	22

\* 1 menor; 2 medio, 3 mayor

TABLA 2  
Formulaciones experimentales de queque

Ingredientes	g/100g
Almidón resistente	11 – 25
<i>Shagnum magellanicum</i>	1,5 – 4,5
Harina desgrasada avellana	12 – 22
Master gluten 3000	0,06 – 0,10
Huevos	25
Margarina	20
Aditivos*	30

\*: Polvo de hornear, harina de trigo, azúcar, extracto vainilla, chip chocolate.

### Análisis sensorial

La Calidad Sensorial (CS.) fue definida como la suma de las características Sabor, Textura y Apariencia. En sesiones de discusión en panel abierto se determinaron los porcentajes de influencia relativa para cada una de las características mencionadas anteriormente, obteniéndose una ecuación de calidad sensorial expresada de la siguiente forma:

$$CS = 0,44* \text{ Sabor} + 0,31* \text{ Apariencia} + 0,25* \text{ Textura}$$

Para determinar la CS de las muestras de queque se utilizó un panel entrenado compuesto por 12 jueces utilizando el test de puntaje compuesto (32) y una escala analítico descriptiva de cinco puntos, donde 1= Malo y 5= Muy bueno.

Los resultados de calidad sensorial fueron sometidos a análisis estadístico de diferencias de magnitud de promedios por nivel de trabajo de cada factor (26) y análisis de varianza (ANOVA) (33) para determinar la influencia de los factores de control y sus respectivos niveles óptimos de trabajo aplicando un nivel de significancia de 5%. En este estudio se uti-

lizó el software Qualitex- 4. Con esta información se obtuvo finalmente la ecuación teórica optimizada que luego fue validada con la ejecución de un test confirmatorio.

### Análisis químico

La formulación optimizada resultante fue sometida posteriormente a una caracterización química de acuerdo a las metodologías estandarizadas de la AOAC (34) cuantificando contenido de humedad, proteínas, cenizas, extracto etéreo, fibra cruda e hidratos de carbono, este último por diferencia. El contenido de almidón resistente fue determinado por el método de Prosky (35) Paralelamente se determinó el valor de actividad de agua, empleando para ello un hidrómetro luff ( $a_w$  Pert-Messer) a 20 °C. El contenido energético se obtuvo utilizando los coeficientes de Atwater.

### Ensayos de estabilidad al almacenamiento y vida útil

Con el objeto de determinar el tiempo de vida útil bajo condiciones específicas de temperatura (7°C y 20°C), se almacenaron muestras del producto optimizado en bolsas de polietileno de 1mm de espesor por un período de 20 días. A intervalos de 5 días se sacaron muestras y se midió la variación de la preferencia en sabor, apariencia y textura usando el test de ordenamiento o Ranking (32) comparándolas con una muestra recién elaborada utilizando un panel de jueces entrenados. El ordenamiento de las muestras se hizo en orden decreciente de la preferencia con un nivel de exigencia alfa igual al 5%.

### Ensayo de aceptabilidad

Un aspecto importante de considerar en el desarrollo de nuevos productos es estimar la sensación de agrado o desagrado que produce el producto a nivel de consumidores. Con este fin se utilizó el test hedónico (32) y una escala de cinco puntos donde 1= me desagrada mucho; 5= Me agrada mucho, dando a probar la muestra a un total de 100 consumidores de ambos sexos abarcando un rango de edades entre 8 a 60 años de edad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Optimización de las formulaciones mediante Metodología Taguchi

En la Tabla 3 se presentan los resultados promedio de CS y Señal Ruido (S/R) de las nueve formulaciones experimentales de queques que reflejan las diferentes combinaciones de los factores de control. De su análisis se observa que la mejor combinación de variables independientes correspondió a la corrida experimental N° 1 con un puntaje promedio de CS igual a 4,35 equivalente a una calificación entre “Buena» y “Muy Buena”, y un valor de S/R de 12.76 En este último caso, mientras mas alta sea la relación mayor es la robustez del producto, es decir, mejor es la consistencia o calidad de la

respuesta a pesar de influencia de los factores de ruido (26,36). Es importante destacar además que este punto de diseño no sólo presentó la mejor calificación, si no que tiene la ventaja de combinar de tal manera los niveles de trabajo de las variables independientes que hace que sea el punto de diseño con menores costos de producción, dato positivo desde el punto de vista económico.

TABLA 3  
Valores promedios de CS. y S/R de las formulaciones experimentales

Punto de diseño	AR	SM	HDA	MG	CS	S/R
1	1	1	1	1	4,35*	12,76
2	1	2	2	2	3,67	11,27
3	1	3	3	3	3,27	10,27
4	2	1	2	3	4,01	12,04
5	2	2	3	1	3,09	9,74
6	2	3	1	2	3,50	10,86
7	3	1	3	2	3,64	11,21
8	3	2	1	3	3,58	11,05
9	3	3	2	1	3,75	11,46

\* Promedio dos replicaciones; niveles de trabajo: 1= Menor; 2= Medio; 3= Mayor

El menor resultado de CS =3.04 equivalente a CS regular se obtuvo en la corrida experimental N° 5 donde predominó la combinación de los niveles de trabajo de los factores de control intermedio y superior coincidente con esta respuesta, la S/R disminuyó afectando negativamente la calidad de la respuesta frente a variaciones de ruido.

En la última columna de la Tabla 4 se muestran las diferencias de magnitud (delta) de los promedios de respuestas por factor de control y nivel de trabajo. Si se toma en cuenta que la magnitud delta es directamente proporcional a la influencia del factor de control en la CS, quedó demostrado en este estudio que tanto SM como HDA fueron las variables independientes con mayor impacto sobre la CS con valores deltas de 0.56 y 0.48 respectivamente, resultados correspondientes a los niveles mínimos de trabajo.

TABLA 4  
Influencia de los factores de control por nivel de trabajo sobre la CS

Factores de control	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	Delta
Almidón resistente	3,76	3,53	3,65	0,23
<i>Sphagnum magellanicum</i>	4,00	3,44	3,50	0,56
Harina desgrasada de avellana	3,81	3,81	3,33	0,48
Master Gluten	3,73	3,56	3,62	0,17

Resultados del ANOVA mostrados en la Tabla 5 demostraron que los factores más significativos sobre la CS ( $p < 0,05$ ) fueron SM y HDA con un 83,03% de contribución a la respuesta (ver última columna, Tabla 5) resultados coincidentes con el análisis de diferencia e magnitud de promedios. Los factores que presentaron menor grado de influencia fueron el MG y AR con una participación total no significativa de 8%.

TABLA 5  
Análisis de varianza de las fuentes de variación

Fuente de variación	g.l.	SC.	F	% contribución
Almidón resistente	2	0,158	3,59	6,45
<i>Sphagnum magellanicum</i>	2	1,127	25,63*	45,98
Harina desgrasada avellana	2	0,908	20,64*	37,05
Master Gluten	2	0,056	1,27	2,28
Error experimental	9	0,202		8,24
Total	17	2,451		100,00

\* significativo al  $p < 0,05$ .

Con la información obtenida en los análisis de diferencia de promedios por nivel de trabajo y ANOVA se calculó la ecuación teórica optimizada determinándose un valor de CS esperada de 4,4, calificación equivalente a buena, muy buena, destacando además que los mejores niveles de trabajo para obtener la mejor respuesta de CS fueron los mínimos dato que es importante de tener en cuenta pues permite abaratar los costos de elaboración del producto sin afectar la calidad del producto. Para validar este resultado teórico se elaboró una formulación de queque utilizando los niveles óptimos de las variables independientes, que luego se sometió a un test sensorial confirmatorio obteniéndose una calificación promedio de CS igual a  $4,6 + 0,2$ , correspondiente a una calificación "Muy Buena" ligeramente superior al valor teórico determinado.

En cuanto al resultado de la actividad de agua esta fue 0.97 causado probablemente por la presencia del musgo y a su capacidad reconocida de absorber y retener agua (23). Debido a esta característica que podría afectar la vida útil del producto, sería recomendable almacenarlo en un ambiente refrigerado.

La Tabla 6 indica la composición química proximal para el producto optimizado, junto con un producto equivalente presente en el mercado.

El contenido de humedad para el producto optimizado de 26,12% fue inferior a la presentada por la muestras comercial de queque, diferencia que puede ser importante teniendo en cuenta que la humedad constituye uno de los controles más severos en la producción y comercialización de productos panaderos y de pastelería.

TABLA 6  
Composición química de la formulación optimizada  
y un producto comercial equivalente. g/100g

Parámetro	Queque experimental	Queque comercial*
Comercial*		
Humedad	26,12	30,05
Proteína **	7,22	6,02
Cenizas	2,14	1,77
Fibra dietaria total	8,67	0,20
Grasa	13,52	11,23
Hidratos de carbono***	42,33	49,73
Calorías (Kcal/ 100g)	320	324

\*Fuente: (39); \*\*N x 6,25; \*\*\* Por diferencia

Es posible que el % de proteína encontrada en el producto optimizado superior a la formulación comercial sea mayormente responsabilidad de la HDA dado que ésta contiene un 19% de proteína (24), valor superior a la encontrada en la harina de trigo. Actualmente se sabe que el tipo de alimentación de la población está muy relacionado con la prevalencia de varias enfermedades crónicas (diabetes, obesidad, hipertensión, y factores de riesgo vital cardio y cerebro vasculares), fenómeno conocido como “síndrome metabólico” (37-38). En Chile así como ocurre en otros países la calidad de la alimentación es deficiente caracterizada por un alto contenido de ácidos grasos saturados, sodio y azúcares simples. Varias son las alternativas para revertir este problema. Una consiste en mejorar los hábitos dietarios incrementando el consumo de fibra por lo que es muy importante que las personas cuenten con acceso a productos enriquecidos con éste componente funcional, como es el caso del producto desarrollado en este estudio, si se toma en cuenta que productos comerciales semejantes existentes en el mercado presentan bajos contenidos de fibra (Tabla 6). En cuanto a las cenizas, se observó una diferencia importante entre los queques, que tiene su explicación en la incorporación de las harinas no tradicionales AR, HDA y musgo SM (4) Por otro lado, la importante presencia de hidratos de carbono en la formulación optimizada, puede ser atribuida a las materias primas utilizadas como la harina de trigo, azúcar y HDA esta última por contener un 59% de azúcares (24). Así y todo, las calorías totales fueron inferiores a las presentadas por el queque comercial debido a la incorporación de los ingredientes AR y SM ambos ricos en componentes no metabolizables.

#### Ensayos de estabilidad al almacenamiento y vida útil

En la Figura 1 aparece graficada la variación de las características sensoriales apariencia, textura y sabor, para las muestras almacenadas a 7 °C y 20 °C, utilizando como referencia un producto recién horneado. Desde el día quinto, se observó

una clara preferencia hacia la muestra refrigerada por sobre la recién horneada y la almacenada a 20°C, particularmente destaca el comportamiento del sabor que se fue acentuando positivamente con el paso del tiempo seguida de la apariencia. En resumen, se puede decir que las condiciones de almacenamiento a baja temperatura permitieron que se conservaran las cualidades sensoriales del producto. Es importante hacer notar que hacia el término de la experiencia fue posible observar indicios de desarrollo de hongos en las muestras almacenadas a 20°C. En cuanto al ensayo de aceptabilidad, los resultados obtenidos fueron muy bueno sobresaliendo las respuestas de “me agrada mucho” totalizando un 75% (Figura 2), debiendo destacar el hecho que el rango de edades de los consumidores encuestados era bastante amplio.

FIGURA 1  
Variación características sensoriales de muestras almacenadas a 7°C (R) y 20°C (A) comparadas con una muestra control (C)

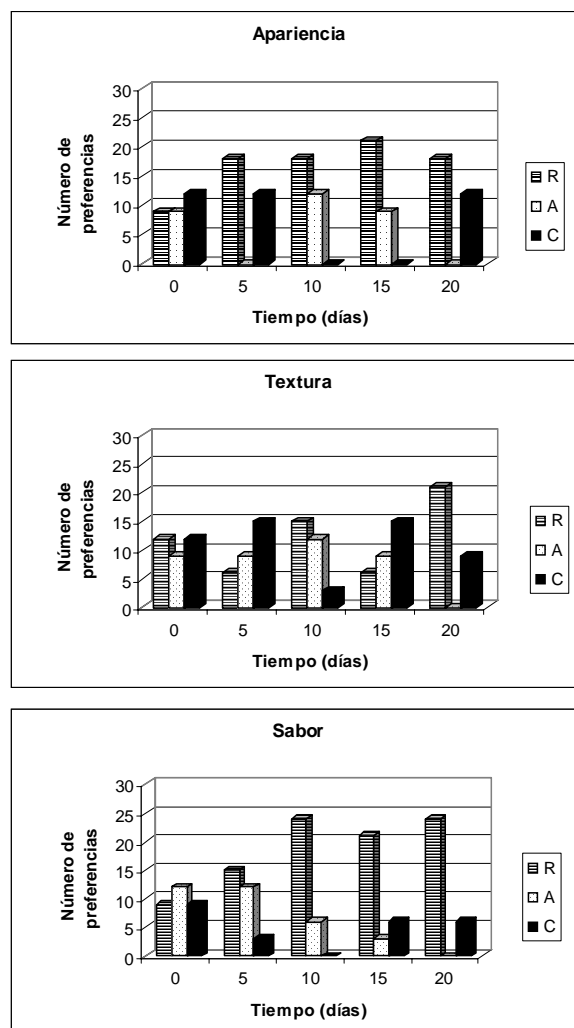
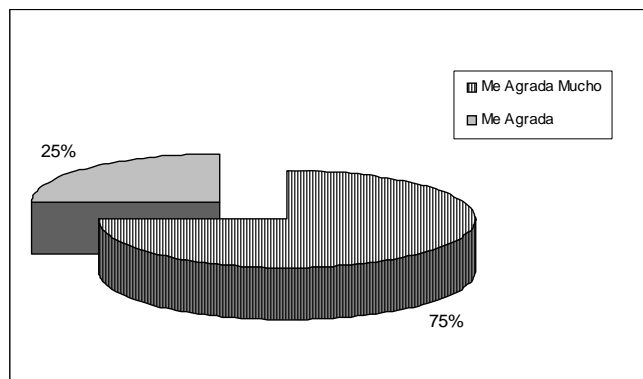


FIGURA 2  
Porcentaje relativo de aceptabilidad



### CONCLUSIONES

- Se determinó la mejor combinación de los factores de control utilizando los niveles mínimos de trabajo, siendo SM y HDA las variables independientes que influyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) en la calidad sensorial. En forma conjunta estas variables de control tuvieron un 83% de contribución relativa sobre la calidad sensorial del producto. Como resultado del test confirmatorio se obtuvo un valor de CS igual a  $4,6 \pm 0,2$  equivalente a muy buena.
- En cuanto a las características químico nutricionales, sobresalieron los componentes proteínas y fibra mostrando valores muy superiores a productos comerciales equivalentes.
- De acuerdo a los ensayos de estabilidad al almacenamiento, el parámetro que mostró mejores preferencias a temperatura de refrigeración fue el sabor seguido de la apariencia, mientras que el más afectado tanto a  $7^{\circ}\text{C}$  como  $20^{\circ}\text{C}$  fue la textura. Se debe destacar además el excelente resultado obtenido en el test hedónico obteniéndose un 100% de respuestas favorables al producto optimizado.
- Se demostró que el empleo de la metodología Taguchi, es efectiva como estrategia de trabajo obteniéndose resultados con reducidas corridas experimentales y en corto tiempo, factores que tienen un impacto significativo en los costos de los ensayos experimentales.

### REFERENCIAS

1. Vasconcellos JA. Functional Foods. Food Science and Nutrition Department, Chapman University, 2000.
2. Hoogenkamp HW. Lifestyle and food: mega changes for mega markets. Food Ingredients, 1994; 3: 23-29.
3. Pak N, Ayala C, Vera G, Pennachiotti I. Fibra dietética soluble e insoluble en cereales y leguminosas cultivadas en Chile. Arch Latinoamer Nutr. 1990; 40 (1): 116-125.
4. Villarroel M, Biolley E, Yáñez E, Peralta R. Caracterización químico nutricional del musgo *Spaghnum magellanicum*. Arch Latinoamer Nutr. 2002, 52 (4): 393-399.
5. Huth M, Dongowski G, Geghardt E, Flamme W. Functional properties of dietary fibre enriched extrudates from barley. J Cereal Sci. 2000; 32: 115-128.
6. Gordon DT. Functional properties vs physiological action of dietary fiber. Cereal Foods World. 1989; 34(7): 517-525.
7. Lajolo FM, Saura-Calixto F, de Penna Wittig E, Meneses EW. Fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud : Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos .Sao Paulo: Livraria Varela. 2001.
8. Saura Calixto F. La fibra dietética en nutrición y salud. Alim Nutr Salud. 1997; (1): 17-22.
9. Brown IJ, McNaught KJ, Andrew D, Morita T. Resistant starch: Plant breeding, application, development, and commercial use". University Press, Advanced Dietary Fiber Technology, Iowa State, 2001.
10. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and non starch polysaccharides. Physiol Rev. 2001; 81: 1031-1064.
11. Slavin JL. Whole grains, dietary fiber, and resistant starch. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul. 2002.
12. Hylla S, Gostner A, Dusel G, Anger Bartram H, Christl SU, Kasper H, Scheppach W. Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention. Am J Clin Nutr. 1998; 67: 136-142.
13. Kleessen B, Stoof G, Proll J, Schmiedel D, Noack J, Blaut M. Feeding resistant starch affects fecal and ceacal microflora and short-chain fatty acids of rats. Journal of Animal Science. 1997; 75: 2453-2462.
14. Schmiedel D, Bäuerlein M, Bengs H, Jacobasch G. Production of heat-stable, butyrogenic resistant starch. Carbohydrate Polymers. 2000; 43: 183-191.
15. Gee JM, Wortley GM.. Effects of resistant starch on intestinal structure and function. En: J.M. Gee and F. M. Nagengast (eds.), Intestinal cell proliferation with emphasis on dietary manipulation. Report of a European FLAIR Concerted Action . San Remo, Italy. 1992.
16. Yue P, Waring S. Functionality of resistant starch in food applications. National Starch & Chemical, reprinted from issue of Food Australia, 1998.
17. Hoebler C, Karinthu A, Chiron H, Champ M, Barry JL. Bioavailability of resistant starch in bread rich in amylose: metabolic responses in healthy subjects and starch structure. Eur J Clin Nutr. 1999; 53: 360-366.
18. Jenkins DJ, Wolever TM, Jenkins AL. Starch foods and glycemic index. Diabetes Care. 1988; 11, 149-159.
19. Morand C, Révész C, Lavrat MA, Demigne C. Replacement of digestible wheat starch by resistant cornstarch alters splanchnic metabolism in rats. J Nutr. 1992; 122: 345-354.
20. De Deckere EA, Kloots WJ, Van Amelsvoort, JM. Resistant starch decreases serum total cholesterol and tricylglycerol concentration in rats. J Nutr. 1993; 123: 2142-2151.
21. Higgins JA, Higbee DR, Donahue WT, Brown IL, Bell ML, Bessesen DH. Resistant starch consumption promotes lipid oxidation. Nutrition & Metabolism. 2004; 1-11.

22. Villarroel M, Acevedo C, Yáñez E, Biolley E. Propiedades funcionales de la fibra del musgo *Sphagnum magellanicum* y su utilización en la formulación de productos de panadería. Arch Latinoamer Nutr. 2003; 53(4): 400-407.
23. Moure A., Dourado F, Sineiro J, Gama F, Domínguez H. Concerning the wound-healing properties of *Sphagnum* holocellulose: the Maillard reaction in pharmacology. J Ethnopharmacol. 2004; 88 (2-3): 145-148.
24. Villarroel M, Biolley E, Ballester D. Suplementación proteica de harina de arveja con harina desgrasada de avellana. Archivos Latinoamer Nutr. 1990; 40(3): 379-386.
25. Rivas RA. Desarrollo de una línea de productos funcionales de masas dulces destinadas al adulto mayor. Tesis para optar al título de Ingeniero en Alimentos. Universidad de la Frontera. 2005. Temuco, Chile.
26. Roy R. Design of Experiments using the Taguchi Approach. Edit. John Wiley & sons, INC, USA; 2001.
27. Roy R. A Primer on the Taguchi Methodology. Edit. SME, Michigan, USA; 1990.
28. Marfil R. Método Taguchi, una herramienta para el mejoramiento de la calidad. Tecnología de alimentos. 1991; 26(5): 14-33.
29. Villarroel M, Castro R, Junod J. Desarrollo de una formulación optimizada de mermelada de damasco de bajo contenido calórico utilizando la metodología Taguchi. Archiv Latinoamer Nutr. 2003; 53 (2): 209-215.
30. Chuaqui P, Wittig de Penna E, Villarroel M. Método de Taguchi para optimizar calidad de postres funcionales destinados al adulto mayor y estudio de prefactibilidad técnico – económica. Revista Chilena de Nutrición. 2004; 31(2): 118-127.
31. Taguchi G, Elsayed A, Hsiang T. Quality Engineering in Production Systems. McGraw-Hill, Inc., New York; 1989.
32. Wittig de Penna E. Evaluación Sensorial, una Metodología actual para Tecnología de Alimentos. 1ª Edición. Talleres Gráficos USACH. Stgo. Chile; 1981.
33. Ureña M, D'Arrigo M, Girón M. Evaluación Sensorial de los Alimentos. Editorial Agraria, Lima, Perú; 1999.
34. Association of Official Analytical Chemistry. AOAC. Official Methods of Analysis, 15a Edition. The Association. Washington DC. 1990.
35. Prosky L, Asp GN., Schweitzer TF, Devrie JW, Furda L. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. Collaborative Study. J Assoc Anal Chem. Int. 1992; 75 (2): 360-367.
36. Yacuzzi E, Martín F, Quiñones H, Popovsky M. El diseño experimental y los métodos de Taguchi: Conceptos y aplicaciones en la industria farmacéutica. Se consigue en URL: <http://www.uv.es/bibsoc/GM/data/Papers/cemdoctra258.html>.
37. Kohli P, Greenland P. Role of the metabolic syndrome in risk assessment for coronary Heart disease. JAMA, 2006; 295: 819-821.
38. López-Candale A. Metabolic syndrome. A comprehensive review of the pathophysiology and recommended therapy. J. Med. 2001; 32:283-300.
39. Villarroel M, Uquiche E, Brito G, et al. Optimización de formulaciones para productos dietéticos de pastelería. Arch. Latinoamer. Nutr. 2000; 50(1): 62-68.

Recibido: 17-10-2006

Aceptado: 01-03-2007

## Evaluación de la posible adulteración de mieles de abeja comerciales de origen costarricense al compararlas con mieles artesanales provenientes de apiarios específicos

Maurico Ureña Varela, Esteban Arrieta Bolaños, Eduardo Umaña, Luis Gabriel Zamora y María Laura Arias Echandi

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales y Facultad de Microbiología Universidad de Costa Rica.  
Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional. Costa Rica

**RESUMEN.** La miel es el principal producto de la apicultura, generado por la abeja *Apis mellifera*. Éste, como cualquier producto alimenticio, debe cumplir con ciertas normas de calidad, propiedades fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas. Entre estos parámetros se encuentran el contenido de hidroximetilfurfural (HMF), indicador de adulteración, sobrecalentamiento y envejecimiento de la miel, la actividad de la enzima diastasa, indicador de sobrecalentamiento, y la determinación de contenido de sacarosa y azúcares simples, indicadores de adulteración. En el presente estudio, se procedió a determinar los anteriores parámetros, además del contenido de glucosa, fructosa e índice fructosa/glucosa a 35 muestras de mieles artesanales obtenidas directamente del apicultor, previamente catalogado como productor con buenas prácticas y 25 de mieles distribuidas en expendios. A su vez, se compararon los resultados poblacionales obtenidos y se les interpretó, con el objetivo de determinar el tipo de alteración que presentara la miel. Se determinó que 89% de las mieles control cumplieron con los parámetros establecidos por el Codex Alimentarius para su contenido de HMF, actividad de diastasa, contenido de sacarosa y de fructosa y glucosa. Contrario, sólo el 20% (5) de las mieles comerciales logró cumplir los estándares internacionales y la normativa nacional. Se destaca que un 24% de las muestra comerciales presentan adición de sacarosa y glucosa, 32% sobrecalentamiento o adulteración con sirope de azúcar invertido, y 24% adición de jarabe de azúcar invertido.

**Palabras clave:** Miel, *Apis mellifera*, HMF, diastasa, adulteración, HPLC, azúcares.

### INTRODUCCION

La miel de abejas es el producto principal de la apicultura. Éste es generado por la abeja conocida como *Apis mellifera* a partir del néctar floral, de la secreción de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores de partes vivas de plantas, los cuales las abejas colectan, transforman, combinan con sustancias específicas propias, almacenan y permiten que en el panal maduren. Este alimento no es completamente uniforme en cuanto a su composición, ya que varía según las abejas que se utilice, la forma de alimentarlas y el procedimiento de producción que se lleve a cabo (1,2). A pesar de esto, los componentes más comunes que se encuentran en

**SUMMARY.** Evaluation of the potential adulteration of commercial honey distributed in Costa Rica compared with artisanian honey samples coming from specific apiaries. Honey is the principal apiculture product, produced by *Apis mellifera* bee. This, as any other food product, has to accomplish certain quality standards, including physicochemical, organoleptic and microbiological properties. Within these parameters, different measures are considered as adulteration indicators, including hydroxymethylfurfural and diastase enzyme activity which are associated to overheating, and the sucrose, glucose and fructose content. In this study, a determination of previous parameters, additional to glucose, fructose and fructose/glucose index was performed to 35 artisan samples, obtained directly from beekeeper, previously characterized as having good productive practices and 25 commercial samples. Same time, the results obtained were compared and interpreted, in order to determine the kind of adulteration present in the honey sample. The 89% of artesian samples accomplished the parameters established by the Codex Alimentarius for HMF content, diastase activity, sucrose and simple sugars content. Nevertheless, only 20% (5) of the commercial samples accomplished the international and national normative. 24% of these samples presented sucrose addition, 32% overheating or inverted sugar syrup addition, and 24% were adulterated with inverted sugar syrup.

**Key words:** Honey, *Apis mellifera*, HMF, diastase, adulteration, HPLC, sugars.

la miel son el agua (17,1%), azúcares (82,4%), proteínas (0,1%) y otros componentes que incluyen vitaminas, minerales, sustancias aromáticas y ácidos orgánicos, entre otros (0,4%). Además, se encuentra en ella cinco enzimas biológicamente activas: la invertasa, la diastasa, la glucosidasa, la catalasa y una fosfatasa ácida (3).

Los azúcares son los principales responsables de las características físicas y del comportamiento químico de la miel. La sacarosa puede encontrarse originalmente hasta en un 1,5%, teniendo en cuenta que este azúcar no debe superar el 5% de acuerdo con la normativa del Codex Alimentarius en mieles comerciales, aunque su cantidad puede disminuir con el tiempo (4).

La adulteración de mieles de abeja se da normalmente por varias razones, entre las que se incluyen la adición de sustitutos artificiales de menor valor como el jarabe de maíz, el “azúcar invertido” obtenido por hidrólisis química, y la sacarosa (azúcar de mesa) en forma de jarabe; la alimentación de colmenas durante el flujo de miel y la alimentación en exceso de las colmenas durante la mielada. (5).

Los métodos de detección de alteraciones en la miel más utilizados, incluyendo la presencia de azúcares extraños y el sobrecalentamiento del producto, incluyen la espectrofotometría de masas del isótopo de carbono (SCIRA) que detecta porcentajes de C13 y C12, relacionados a la producción de azúcares en plantas melíferas C3 y las plantas C4, tales como el maíz y la caña de azúcar, las pruebas de detección de actividad enzimática tales como la diastasa y la invertasa, la presencia del compuesto hidroximetilfurfural (producido por la deshidratación de fructosa y glucosa en medio ácido y con calor) y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la de capa fina (TLC), para examinar perfiles de azúcares (6).

El presente trabajo pretende detectar la presencia de adulteración y las malas prácticas de procesamiento en muestras de mieles comerciales en Costa Rica, comparándolas con muestras procedentes de productores con prácticas artesanales conocidas por medio de la medición de parámetros bioquímicos y químicos en éstas y mediante la comparación de los resultados obtenidos con las diversas normativas existentes.

## MATERIALES Y METODOS

Las muestras de mieles analizadas en la presente investigación provinieron de dos poblaciones diferentes. En primer lugar se recolectaron 35 muestras de apiarios previamente clasificados como de buenas prácticas de apicultura, pertenecientes a 13 de las zonas apícolas más importantes de Costa Rica. (La selección de estos apiarios se basa en un seguimiento hecho por el Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales a través de años, en que controlan enfermedades, químicos utilizados y producción). Asimismo, el presente estudio comprendió también el análisis de 25 muestras de mieles disponibles a los consumidores en el comercio nacional. Las muestras de este tipo fueron recolectadas al azar previamente por Estrada H. (7) como parte de un estudio acerca de las propiedades antimicrobianas de las mieles costarricenses.

### Prueba de cuantificación de HMF de White

#### Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron de tipo “para análisis”.

Solución Carrez I: (hexacianoferrato de potasio (II))

Solución Carrez II: se disolvió 30g de acetato de zinc en 100 mL agua destilada

Solución de bisulfito de sodio 0,20g/100 g.

#### Equipo

Espectrofotómetro ultravioleta-visible, marca Spectronic, modelo Genesis 5 (Thermo Scientific, US).

#### Procedimiento

Se siguió el método descrito por White en “Harmonized methods of the European Honey Commission” de la Comisión Internacional de la Miel (8).

#### Análisis cuantitativo de actividad de la enzima diastasa descrito por Schade

#### Reactivos

Solución de cloruro de sodio: (2,9 g de cloruro de sodio / 100mL de agua destilada).

Solución buffer de acetato (pH 5,3)

Solución de almidón (el equivalente a 2.0000 g de almidón anhidro en 100.00 mL de agua destilada. La disolución del almidón se prepara hirviendo durante 3 minutos la mezcla de almidón y agua destilada, enfriando hasta temperatura ambiente y luego llevando ésta a un balón aforado de 100.00 mL y completando el volumen con agua destilada).

Solución madre de yodo-yoduro (11 g de yodo doblemente sublimado y 22 g de yoduro de potasio se disuelven en agua destilada y se llevan hasta un volumen de 500 mL. Esta disolución se puede guardar durante 1 año en una botella oscura). Solución de yodo diluido: se disolvió 20 g de yoduro de potasio en agua destilada. Se añadió 2 mL de la solución madre de yodo y se diluyó a 500 mL con agua destilada. Se preparó cada día de uso.

#### Equipo

Espectrofotómetro ultravioleta-visible, marca Spectronic, modelo Genesis 5 (Thermo Scientific, US).

#### Procedimiento

Se siguió el método descrito por Shade en “Harmonized Methods” de la Comisión Internacional de la Miel (8).

#### Detección del contenido de azúcares por medio de HPLC

#### Reactivos

Metanol para HPLC

Acetonitrilo para HPLC

Eluente para HPLC: se mezcló 80 volúmenes de acetonitrilo con 20 de agua destilada.

Estándares comerciales “para análisis” de: fructosa, glucosa, sacarosa.

#### Procedimiento

Se siguió el método descrito en en “Harmonized Methods” de la Comisión Internacional de la Miel (8).

La corrida del estándar y muestras se realizó en una columna analítica de acero inoxidable (marca Altech) conteniendo partículas de gel de sílica amino modificada (5 $\mu$ m de diámetro). Las dimensiones de la columna fueron 25 cm de largo y 4,6 mm de diámetro interno. Las condiciones de la corrida fueron: flujo de 1,5 mL/min, fase móvil de acetonitrilo:agua (80:20), temperatura de columna de 30,0°C. La cantidad de estándar y muestra a inyectar fue de 20  $\mu$ L. Se utilizó un cromatógrafo líquido de alta presión (HPLC) marca Shimadzu, modelo LC-10AT. Para la detección de azúcares se utilizó un detector de índice de refracción marca Shimadzu, modelo RID-6 (US).

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los valores promedio, desviación estándar, coeficiente de variación, valores máximo y mínimo para HMF, diastasa y azúcares encontrados en las muestras artesanales evaluadas, a partir de los cuales se procede a comparar las muestras comerciales con el fin de valorar su potencial adulteración.

TABLA 1  
Parámetros estadísticos de las mediciones de contenido de HMF, actividad de diastasa y contenido azúcares de las muestras de mieles artesanales analizadas

	HMF (mg/kg)	DN (UGothe/g)	% fructosa	% glucosa	% sacarosa	Índice (fruct/gluc)	% Azúcares simples (fruct+gluc)
Promedio	24	15,5	37,6	32,0	0,2	1,200	69,5
Desviación estándar	15	4,7	0,9	2,0	0,4	0,066	2,6
CV (%)	60,24	30,25	2,39	6,32	237,90	5,57	3,79
máximo	68	23,7	40,3	36,2	1,7	1,385	75,6
mínimo	8	3,7	35,5	27,8	0,0	1,077	64,9

En las Figuras 1 y 2 se presenta el comportamiento del HMF y la diastasa, respectivamente. Para el HMF se utilizó el valor crítico de 60 mg/kg (y no los 40 mg/kg de la Norma Nacional actual) ya que el Codex Alimentarius lo considera más adecuado para miel de origen tropical y para la diastasa el valor de 8 UGothe/g.

FIGURA 1

Comportamiento de las muestras de mieles artesanales y comerciales según su contenido de HMF

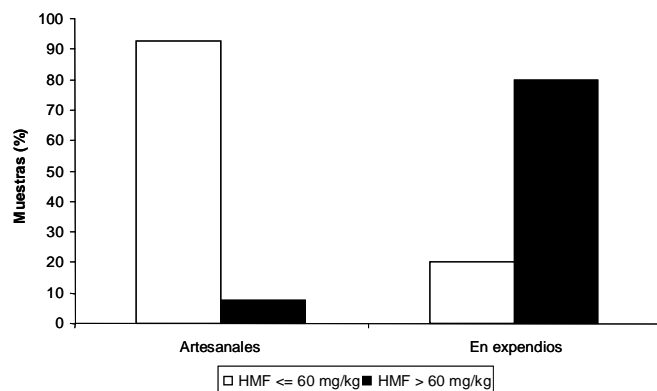
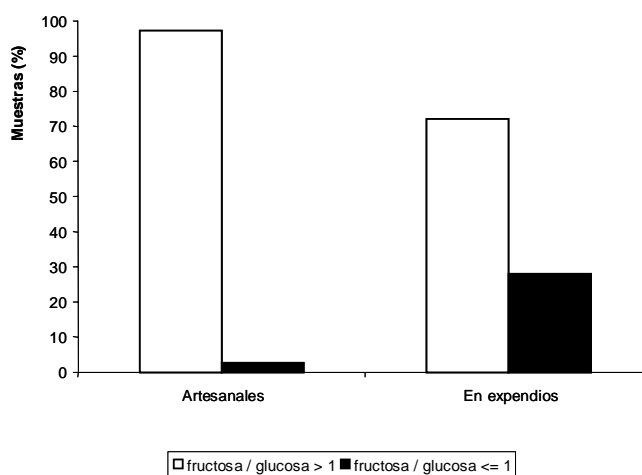


FIGURA 2

Comportamiento de las muestras de mieles artesanales y comerciales según su actividad de diastasa

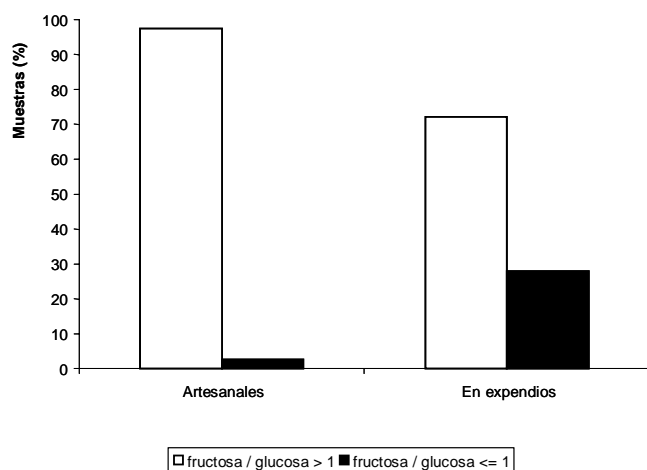


Según se observa en la Figura 1, la mayor parte de las muestras de origen artesanal (92,5%) muestra valores satisfactorios de contenido de HMF, contra tan solo un 20% de las muestras de establecimientos comerciales. La tendencia se mantiene para la prueba de diastasa en la Figura 2, donde el 92% de las muestras artesanales presenta una actividad mínima aceptable de esta enzima contra cerca de dos terceras partes (64%) de las muestras a disposición de los clientes que no cumplen con este parámetro.

En las Figuras 3 y 4 se detallan las distribuciones de las muestras según los parámetros de azúcares aceptados para las mieles de buena calidad. Como valor crítico para la relación fructosa/glucosa se utilizó el valor de  $<1$ . El valor de  $>1$  es una característica de la miel de abejas de origen monofloral, lo cual no corresponde a la realidad de las mieles producidas en Costa Rica (9). Para el contenido de sacarosa se utilizó el 5% recomendado por el Codex Alimentarius y no el 10% vigente en la Norma Nacional ya que este valor va a ser sustituido próximamente en esta Norma (1).

FIGURA 3

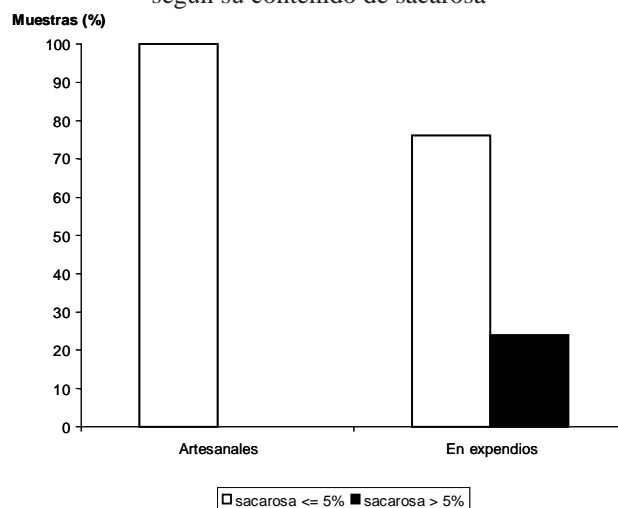
Comportamiento de las muestras artesanales y comerciales según su índice de contenidos de fructosa y glucosa



Al evaluar la proporción de muestras de miel para cada conjunto cuyos parámetros de contenido de HMF, actividad de diastasa y contenidos de azúcares poseen valores todos ellos aceptables y que cumplen con la normativa del Codex Alimentarius, se aprecia que, mientras que en las mieles obtenidas de apicultores artesanales poco más de un 89% de éstas cumple con todos los estándares para los parámetros evaluados en el estudio, solamente un 20% de las mieles a disposición del consumidor obtenidas en expendios logra satisfacer estas demandas de calidad.

FIGURA 4

Comportamiento de las muestras artesanales y comerciales según su contenido de sacarosa



## DISCUSION

Los análisis llevados a cabo en ambos conjuntos de mieles mostraron en todos los casos tendencias distintas para las muestras artesanales y para las obtenidas en expendios. Las alteraciones en el contenido de HMF y la actividad de diastasa se presentan muy raramente en el conjunto de las mieles artesanales, tanto según la norma del Codex Alimentarius como la Norma Nacional. Esto es relevante ya que el HMF es considerado el criterio más confiable para evaluar el envejecimiento y sobrecalentamiento en miel pues éste no debe detectarse en miel fresca (10,11), lo que da una idea de buena calidad en las muestras artesanales.

Estos valores para contenido HMF y actividad de diastasa han resultado concordantes con estudios en otros países. En Pakistán, por ejemplo, se encontró valores menores a 40 mg/kg, así como en Yucatán, México (12,13). La actividad de diastasa, aunque como medida ha sido más cuestionada (14), también tiene valor como parámetro de calidad, y sus valores bajos reflejan, sobretudo, un sobrecalentamiento en la etapa de procesamiento de la miel (12).

Solamente una muestra artesanal mostró resultados que concuerdan con un sobrecalentamiento del producto (contenido de HMF muy alto y actividad de diastasa muy baja).

Los datos obtenidos para azúcares en las muestras de miel artesanal también mostraron coincidir con valores determinados en mieles de otros países como la URSS, Estados Unidos, Rumania y Australia (4,14,15).

La sacarosa siempre puede encontrarse en alguna proporción debido a la incapacidad de las abejas de convertirla completamente. Sin embargo, este valor es bajo, con un conteni-

do promedio de 2,3% (14). El valor promedio de sacarosa para muestras artesanales fue incluso más bajo, de 0,2%. Asimismo, la proporción de azúcares simples observada es superior al 60%, como está recomendado en la Norma Internacional del Codex Alimentarius. Aunque esta norma haya sido establecida en Europa, diversas publicaciones han encontrado resultados similares en otras partes del mundo, tales como Pakistán, México y Burkina Faso (12,13,16). Esto revela que, de acuerdo a las muestras estudiadas, los apicultores artesanales nacionales producen miel de acuerdo con las normas internacionales y nacionales.

Los datos de las muestras artesanales que presentaron un comportamiento aceptable al evaluar sus parámetros HMF, diastasa, y contenido de sacarosa, fueron utilizados para obtener valores indicativos típicos de las mieles en Costa Rica. Su comportamiento fue utilizado para realizar una comparación con las muestras comerciales.

Al analizar el HMF en las muestras comerciales, se encontró que ocho de estas presentaron valores superiores a 200 mg/kg y 12 estaban fuera de la Norma Internacional, superando los 60 mg/kg pero con un contenido menor a 200 mg/kg. Estas 20 muestras no serían aptas para los procesos de importación-exportación (8).

Con respecto a la diastasa, para este parámetro las discrepancias son menores (Figura 2) posiblemente debido a la variabilidad de los valores originales de diastasa en cada muestra (en algunas puede presentarse un contenido natural más alto que en otras mieles). En este hecho se basa el cuestionamiento que se ha realizado a la utilidad de la actividad de diastasa como parámetro de calidad. White (10) señala que para establecer un valor mínimo aceptable, de manera que la medición indique la historia de la miel, se requeriría conocer el valor original de la actividad de diastasa. Este es diferente para muchas mieles, con amplio rango de variación, por lo que no existiría un valor inicial correcto.

Lo anterior ha llevado a que varios países exportadores también hayan objetado los ensayos enzimáticos en general, como parámetro de calidad, debido a que diferentes mieles "frescas" de diferentes orígenes y recolectadas en diferentes condiciones, pueden diferir en gran medida en sus contenidos enzimáticos (14). Además, Karabournioti y Zervalati (11) indica que las dificultades para establecer un límite general para una enzima son enormes, ya que podría ser una norma muy severa para algunas mieles y demasiado permisiva para otras. Sin embargo, su uso en combinación con el HMF da una mayor confianza en los datos pues los valores enzimáticos en la mayor parte de los casos resultan concordantes.

Asimismo, aunque exista una amplia variación natural de la actividad de la enzima, el valor mínimo de 8 UGothé/g como estándar ha resultado de utilidad para evaluar la calidad de las mieles (17), ya que tanto la actividad de diastasa como el contenido de HMF pueden medir el sobrecalentamiento de

la miel, muchas veces éstos son utilizados en conjunto. Al ser la actividad de diastasa más susceptible, ésta reflejaría un ligero sobrecalentamiento, y el HMF un proceso más fuerte. También resulta importante tomar en cuenta que en algunas ocasiones la pérdida parcial o completa de actividad enzimática puede reflejar una falta de cuidado a lo largo del proceso de producción y de almacenamiento, tal como una exposición al sol, un mal almacenaje o un transporte deficiente, como sugiere un estudio en Yucatán, México (13), o bien, por el efecto de la dilución con algún agente adulterante.

Con respecto al análisis de azúcares, los contenidos en muestras artesanales denotan un cumplimiento de los requerimientos. De hecho, la sacarosa aparece en una cantidad muy baja en estas mieles, no siendo detectable en la mayoría de los casos. Por el contrario, éste azúcar aparece más comúnmente en las muestras comerciales lo cual sugiere una adulteración en este conjunto de muestras; 24% de estas muestras presentan valores altos de contenido de sacarosa.

Si bien puede ser que una alta cantidad de sacarosa se deba a la incapacidad de las abejas de convertir esta sustancia debido a una recolecta temprana de la miel o la alimentación de estas con sacarosa durante la concentración (15), valores tan altos como los obtenidos son una indicación fuerte de que estas mieles se encuentran adulteradas. La adulteración que se da es con la llamada azúcar de caña, que consiste en sacarosa, preparado generalmente al 66%.

Al comparar el resto de sus parámetros de azúcares con los obtenidos como referencia a partir de las muestras artesanales, se obtiene que este grupo representante del 24% de las muestras presentan, además de una elevada concentración de sacarosa (>5g/100 g de miel), una disminución en el contenido de fructosa (= 31.1%) y, en el índice de fructosa / glucosa (= 1), todo lo cual correlaciona bien con el supuesto de una adulteración por adición de sacarosa y glucosa. Además, todas estas muestras presentaron contenidos elevados de HMF (entre 91 y 864 mg/kg) y actividades de diastasa muy bajas (menores todas a 1 UGothé/g) lo que indica que también pudo haberse producido un sobrecalentamiento importante de estas mieles, quizás producto de la mezcla.

Por otra parte, 32% de las muestras comerciales fueron mieles en las cuales se encontraron elevaciones en el contenido de HMF (entre 68 y 494 mg/kg) junto con actividad de diastasa disminuida (de 7.2 hasta inclusive valores menores a 1 UGothé/g de miel) y un contenido de sacarosa menor al 5%. En estas muestras los indicadores de azúcares no muestran, en general, alteración con respecto a los promedios e intervalos obtenidos de las muestras artesanales, lo que favorece la suposición de sobrecalentamiento o adulteración con productos como azúcar (que incrementan la cantidad de HMF pero cuya composición en fructosa y glucosa es similar a la miel y por lo tanto no altera la composición de azúcares en la miel adulterada<sup>9</sup> y no con soluciones de sacarosa (10,14).

Un 24% de las muestras comerciales evaluadas presentaron valores moderadamente elevados de HMF (> 60 mg/kg pero < 150 mg/kg) con actividades de diastasa aceptables y valores de los indicadores de azúcares similares a los presentados por las muestras artesanales, incluyendo la no detección de sacarosa en las muestras. Este patrón concuerda con la adición de jarabe de azúcar invertido en una cantidad tal que la dilución causa que la actividad enzimática disminuya pero hasta valores que todavía cumplen con la norma del Codex.

Un 20% de las muestras presentaron valores satisfactorios de contenido de HMF, actividad de diastasa y contenido de azúcares por lo que se deduce que provienen posiblemente de mieles con buenas prácticas de producción y pureza.

En resumen, sólo el 20% (6) de las muestras comerciales logra cumplir los estándares internacionales, contrario a un 89% de las muestras provenientes directamente del apicultor nacional que sí se acoge a la normativa. No obstante, debe recordarse también, la importancia de guardar los cuidados en todas las etapas posteriores a su producción, especialmente la protección del sol y las altas temperaturas, dada la influencia de éstas en la calidad del producto final.

El presente trabajo resulta un importante llamado de atención a las autoridades pertinentes con el fin de que se de un mayor control a las mieles distribuidas en el comercio, ya que como se comprobó, existe un severo incumplimiento de las normas de calidad establecidas.

## REFERENCIAS

1. Norma Oficial para Miel de Abejas. Decreto 13991-MEC, La Gaceta No 224, 22 de noviembre de 1982, Ministerio de Economía y Comercio, Costa Rica.
2. Barker R y Lehner Y. Laboratory comparison of high fructose corn syrup, grape syrup honey, and sucrose syrups maintenance for caged honey bees, *Apidologie*. 1978; 1: 35-42.
3. Bogdanov S. Current status of analytical methods for the detection of residues in bee products. *Apiacta* 2003; 38: 190-193
4. Ramírez Arias JF, Calderón Fallas RA, Ortiz Mora RA, Sanchez Chaves LA. Manual de Apicultura, tomo I, Heredia, Programa de publicaciones e impresiones de la Universidad Nacional. 2003.
5. García N. Contaminación de la miel con alimentos artificiales, Dirección nacional de Alimentos, Mercosur 2003
6. National Honey Board. Testing for Economic Adulteration: <http://www.nhb.org/>
7. Estrada Estrada H, Gamboa MM, Chaves C y Arias ML. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. Evaluación de su carga microbiológica. *Arch Lat Nut*. 2005. 55: 167-171
8. Bogdanov S, Martin C, Lullmann C. Harmonized methods of the European Honey Commission. *International Honey Commission. Apidology*. 2002 Special Issue.
9. Grahnan J. The Hive and the Honey Bee. Dadant and Sons. 1992. pp 873-877.
10. White J. The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. *Bee World* 1994; 75 (3): 104-117.
11. Karabournioti S y Zervolaki P Effect of heating on honey HMF and invertase. *Apiacta*, 2001; 36 (4): 177 – 181
12. Kamai, A; Raza, S; Rashid, N; Hammeed, T; y Nasim, K. Comparative Study of Honey Collected from Different Flora of Pakistan. *Online J B Sci*; 2002; 2: 626-627
13. Moguel Y, Echazarreta C y Mora R. Calidad fisicoquímica de la miel de abeja *Apis mellifera* producida en el estado de Yucatán durante diferentes etapas del proceso de producción y tipos de floración. *Téc Peru Méx*. 2005; 43 (3): 323-334
14. Crane E. Bees and Beekeeping: Science, practice and world resources. Ed. Heinemann Newres. Oxford. 1990.
15. Cismarik J, Hrobonova K, Lehotay J. Determination of monosaccharide and disaccharides in honey by ion exchange high performance chromatography. *Acta facultatis pharmaceuticae universitatis comenianae Tomus LI* 2004.
16. Meda A, Lamien C, Millogo J, Romito M y Nacoulma O. Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey. *ACTA VET BRNO* 2005; 74: 147-152.
17. Bogdanov S, Lullmann C. Honey Quality and International Regulatory Standards, Review by the International Honey Commission, Bee Department, Federal Dairy Research Institute, Suiza 1998.

Recibido: 01-03-2007

Aceptado: 03-04-2007

## Composición y aporte potencial de hierro, calcio y zinc de panes y fideos elaborados con harinas de trigo y amaranto

*Dyner Luis, Drago Silvina R., Piñeiro Adriana, Sánchez Hugo, González Rolando, Villaamil Edda, Valencia Mirta E.*

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Instituto de Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

**RESUMEN.** El amaranto es un cultivo americano autóctono actualmente revalorizado por su elevado potencial alimentario. Los minerales aportados por el grano son cuantitativamente importantes. Sin embargo, la presencia de fitatos en los tegumentos externos del grano hace necesaria la evaluación de la biodisponibilidad de los minerales de interés nutricional pues la harina se obtiene por molienda integral. El proceso de fermentación del pan, sumado al agregado de fitasas y promotores de la dializabilidad mineral, podría mejorar la biodisponibilidad mineral. El objetivo del trabajo fue establecer el porcentaje de proteínas, cenizas, lípidos, fibra dietaria total (FDT), Fe, Zn y Ca y estudiar la dializabilidad de esos minerales - como indicadora de su biodisponibilidad - en panes y fideos elaborados con 100% harina de trigo (HT) y con 20% de reemplazo de HT por harina integral de amaranto (HIA). Como promotores de la biodisponibilidad mineral se utilizaron ácidos ascórbico (AA) y cítrico (AC) y fitasa. Se estableció el aporte potencial (AP) de cada mineral como el producto de su concentración y dializabilidad. En los panes 80:20 se observó un incremento sustancial del contenido de FDT y minerales. El máximo APFe se obtuvo en panes 80:20 con AC y fitasa (0,55 mg%). En fideos, el máximo efecto se observó con AC (0,07 mg%). El APCa fue máximo en fideos 80:20 con AC (16,72 mg%). El mayor APZn se evidenció en pan 80:20 con AC y fitasa (0,40 mg%). La introducción de la HIA en productos panificados fermentados con adición de AC y fitasas permite obtener ventajas nutricionales.

**Palabras clave:** Amaranto, dializabilidad mineral, hierro, calcio, zinc.

### INTRODUCCION

El amaranto se cultiva en América desde hace unos 5.000 años. La primera civilización en explotarlo como un cultivo altamente productivo fue la maya, de quienes los incas y aztecas aprendieron su cultivo y consumo. Se estima que cuando los españoles llegaron a América la producción anual de granos de amaranto superaba las 15.000 toneladas y además formaba parte de los tributos que estos imperios cobraban a los pueblos sometidos. El consumo del amaranto estaba muy arraigado entre los aztecas y era considerado un alimento ritual. Consecuentemente, los colonizadores prohibieron el cultivo

**SUMMARY. Composition and potential contribution of iron, calcium and zinc of bread and pasta made with wheat and amaranth flours.** Amaranth, a traditional american crop that is nowadays given renewed importance, has good food potential value. The minerals contributed by the grain are quantitatively important. However, as the flour is obtained by total grinding of the grain, this process leads to the presence of anti-nutritional components, such as fitates, and therefore, the evaluation of the actual availability of the minerals of nutritional interest becomes necessary. The process of bread fermentation, plus the addition of fitases and enhancers of mineral availability such as citric and ascorbic acid, might improve mineral bioavailability. The objective of this work was to assess protein, ash, lipids and total dietary fiber content and evaluate the concentration and dialyzability of Fe, Zn and Ca (as mineral bioavailability indicator) in bread and pasta 100% wheat, and bread and pasta obtained by replacing 20% wheat flour (WF) with whole amaranth flour (WAF). Ascorbic acid (AA), citric acid (CA) and fitase were used as mineral bioavailability enhancers. The potential contribution of each mineral (PC) was calculated as each mineral concentration times its dialyzability. In 80:20 bread an increase of total dietary fiber and minerals, compared to 100% wheat products was observed. A maximum FePC in 80:20 bread was obtained with CA and fitase (0.55mg%). In pasta, the maximum effect was observed with CA (0.07 mg%). The CaPC was maximum in 80:20 pasta with CA (16.72 mg%). The greatest ZnPC was found in 80:20 bread with CA and fitase (0.40 mg%). The introduction of the WAF in fermented baked products with addition of CA and fitase allows to obtain nutritional advantages.

**Key words:** Amaranth, mineral dialyzability, iron, calcium, zinc.

y uso del amaranto por ser un gran impedimento en la conquista de América. Este hecho, sumado a la sustitución de los cultivos autóctonos por los europeos, redujo de manera significativa la producción del amaranto manteniéndose su producción en zonas de difícil acceso (1-4).

El amaranto es un cultivo anual, altamente eficiente y de rápido crecimiento, que puede desarrollarse entre 0 a 3.300 metros sobre el nivel del mar y prosperar en condiciones agronómicas adversas (sequía, altas y bajas temperaturas, suelos salinos, ácidos o alcalinos), adaptándose fácilmente a distintos ambientes. Con un contenido de proteínas cercano al 16%, el grano de amaranto se compara muy favorablemente

con el trigo (12-14%), arroz (7-10%), maíz (9-10%) y otros cereales de consumo habitual. Su proteína es excepcional en cuanto a su calidad por su alto contenido de lisina y, por lo tanto, un complemento nutricional óptimo para los cereales convencionales deficientes en ese aminoácido. El grano de amaranto, de forma lenticular, tiene un diámetro de 1-1,5 mm. El embrión es anular y circunda externamente a todo el perispermo. Técnicamente es considerado un pseudocereal debido a sus características similares a las de los cereales verdaderos de las monocotiledóneas. Su pequeño tamaño obliga a una molienda integral para la obtención de harinas, lo que conlleva a un aporte cuantitativamente importante de minerales (3-10). Sin embargo, por la presencia de fitatos, es necesario evaluar la real biodisponibilidad de los minerales de interés nutricional.

Por lo expuesto anteriormente y, dada la carencia de estudios sobre la biodisponibilidad de minerales del amaranto, se propuso estudiar el contenido de proteína, lípidos, minerales (expresados como cenizas), fibra dietaria total, hierro, calcio y zinc de panes y pastas (fideos secos) elaborados con un 100% de harina de trigo y con un 20% de reemplazo de harina de trigo por harina integral de amaranto para evaluar si ese porcentaje de sustitución mejora significativamente la calidad nutricional de los productos mezcla respecto de los controles 100% trigo.

Dado que la harina de amaranto proviene de la molienda integral del grano y que esto conlleva el aporte de minerales de interés nutricional y de fitatos, se consideró conveniente estudiar la dializabilidad y aporte potencial de hierro, calcio y zinc de los productos antes mencionados y evaluar si se obtiene una mejora significativa en la biodisponibilidad de minerales por efecto del agregado de fitasas, la fermentación panaria, el proceso de elaboración de los fideos y el agregado de promotores de la biodisponibilidad mineral.

La dializabilidad, utilizada como un estimador de la biodisponibilidad, es la proporción de un elemento que difunde a través de una membrana semipermeable durante la etapa de digestión intestinal, después de un período que permitiría llegar al equilibrio. Se ha demostrado que la técnica de equilibrio de diálisis se puede utilizar para estimar muchos factores inhibidores o promotores de la absorción de hierro (11) y para examinar la influencia de procesos sobre la biodisponibilidad del hierro de un alimento (12).

Aunque ningún método *in vitro* puede reproducir las condiciones fisiológicas imperantes en los estudios *in vivo*, la técnica de dializabilidad demostró resultados similares a los obtenidos en estudios en humanos para hierro (11). Si bien sólo ha sido validado para el hierro, se utiliza también para medir disponibilidad de otros minerales tales como Zn, Ca, Mg y Cu.

Con respecto a zinc y calcio, varios autores observaron que esta técnica ha mostrado una buena correlación con

estudios *in vivo* (13-16). Kernefick y Cashman (17) encontraron que la técnica de dializabilidad puede ser un método de *screening* útil para evaluar el efecto de ciertos factores dietarios como fitatos, oxalato, fibra, lactosa y caseíno-fosfolípidos que afectan la absorción de calcio, dado que presenta buena correlación con los resultados de estudios *in vivo*.

## MATERIALES Y METODOS

### Materias primas y productos analizados

Harina de amaranto (*Amaranthus caudatus*) obtenida por molienda integral del grano (HIA) en un molino martillo (Retsch KG) con malla de 0.75 mm. Se realizó la molienda hasta que toda la muestra pasara por un tamiz de 420  $\mu$ m. Harina de trigo (*Triticum vulgare*) comercial con 75% de extracción (HT).

### Productos

Pan y pastas (fideos secos). Se elaboraron productos 100% HT y 80:20 HT: HIA. Todos los productos fueron elaborados a nivel laboratorio en el Instituto de Tecnología de Alimentos (UNL).

Los fideos fueron obtenidos utilizando un extrusor Bravender 10 DN, con tornillo, a una velocidad de rotación de 60 rpm; se utilizó una boquilla de teflón de 1 mm. La temperatura de la masa durante la extrusión estuvo comprendida entre 35 - 40°C en todos los casos. La sémola de trigo y sus mezclas con los agregados fue acondicionada agregando agua para alcanzar una humedad de la mezcla de 36%; para ello se utilizó un mezclador planetario marca Bravender. Los fideos se secaron en estufa con corriente de aire a una temperatura de 40°C y humedad relativa de 75%.

Se agregaron como promotores de la biodisponibilidad mineral: ácido ascórbico (AA) 100 (pan control), 410 y 820 ppm (relación molar Fe:AA 1:1; 1:4 y 1:8 respectivamente), ácido cítrico (AC) 0,33% p/p (relación molar Fe:AC 1:30) y fitasa (F) 100 ppm (Sigma P-9792). Para el análisis de la dializabilidad de minerales de las pastas se procedió a su cocción previa en agua destilada a ebullición durante 10 minutos, utilizando una relación agua/pasta de 10/1 (p/p).

### Métodos

#### Análisis de la composición de materias primas y productos

La determinación del contenido de agua, proteínas, lípidos, cenizas y fibra dietaria total (FDT) se realizó de acuerdo con la metodología especificada por la AOAC (18).

Los factores utilizados para transformar el porcentaje de nitrógeno en porcentaje de proteína en las materias primas y en los productos fueron:

$f = 5,71$  para HT, pan 100% trigo y fideos 100% trigo.

$f = 5,85$  para HIA.

Para los productos mezcla se utilizó  $f = 5,738$ . Este factor surge de la combinación de un 80% del factor correspondiente a la harina de trigo (5,71) y un 20% al especificado para la Harina Integral de Amaranto (5,85). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### Disponibilidad mineral in vitro y cuantificación de minerales

Se utilizó agua destilada y desionizada en todos los experimentos. El material utilizado se lavó con  $\text{HNO}_3$  al 20%, se enjuagó con agua destilada y desionizada y se secó en estufa. Los reactivos utilizados fueron de calidad analítica.

**Suspensión acuosa de a-amilasa:** Se suspendieron 4 g de a-amilasa tipo VI-B (Sigma A-3176) en 60 ml de agua desionizada.

**Suspensión acuosa de pepsina:** Se suspendieron 16 g de pepsina (Sigma P-7000) en 100 ml  $\text{HCl}$  0,1 N.

**Suspensión acuosa de extracto de bilis / pancreatina:** Se suspendieron 2,5 g de extracto de bilis (Sigma B-8631) y 0,4 g de pancreatina (Sigma P-1750) en 100 ml de  $\text{NaHCO}_3$  0,1%.

**Buffer PIPES:** Se disolvieron 5,19 g de PIPES [sal disódica de piperazina-N,N'-bis (ácido 2-etansulfónico)] (Sigma P-3768), en un volumen final de 100 ml con agua desionizada. El pH del buffer se ajustó previamente con  $\text{HCl}$  6N según la metodología descrita por Wolfgor y col (19).

**Bolsas de diálisis:** Se utilizaron membranas de diálisis marca Spectra/Por® 1 (Spectrum Laboratories Inc., CA, Estados Unidos) de 14,6 mm de diámetro, 20 cm de longitud y cut-off de 6000-8000 Daltons. Se sumergieron en agua desionizada por lo menos 1 hora antes de su utilización.

**Dializabilidad de minerales:** La dializabilidad porcentual de Fe, Ca y Zn (DFe%, DCa% y DZn%) como indicadores de la biodisponibilidad potencial de cada mineral se determinó con el método *in vitro* de Miller y col. (20), modificado por Wolfgor y col. (19). La metodología incluye una digestión enzimática que simula el proceso fisiológico en condiciones controladas de pH y la posterior cuantificación de los minerales por espectrometría de absorción atómica – atomización en llama.

La primera etapa consistió en la digestión de alícuotas de homogeneizados (11,5 g de muestra en 38,5 ml de agua

desionizada) con 5 ml de la suspensión de a-amilasa durante 30 minutos a 37°C en un baño con agitación. Luego se reguló el pH a 2 con  $\text{HCl}$  6 N para la digestión pepsínica. Se agregó 1,6 ml de la suspensión de pepsina y se continuó la incubación en un baño de temperatura controlada con agitación durante 2 h a 37°C. Finalizada la digestión se tomaron 2 alícuotas de 3 - 5 g del digerido para realizar su mineralización con 10 ml de una mezcla nitro-perclórica (50:50) durante 4 h a 120°C. Finalizada la mineralización, se trasvasaron los mineralizados a matraces de 25 ml, se enrasó con agua desionizada y finalmente se

cuantificaron los minerales por espectrometría de absorción atómica – atomización en llama (18, 21) en un equipo Varian® modelo Spectra AA220®.

Dos alícuotas de 15 - 16 g del digerido pepsínico se colocaron en vasos plásticos con tapa a los que se agregó una bolsa de diálisis conteniendo 18,75 ml de buffer PIPES. El pH del buffer (6,6 a 6,9) se estableció en función de estudios realizados sobre la matriz alimentaria evaluada, con el objeto de obtener un pH final uniforme de  $6,5 \pm 0,2$  en el sistema digerido/dializado (20).

Luego de 1 h de digestión/diálisis (cuando el pH alcanzó un valor mínimo de 4,5) se incorporó a cada alícuota en estudio 3,75 ml de una suspensión de bilis-pancreatina; se continuó la incubación durante 2 h a 37°C en un baño con agitación. Finalizada la digestión pancreática, se retiraron las bolsas de los vasos de incubación y se enjuagaron con agua desionizada. Los dializados se vertieron dentro de tubos de ensayo previamente tarados, se registró el peso de los dializados y se mineralizaron con 5 ml de ácido nítrico a 120°C durante 4 h. Finalizada la mineralización, se trasvasaron los mineralizados a matraces de 25 ml y se enrasó con agua desionizada. Los minerales se cuantificaron por espectrometría de absorción atómica – atomización en llama.

El porcentaje de cada mineral (hierro, zinc y calcio) en el dializado se relacionó con su concentración porcentual en el digerido de pepsina. Se obtuvo de esta manera la dializabilidad mineral porcentual.

$$\text{Dializabilidad mineral \%} = \frac{\text{mg de cada mineral en el dializado} \times 100}{\text{mg de cada mineral en el digerido}}$$

La concentración de Fe, Zn y Ca en los distintos productos se estableció mediante una mineralización de 1 g de cada muestra con 10 ml de una mezcla nitro-perclórica (50:50) durante 4 h a 120°C. Finalizada la mineralización, se trasvasaron los mineralizados a matraces de 25 ml, se enrasó con agua desionizada y finalmente se cuantificaron los minerales por espectrometría de absorción atómica.

Se estableció el aporte potencial de cada mineral (AP) en

los distintos productos teniendo en cuenta su concentración y dializabilidad.

$$\text{APFe} = ([\text{Fe}] \times \text{DFe}\%)/100; \quad \text{APCa} = ([\text{Ca}] \times \text{DCa}\%)/100;$$

$$\text{APZn} = ([\text{Zn}] \times \text{DZn}\%)/100$$

Las determinaciones se realizaron por sextuplicado.

### Análisis estadístico

Para el estudio estadístico de cada uno de los puntos tratados en el presente trabajo se realizó un Análisis de la Varianza (ANOVA) de un criterio y para las comparaciones a posteriori se utilizó la prueba de Tukey-Kramer con un nivel de significación global del 5%. Se utilizó el software Infostat y se consideraron significativas las probabilidades de error menores al 5% (22).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Evaluación de la composición de las harinas de trigo e integral de amaranto y productos elaborados con mezclas de harina de trigo y de amaranto (pan y pastas)

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos para las materias primas y productos mezcla. Los niveles de proteína, cenizas, materia grasa y fibra dietaria total están comprendidos entre los señalados en la bibliografía para la semilla de amaranto y la harina de trigo (5, 6, 8, 10, 23, 24).

El contenido de proteína y minerales de la harina integral de amaranto fue significativamente superior (20% más proteínas y 370% más minerales) a la harina de trigo (Tabla 1). La harina integral de amaranto con la que se elaboraron los panes y fideos contuvo 18 veces más hierro, 11 veces más calcio y 3,5 veces más zinc que la harina de trigo utilizada con ese mismo fin (Tabla 2).

TABLA 1  
Composición en base seca de las materias primas y productos (g/100 g)

	Proteínas	Cenizas	Lípidos	FDT*
Harina de trigo (HT)	13,37 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,68 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,30 ± 0,06 <sup>a</sup>	5,00 ± 0,03 <sup>b</sup>
Harina integral de amaranto (HIA)	16,03 ± 0,07 <sup>d</sup>	3,17 ± 0,03 <sup>f</sup>	5,55 ± 0,18 <sup>d</sup>	14,41 ± 0,88 <sup>e</sup>
HT:HIA (80:20)	14,11 ± 0,12 <sup>c</sup>	1,16 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,35 ± 0,06 <sup>b</sup>	6,90 ± 0,05 <sup>d</sup>
Pan 100% trigo	13,82 ± 0,18 <sup>b</sup>	2,85 ± 0,01 <sup>e</sup>	0,30 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,97 ± 0,06 <sup>b</sup>
Pan 80:20 (HT:HIA)	14,40 ± 0,01 <sup>c</sup>	3,23 ± 0,02 <sup>f</sup>	5,49 ± 0,10 <sup>d</sup>	6,87 ± 0,06 <sup>d</sup>
Fideos 100% trigo	13,88 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,88 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,53 ± 0,04 <sup>b</sup>	3,58 ± 0,08 <sup>a</sup>
Fideos 80:20 (HT :HIA)	14,30 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,27 ± 0,02 <sup>d</sup>	2,13 ± 0,02 <sup>c</sup>	5,71 ± 0,02 <sup>c</sup>

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05).

FDT\* = Fibra dietaria total

TABLA 2  
Contenido en base seca de Fe, Ca y Zn de las materias primas y panes (mg/100 g)

	Fe	Ca	Zn
Harina de trigo (HT)	0,68 ± 0,02 <sup>a</sup>	18,46 ± 0,98 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,01 <sup>a</sup>
Harina integral de amaranto (HIA)	12,11 ± 0,73 <sup>c</sup>	205,98 ± 4,48 <sup>c</sup>	3,33 ± 0,04 <sup>d</sup>
HT:HIA (80:20)	2,79 ± 0,11 <sup>b</sup>	48,52 ± 2,93 <sup>b</sup>	1,63 ± 0,02 <sup>b</sup>
Pan 100% trigo	0,90 ± 0,12 <sup>a</sup>	18,75 ± 1,50 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,06 <sup>a</sup>
Pan 80:20 (HT:HIA)	3,24 ± 0,29 <sup>b</sup>	50,29 ± 4,01 <sup>b</sup>	1,87 ± 0,04 <sup>c</sup>
Pan 80:20* + F	3,25 ± 0,13 <sup>b</sup>	50,94 ± 2,86 <sup>b</sup>	1,84 ± 0,01 <sup>c</sup>
Pan 80:20* + AC	3,00 ± 0,19 <sup>b</sup>	50,91 ± 2,10 <sup>b</sup>	1,79 ± 0,04 <sup>c</sup>
Pan 80:20* + F + AC	3,24 ± 0,22 <sup>b</sup>	47,67 ± 2,77 <sup>b</sup>	1,87 ± 0,04 <sup>c</sup>
Pan 80:20* + 410 ppm AA	3,08 ± 0,11 <sup>b</sup>	44,20 ± 2,56 <sup>b</sup>	1,83 ± 0,06 <sup>c</sup>
Pan 80:20* + F + 410 ppm AA	3,13 ± 0,19 <sup>b</sup>	44,60 ± 2,57 <sup>b</sup>	1,82 ± 0,04 <sup>c</sup>
Pan 80:20* + 820 ppm AA	3,07 ± 0,18 <sup>b</sup>	48,85 ± 3,96 <sup>b</sup>	1,83 ± 0,01 <sup>c</sup>
Pan 80:20* + F + 820 ppm AA	3,02 ± 0,06 <sup>b</sup>	50,07 ± 1,61 <sup>b</sup>	1,78 ± 0,02 <sup>c</sup>

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05).

\*(HT:HIA)

En la harina mezcla con un reemplazo del 20% de la harina de trigo (HT) por HIA se incrementó el contenido de proteína en un 6%. Se obtuvo también un incremento significativo en cuanto al contenido global de minerales con respecto a la HT (tabla 1): se logró un aumento del 310% en el hierro, 160% en el calcio y un 66% en el zinc (Tabla 2).

Los panes 80:20 (HT:HIA) aportaron, en comparación con el pan 100% trigo, 4% más de proteína. Se incrementó significativamente el aporte de minerales y el de fibra dietaria total. Si bien es recomendable incorporar fibra en la dieta para una adecuada alimentación (por sus efectos protectores a nivel intestinal y para un mejor manejo de los pacientes con diabetes o con hipercolesterolemia), en ella también se incluyen fitatos que disminuyen la biodisponibilidad de minerales esenciales como hierro, calcio y zinc (25). En los panes 80:20 (HT:HIA) se logró incrementar el contenido de hierro 260%, el de calcio 160%

y el de zinc 80%, con respecto al pan 100% trigo (Tabla 2).

En relación con los fideos 100% trigo, los fideos 80:20 (HT:HIA) presentaron un incremento del 3% en el contenido de proteína y aportaron significativamente más fibra (60%) y minerales (50%), resultando superiores en el contenido de hierro, que se incrementó 230%, el de calcio 180% y el de zinc 65% (Tablas 1 y 3).

#### Disponibilidad de minerales y efecto de los promotores de biodisponibilidad

#### Dializabilidad porcentual del hierro (DFe%)

La DFe% resultó despreciable en la HIA y muy baja en la mezcla HT:HIA (Tabla 4). El proceso de fermentación panaria incrementó significativamente la DFe%, tanto para el pan 100% trigo como para el pan con la mezcla 80:20 (HT:HIA), respecto a las harinas respectivas.

TABLA 3  
Contenido en base seca de Fe, Ca y Zn de las materias primas y fideos (mg/100 g)

	Fe	Ca	Zn
Harina de trigo (HT)	0,68 ± 0,02 <sup>a</sup>	18,46 ± 0,98 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,01 <sup>a</sup>
Harina integral de amaranto (HIA)	12,11 ± 0,73 <sup>c</sup>	205,98 ± 4,48 <sup>c</sup>	3,33 ± 0,04 <sup>c</sup>
HT:HIA (80:20)	2,79 ± 0,11 <sup>b</sup>	48,52 ± 2,93 <sup>b</sup>	1,63 ± 0,02 <sup>b</sup>
Fideos 100% trigo	0,81 ± 0,08 <sup>a</sup>	17,38 ± 0,28 <sup>a</sup>	1,02 ± 0,08 <sup>a</sup>
Fideos 80:20 (HT:HIA)	2,74 ± 0,06 <sup>b</sup>	49,06 ± 1,03 <sup>b</sup>	1,69 ± 0,05 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + AC	2,62 ± 0,04 <sup>b</sup>	48,84 ± 1,25 <sup>b</sup>	1,68 ± 0,02 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + 410 ppm AA	2,75 ± 0,07 <sup>b</sup>	49,14 ± 0,84 <sup>b</sup>	1,59 ± 0,04 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + F + 410 ppm AA	2,69 ± 0,09 <sup>b</sup>	50,68 ± 0,81 <sup>b</sup>	1,66 ± 0,02 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + 820 ppm AA	2,65 ± 0,08 <sup>b</sup>	48,24 ± 0,95 <sup>b</sup>	1,61 ± 0,01 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + F + 820 ppm AA	2,68 ± 0,08 <sup>b</sup>	49,42 ± 0,60 <sup>b</sup>	1,69 ± 0,01 <sup>b</sup>

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05). \*(HT:HIA)

TABLA 4  
Porcentaje de dializabilidad de Fe, Ca y Zn en materias primas y panes

	Fe	Ca	Zn
Harina de trigo (HT)	9,88 ± 0,70 <sup>e</sup>	44,09 ± 1,01 <sup>f</sup>	10,05 ± 0,53 <sup>c,d,e</sup>
Harina integral de amaranto (HIA)	0,61 ± 0,05 <sup>a</sup>	7,25 ± 0,60 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,25 <sup>a</sup>
HT:HIA (80:20)	3,35 ± 0,33 <sup>b</sup>	10,01 ± 0,20 <sup>b</sup>	4,97 ± 0,58 <sup>b</sup>
Pan 100% trigo	15,15 ± 0,70 <sup>g</sup>	40,39 ± 0,80 <sup>c</sup>	13,81 ± 1,46 <sup>f</sup>
Pan 80:20 (HT:HIA)	6,77 ± 1,02 <sup>c</sup>	15,85 ± 1,20 <sup>c</sup>	8,28 ± 1,43 <sup>c</sup>
Pan 80:20* + F	7,47 ± 1,43 <sup>c,d</sup>	17,37 ± 1,08 <sup>c</sup>	8,92 ± 0,94 <sup>c,d</sup>
Pan 80:20* + AC	13,07 ± 1,77 <sup>f</sup>	20,49 ± 2,14 <sup>d</sup>	19,31 ± 1,27 <sup>g</sup>
Pan 80:20* + F+ AC	16,88 ± 1,69 <sup>g</sup>	22,30 ± 1,21 <sup>d</sup>	21,42 ± 0,84 <sup>g</sup>
Pan 80:20* + 410 ppm AA	6,61 ± 1,08 <sup>c</sup>	20,65 ± 2,28 <sup>d</sup>	9,77 ± 0,91 <sup>c,d,e</sup>
Pan 80:20* + F + 410 ppm AA	7,52 ± 1,59 <sup>c,d</sup>	21,34 ± 1,53 <sup>d</sup>	9,99 ± 1,17 <sup>c,d,e</sup>
Pan 80:20* + 820 ppm AA	8,83 ± 0,40 <sup>d,e</sup>	20,56 ± 1,49 <sup>d</sup>	11,22 ± 1,58 <sup>e</sup>
Pan 80:20* + F + 820 ppm AA	10,14 ± 1,28 <sup>e</sup>	20,67 ± 1,52 <sup>d</sup>	10,58 ± 2,58 <sup>d,e</sup>

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05). \*(HT:HIA)

Al evaluar los valores de DFe% de los panes 80:20, con y sin fitasa, no se evidenció una diferencia significativa al incluir la fitasa en la formulación. Al comparar los valores obtenidos de DFe% de los panes 80:20 con AC, con y sin fitasa, se evidenció una diferencia significativa. Esto podría deberse al efecto acidificante del AC en el proceso de fermentación panaria donde actuaría la fitasa. Este efecto no se observó para las formulaciones que incluyeron los dos niveles de AA en las que se agregó la fitasa, posiblemente por no alcanzarse un pH óptimo para la enzima. El máximo incremento en la DFe% de los panes elaborados con la mezcla se obtuvo agregando AC y fitasas. Para esta mezcla y combinación de promotores, la DFe% fue estadísticamente igual a la del pan 100% trigo. Por lo tanto, la adición de estos promotores contrarrestó el efecto inhibitorio de los componentes presentes en la harina de

amaranto (fitatos y fibra). El AA sólo promovió la dializabilidad del Fe cuando se agregó en mayor cantidad (820 ppm). La presencia de oxidasas en la harina y el proceso térmico de cocción podrían justificar su baja actividad promotora (26).

La DFe% en los fideos 80:20 fue muy baja y mejoró significativamente con la incorporación de AC (Tabla 5). Sin embargo, la DFe% de los fideos 100% trigo fue significativamente superior a la de los fideos elaborados con la mezcla. Ni el AA, ni la fitasa, en los niveles utilizados, mejoraron la DFe%. La ausencia de una etapa de fermentación y las interacciones generadas durante la extrusión explican las diferencias encontradas en la DFe% de los fideos respecto a la de los productos panificados.

TABLA 5  
Porcentaje de dializabilidad de Fe, Ca y Zn en materias primas y fideos

	Fe	Ca	Zn
Harina de trigo (HT)	9,88 ± 0,70 <sup>f</sup>	44,09 ± 1,01 <sup>f</sup>	10,05 ± 0,53 <sup>c</sup>
Harina integral de amaranto (HIA)	0,61 ± 0,05 <sup>a</sup>	7,25 ± 0,60 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,25 <sup>a</sup>
HT:HIA (80:20)	3,35 ± 0,33 <sup>d</sup>	10,01 ± 0,20 <sup>b</sup>	4,97 ± 0,58 <sup>b</sup>
Fideos 100% trigo	4,59 ± 0,82 <sup>e</sup>	41,31 ± 2,10 <sup>e</sup>	12,72 ± 1,29 <sup>d</sup>
Fideos 80:20 (HT:HIA)	0,98 ± 0,19 <sup>a,b</sup>	28,21 ± 1,56 <sup>c</sup>	4,85 ± 0,74 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + AC	2,71 ± 0,35 <sup>d</sup>	34,23 ± 1,36 <sup>d</sup>	10,27 ± 1,37 <sup>c</sup>
Fideos 80:20* + 410 ppm AA	1,08 ± 0,09 <sup>a,b,c</sup>	28,34 ± 1,36 <sup>c</sup>	4,99 ± 0,11 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + F + 410 ppm AA	1,21 ± 0,13 <sup>a,b,c</sup>	27,79 ± 1,28 <sup>c</sup>	4,95 ± 0,14 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + 820 ppm AA	1,39 ± 0,31 <sup>b,c</sup>	27,96 ± 1,81 <sup>c</sup>	4,98 ± 0,51 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + F + 820 ppm AA	1,76 ± 0,09 <sup>c</sup>	28,12 ± 1,53 <sup>c</sup>	5,07 ± 0,28 <sup>b</sup>

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

\*(HT:HIA)

#### Dializabilidad porcentual del calcio (DCa%)

La máxima DCa% se evidenció en la harina y el pan 100% trigo. El proceso de fermentación del pan incrementó significativamente la DCa% respecto de lo observado en la mezcla 80:20. La incorporación de promotores y sus combinaciones incrementaron aún más la DCa% del pan mezcla 80:20. Si bien se logró incrementar la DCa% en el pan mezcla mediante la incorporación de fitasa, no se evidenció una mejora estadísticamente significativa. Este efecto también se observó en el pan 80:20 al incorporar a la formulación con AC la enzima. Esto podría deberse a que el efecto de la fitasa no logró clivar la suficiente cantidad de uniones fosfato de los fitatos y liberar el calcio para su disponibilidad.

Con respecto a los fideos, la DCa% de la mezcla 80:20 fue significativamente menor que la de los fideos 100% trigo (Tabla 5), debido a la fibra aportada por la HIA y a la ausencia de fermentación. La mayor DCa% en los fideos 80:20 se observó en la formulación que incluyó AC.

#### Dializabilidad porcentual del zinc (DZn%)

La DZn% fue baja en la HIA (Tabla 4). El proceso de fermentación del pan incrementó significativamente la DZn% respecto a lo observado en la mezcla HT:HIA (80:20). Se logró mejorar significativamente la DZn% respecto del pan 100% trigo mediante la incorporación de AC y [AC + fitasas] en la formulación del pan elaborado con la mezcla de harinas. Al igual que lo observado para el hierro, la adición de estos promotores contrarrestó el efecto inhibitorio de los componentes presentes en la harina de amaranto (fitatos y fibra). El AA sólo promovió la dializabilidad del Zn cuando se agregó en mayor cantidad (820 ppm). La presencia de oxidasas en la harina y el proceso térmico de cocción podrían justificar su baja actividad (26).

La DZn% de los fideos 100% trigo (tabla 5) fue significativamente superior a la de los fideos 80:20 debido a la presencia de componentes con efecto inhibitorio propios de la HIA; la DZn% aumentó significativamente en los fideos 80:20 al incorporar AC a la formulación. La utilización de

AA no afectó significativamente la DZn% respecto a los fideos 80:20 o la mezcla 80:20, pudiéndose deber esto a la degradación del promotor en el proceso de elaboración de las pastas, su almacenamiento y cocción.

#### Aporte potencial de hierro (APFe)

El APFe fue 29% superior en la mezcla 80:20 respecto a la HIA (Tabla 6); se observó un incremento significativo del APFe debido a la fermentación panaria. El máximo incremento

en el APFe se obtuvo para el pan 80:20 que incluyó como promotores AC y fitasa. En esta formulación el APFe fue significativamente superior al de los panes 80:20 y 100% trigo.

El APFe en los fideos fue considerablemente inferior al de los panes (Tabla 7). La formulación que incluyó AC presentó un APFe significativamente superior al de los fideos elaborados con HIA y HT; su aporte potencial fue un 90% mayor al de los fideos 100% trigo.

TABLA 6  
Aporte potencial de Fe, Ca y Zn en materias primas y panes (mg/100 g)

	Fe	Ca	Zn
Harina de trigo (HT)	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	8,14 ± 0,19 <sup>b,c</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>b</sup>
Harina integral de amaranto (HIA)	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	14,93 ± 1,23 <sup>g</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>a</sup>
HT:HIA (80:20)	0,09 ± 0,01 <sup>a,b</sup>	4,86 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>a,b</sup>
Pan 100% trigo	0,14 ± 0,01 <sup>b</sup>	7,57 ± 0,15 <sup>b</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>c</sup>
Pan 80:20 (HT:HIA)	0,22 ± 0,03 <sup>c,d</sup>	8,07 ± 0,61 <sup>b,c</sup>	0,16 ± 0,03 <sup>c,d</sup>
Pan 80:20* + F	0,24 ± 0,05 <sup>c,d</sup>	8,74 ± 0,55 <sup>b,c,d</sup>	0,16 ± 0,02 <sup>c,d</sup>
Pan 80:20* + AC	0,39 ± 0,05 <sup>f</sup>	10,43 ± 1,09 <sup>f</sup>	0,35 ± 0,02 <sup>f</sup>
Pan 80:20* + F + AC	0,55 ± 0,06 <sup>g</sup>	10,63 ± 0,58 <sup>f</sup>	0,40 ± 0,02 <sup>g</sup>
Pan 80:20* + 410 ppm AA	0,20 ± 0,03 <sup>c</sup>	9,13 ± 1,01 <sup>c,d,e</sup>	0,18 ± 0,02 <sup>c,d,e</sup>
Pan 80:20* + F + 410 ppm AA	0,24 ± 0,05 <sup>c,d</sup>	9,52 ± 0,63 <sup>d,e,f</sup>	0,18 ± 0,02 <sup>c,d,e</sup>
Pan 80:20* + 820 ppm AA	0,27 ± 0,01 <sup>d,e</sup>	10,04 ± 0,73 <sup>e,f</sup>	0,21 ± 0,03 <sup>e</sup>
Pan 80:20* + F + 820 ppm AA	0,31 ± 0,04 <sup>e</sup>	10,35 ± 0,76 <sup>e,f</sup>	0,19 ± 0,05 <sup>d,e</sup>

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05).

\*(HT:HIA)

TABLA 7  
Aporte potencial de Fe, Ca y Zn en materias primas y fideos (mg/100 g)

	Fe	Ca	Zn
Harina de trigo (HT)	0,07 ± 0,01 <sup>c</sup>	8,14 ± 0,19 <sup>b</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>c</sup>
Harina integral de amaranto (HIA)	0,07 ± 0,01 <sup>c</sup>	14,93 ± 1,23 <sup>d</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>a</sup>
HT:HIA (80:20)	0,09 ± 0,01 <sup>d</sup>	4,86 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>b</sup>
Fideos 100% trigo	0,04 ± 0,01 <sup>a,b</sup>	7,18 ± 0,37 <sup>b</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>d</sup>
Fideos 80:20 (HT:HIA)	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	13,84 ± 0,77 <sup>c,d</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + AC	0,07 ± 0,01 <sup>c</sup>	16,72 ± 0,67 <sup>e</sup>	0,17 ± 0,02 <sup>e</sup>
Fideos 80:20* + 410 ppm AA	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	13,93 ± 0,67 <sup>c,d</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + F + 410 ppm AA	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	14,08 ± 0,65 <sup>c,d</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + 820 ppm AA	0,04 ± 0,01 <sup>a,b</sup>	13,49 ± 0,88 <sup>c</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>b</sup>
Fideos 80:20* + F + 820 ppm AA	0,05 ± 0,01 <sup>b</sup>	13,90 ± 0,76 <sup>c,d</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>b,c</sup>

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p<0,05).

\*(HT:HIA)

El escaso efecto del AA en la disponibilidad y aporte potencial de Fe en panes y fideos se atribuye a la degradación del promotor durante los procesos de elaboración de ambos productos (amasado, horneado y almacenamiento para los panes, y extrusión, almacenamiento y cocción para los fideos).

#### Aporte potencial de calcio (APCa)

El APCa de la HIA fue significativamente superior al de la HT (Tabla 6). A pesar de que la DCa% evaluada para HIA fue muy inferior a la medida para la HT, prevaleció el contenido superior de calcio presente en la HIA.

La fermentación del pan elevó significativamente el APCa respecto a la mezcla HT:HIA (80:20). Un reemplazo del 20% de HT por HIA en los panes elevó un 7% el APCa respecto al pan 100% trigo. El máximo APCa se obtuvo para el pan 80:20 con AC y [AC + fitasa]. La incorporación de los promotores en la formulación evidenció diferencias significativas en el APCa respecto del pan 80:20.

En los fideos 80:20, el APCa fue estadísticamente superior al observado en los fideos 100% trigo (Tabla 7). Aún cuando el APCa de los fideos 80:20 con AC fue significativamente superior a los fideos 100% trigo y a las distintas formulaciones de fideos, su contribución para cubrir los requerimientos diarios de Ca es muy baja.

#### Aporte potencial de zinc (APZn)

A pesar de su mayor contenido de Zn, la HIA tuvo un APZn significativamente menor zinc que la HT. El efecto de la fermentación elevó significativamente el APZn del pan respecto de la mezcla HT:HIA (80:20) (Tabla 6). Esto se observó también al comparar la HT con el pan 100% trigo. El máximo efecto de los promotores de absorción se evidenció con la combinación AC y fitasa. El APZn se incrementó un 160% respecto al pan 80:20. No se evidenciaron diferencias significativas del APZn en los panes mezcla en los cuales se incorporó AA (ambos niveles), con o sin fitasa, evidenciando la labilidad térmica del AA. En los fideos, el APZn fue muy bajo (Tabla 7). El máximo efecto se logró con el agregado de AC a la formulación, significativamente superior a los fideos 100% trigo y a las diferentes formulaciones evaluadas.

### CONCLUSIONES

La formulación de los productos mezcla mejoró significativamente el contenido de minerales, lípidos y fibra dietaria total respecto de los productos 100% trigo; el beneficio de la HIA en el aporte proteico fue menor.

La introducción de la HIA en los productos panificados fermentados, con la adición de AC y fitasas permite obtener importantes ventajas nutricionales, constituyendo un buen aportador de Fe y Zn, aunque no de Ca..

Los fideos 80:20, a pesar de contener un 50% más de minerales respecto del producto 100% trigo, aportan muy poco hierro, calcio y zinc biodisponibles.

La utilización de la HIA en la elaboración de pastas requeriría mejorar la formulación de los productos para optimizar su aporte mineral.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (Proyecto PICTR 0110) y por la Universidad de Buenos Aires (Proyecto UBACyT B071).

### REFERENCIAS

1. Becerra R. El amaranto: Nuevas tecnologías para un antiguo cultivo. Boletín Biodiversitas [publicación periódica en línea]. Disponible en: URL: <http://www.conabio.gob.mx/biodivesitas/amaranto/html>. [Acceso: 30 de julio de 2002].
2. Itúrbide G, Gispert M. Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. 1° ed. Roma: FAO. 1992; p. 91-99, 124-125, 143-146.
3. Pantanelli A. Prometedora resurrección del amaranto. Revista Alimentos Argentinos [publicación periódica en línea]. Disponible en: URL: [http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/revistas/r\\_18/18\\_07\\_amaranto.htm](http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/revistas/r_18/18_07_amaranto.htm). [Acceso: 31 de agosto de 2005].
4. Brenner DM, Baltensperger DD, Kulakow PA, Lehmann JW, Myers RL, Slabbert MM, et al. Genetic resources and breeding of *amaranthus*. En: Askew GR, Bliss FA, Gilbert M, editors. *Plant Breeding Reviews*. 1° ed. New York: John Wiley & Sons Inc. 2000; p. 229-231.
5. Teutónico R, Knorr D. Amaranth: composition, properties, and applications of a rediscovered food crop. *Food Tech* 1985; 39(4):49-61.
6. Bertoni MH. Amarantos graníferos y hortícolas cultivados. Un aporte sobre su composición química, valor nutritivo y utilización. *An Soc Cient Argent*. 1997; 227:5-20.
7. Tapia ME. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. 1° ed. Santiago de Chile: FAO. 1990; p. 66-77, 113-116, 130-134.
8. Moreno R. Valor nutritivo y usos en alimentación humana de algunos cultivos autóctonos subexplotados de Mesoamérica. 1° ed. Santiago de Chile: FAO. 1993; p. 107-111.
9. Wood Irving D, Betschart A, Sanders R. Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. *J Food Sci*. 1981; 46(4): 1170-1174.
10. Bertoni MH, Gómez RG, Cattáneo P, Covas G. Estudios sobre semillas de especies americanas de *amaranthus* – II – Harinas de extracción de *A. caudatus*, *A. cruentus* y *A. mantegazzianus*. *An Asoc Quim Arg*. 1984; 72(6):597-605.
11. Schricker BR, Miller DD, Rasmussen RR, Van Campen D. A comparison of *in vivo* and *in vitro* methods for determining availability of iron from meals. *Am J Clin Nutr*. 1981; 34:2257-2263.
12. Ummadi P, Chenoweth WL, Uebersax MA. The influence of extrusion processing on iron dialyzability, phytates and tannins in legumes. *Journal of Food Processing and Preservation*. 1995; 19:119-131.
13. Shen L, Luten J, Robberecht H, Bindels J, Deelstra H. Modification of an *in vitro* method for estimating the bioavailability of zinc and calcium from foods. *Zlebensm Unterforsch*. 1994; 199:442-445.
14. Shen L, Robberecht H, Van Dael P, Deelstra H. Estimation of the bioavailability of zinc and calcium from human, cow's, goat and sheep milk by an *in vitro* method. *Biol Trace Elem Res*. 1995; 49:107-118.
15. García R, Alegría A, Barberá R, Farré R, Lagarda MJ. Dializability of iron, zinc and copper for different types of infant formula marketed in Spain. *Biol Trace Elem Res*. 1998; 65:07-17.

16. Bosscher D, Van Caillie-Bertrand M, Robberecht H, Van Dyck K, Van Cauwenbergh R, Deelstra H. In vitro availability of calcium, iron and zinc availability from first age infant formula and human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2001; 32:54-58.
17. Kernefick S and Cashman KD. Investigation of an *in vitro* model for predicting the effect of food components on calcium availability from meals. *Int J Food Sci Nutr.* 2000; 51:45-54.
18. AOAC. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. 17th edition. Vol. I y II. Published by the Association of Official Analytical Chemist, Inc. Gaithersburg, Maryland, USA. 2000.
19. Wolfgor R, Drago S, Rodriguez V, Pellegrino N, Valencia M. *In vitro* measurement of available iron in fortified foods. *Food Res Int.* 2002; 35:85-90.
20. Miller DD, Schricker BR, Rasmussen RR, Van Campen D. An *in vitro* method for the estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34:2248-2256.
21. Perkin-Elmer Corp. (Estados Unidos). Calcium, iron and zinc: Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. Norwalk CI; 1971.
22. Winer BJ, Brown DR, Michels KM. Cap. III. En: Statistical principles in experimental design. 3° ed. New York: Mc Graw Hill. 1991; p. 74 - 215.
23. Becker R, Wheeler E, Lorenz K, Stafford A, Grosjean O, Betschart A. A compositional study of amaranth grain. *J Food Sci.* 1981; 46:1175-1180.
24. Souci Fachmann Kraut. Cereals. En: Food composition and nutrition tables. 5° ed. Stuttgart: CRC Press. 1994; p. 499, 500, 561, 562.
25. Caballero B. Interacciones entre los componentes de la dieta. *Arch Latinoamer Nutri.* 1988; 38(3):656-684.
26. Pylar EJ. Water. En: Baking science and technology. 1° ed. Chicago: Siebel Publishing Company. 1973; p. 546-585.

Recibido: 04-08-2006

Aceptado: 05-03-2007

## Desarrollo de pan integral con soya, chía, linaza y ácido fólico como alimento funcional para la mujer

Mayela Bautista Justo, Alejandra Denisse Castro Alfaro, Ernesto Camarena Aguilar, Katarzyna Wrobel, Kazimierz Wrobel, Guadalupe Alanís Guzmán, Zeferino Gamiño Sierra y Víctor Da Mota Zanella

Universidad de Guanajuato: Instituto de Ciencias Agrícolas, Instituto de investigaciones Científicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México

**RESUMEN.** Se desarrollaron 6 diferentes panes integrales empleando harina de trigo integral, chía, linaza y ácido fólico, formulados especialmente para la mujer. A cada uno de estos panes se le hizo la evaluación sensorial y de textura. Los resultados obtenidos mostraron una buena aceptación de los productos elaborados. Por otro lado, se llevó a cabo el análisis químico proximal de los panes y además se determinaron los siguientes parámetros: calcio, fósforo, fibra dietética total, ácido fólico, la capacidad de absorción de agua, el Índice Retardatorio de la Diálisis de la Glucosa (GDRI), ácidos grasos. Los resultados obtenidos revelaron más altos niveles de proteína (entre 23.23 y 30.24 g/100g en base seca, respecto a los encontrados en el pan testigo (21.00 %)). Los niveles de lípidos fueron entre 10.07 y 12.15 g/100g (linoleico: 2.43–4.05%; linolénico: 1.12–4.46%; oleico: 2.93 a 6.13%), los valores de GDRI entre 89.1 y 98.10 % y la concentración de ácido fólico fue de 699.44 – 991.30 ì g/100g peso seco. Los mismos parámetros fueron evaluados también en las semillas de chía y en la harina de linaza. Se concluye que por su contenido de proteína, ácidos grasos ù-3 y ù-6, fibra dietética total y ácido fólico los panes desarrollados tienen un alto valor nutritivo y podrían subsanar algunas deficiencias nutricionales en las mujeres.

**Palabras clave:** Pan integral, chía, linaza.

**SUMMARY.** Integral bread development with soybean, chia, linseed, and folic acid as a functional food for woman. Six bread formulations were developed, using different proportions of whole-wheat flour, chia seeds and flaxseed flour. All of our formulations were added with folic acid. Sensorial and texture evaluations were performed, showing good acceptance of the products. Proximal chemical analysis was carried out; in addition, the following parameters were determined: calcium, phosphorus, total dietary fiber, folic acid, water hydration capacity, Glucose Dialysis Retardation Index (GDRI) and fatty acids. The results obtained showed higher protein levels in the developed breads (23.23-30.24 (g/100g dry matter) as compared to a control (21.00% of proteins in bread elaborated without chia or flaxseed). Furthermore, the breads contained 10.07-12.15 of lipids (g/100g dry matter) (linoleic acid: 2.43-4.05%; linolenic acid: 1.12-4.46 %; oleic acid: 2.93-6.13 %), GDRI values were between 89.1 and 98.1 % and folic acid was in the range 699.44 – 991.3 (ì g/100g dry matter). The same parameters were determined in the chia seed and in the flaxseed flour. It was concluded that; due to their high levels of protein, insaturated fatty acids (ù-3 and ù-6), dietary fiber and folic acid, these breads have a high nutritional value, so they could have special benefits for woman.

**Key words:** Whole wheat flour bread, chia seed, flaxseed flour, and nutrition.

### INTRODUCCION

La tendencia actual hacia el desarrollo de alimentos especiales para la mujer, se debe en gran parte a la difusión de la información acerca de los beneficios que algunos ingredientes tales como la soya, el calcio, el ácido fólico y el hierro tienen sobre su salud (1) y también a las deficiencias de nutrimentos detectadas en este grupo de población. Los hallazgos de la Encuesta Nacional de Nutrición (1999) en México, mostraron que una de cada cinco mujeres no embarazadas y una de cada cuatro embarazadas presentaron anemia. Se encontraron además, deficiencias de zinc, vitamina A, hierro, folato y vitamina C en la dieta (2).

Este trabajo se enfoca en el desarrollo de nuevos panes integrales, con adición de soya, chía y linaza con el fin de obtener productos de mayor valor nutritivo y mejores características funcionales respecto al pan elaborado a partir de la

harina de trigo; asimismo, que estos nuevos panes presenten buenas características sensoriales.

Una de las más estudiadas y más populares fuentes de proteínas ha sido la soya *Glycine max*. La soya también es rica en los componentes funcionales tales como las isoflavonas, fibras, vitaminas (Tiamina, Niacina, Riboflavina y B<sub>6</sub>), minerales (calcio, magnesio, zinc, hierro), flavonoides, terpenos y fitoesteroles. Se le atribuyen propiedades anticancerígenas y se recomienda su uso en el control de los síntomas de la menopausia. Una amplia revisión de las propiedades de la soya fue realizada por Smith y Sydney (3). La chía (*Salvia hispanica L.*) es una planta anual de verano que pertenece a la familia de las *Labiatae*. Las civilizaciones precolombinas usaron las semillas de chía como materia prima en la elaboración de varias medicinas y compuestos nutricionales e incluso pinturas. En cuanto a su composición química, se han informado altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, en particular el ácido

linolénico w-3, cuyos principales componentes son: ácido linoleico (17%-26%) y ácido linolénico (50%-57%) (4). Los antioxidantes más importantes son el ácido clorogénico, el ácido cafeico, miricetina, quercetina, kaempferol y flavonoles. La chía es también una buena fuente de riboflavina, niacina, tiamina, calcio, fósforo, potasio, cinc y cobre (5). En consecuencia, las semillas de chía son productos de interés para enriquecer gran cantidad de productos como fórmulas y alimentos para bebés, alimentos horneados, barras nutritivas, yogures, salsas, etc. La linaza (*Linum usitatissimum*) es otra de las materias primas que más se están utilizando actualmente en los productos de panificación, tanto por su contenido de ácidos grasos w-3, como por la fibra dietética y fitoestrógenos (6).

El interés en estudiar la chía como posible aditivo a este tipo de alimentos surgió debido a su alto contenido de antioxidantes como el ácido clorogénico, ácido cafeico, miricetina, quercetina, kaempferol y flavonoles que son muy beneficiosos para la salud y también por su considerable contribución de ácidos grasos poliinsaturados (5,7). La idea original de este trabajo ha sido elaborar el pan con adición de las semillas de chía y linaza para lograr el efecto protector de los antioxidantes contenidos en chía para evitar la oxidación de los lípidos poliinsaturados contenidos en los dos tipos de semillas.

Con el objeto de ofrecer productos novedosos que contengan los nutrimentos apropiados para las mujeres, en este estudio se desarrollaron panes integrales ricos en fibras y proteína, diseñados especialmente para la mujer, utilizando en su elaboración harina integral de trigo fortificada con hierro y ácido fólico, soya, linaza y chía.

## MATERIALES Y METODOS

### Panificación

La fórmula básica para el pan integral testigo fue la siguiente: 1 kg de harina integral, 10 g de levadura, 20 g de sal, 40 g de azúcar, 20 g de aceite vegetal, 10 g de mejorante comercial, cuya especificación en la etiqueta dice: “mezcla de micronutrimentos para harina de trigo” VITAPRO SZ<sup>MC</sup> calculado con base en 180 g/ton y aproximadamente 655 g de agua. Se utilizó una amasadora comercial de la marca “Kitchen Aid”, con una capacidad de 400g. A partir de la fórmula básica, se desarrollaron 5 formulaciones substituyendo parte de la harina de trigo integral por los siguientes ingredientes: Fórmula 1: 10% en peso de harina de soya (HS); Fórmula 2: 17% de HS; Fórmula 3: 10% de HS y 5% de linaza molida; Fórmula 4: 10% de HS y 5% de semillas de chía; Fórmula 5: 10% de HS, 5% de harina de linaza y 5% de semillas de chía.

### Procedimiento

Se pesaron los ingredientes por separado y se mezclaron todos con excepción de la sal, que se agregó una vez que los otros ingredientes estuvieron homogeneizados. La mezcla de

micronutrimentos (ácido fólico) se disolvió en el agua, antes de agregarla a los ingredientes secos. Se mezcló por 20 minutos aproximadamente en la batidora Kitchen Aid a velocidad 2. Se fermentó la masa a 35°C durante 45 minutos. Después, se refinó la masa batiendo nuevamente a velocidad 2 por aproximadamente 10 minutos hasta formar la red de gluten. La soya, chía y linaza se agregaron una vez que la red de gluten estuvo formada mezclando nuevamente. Se pesaron porciones de aproximadamente 50 g; se elaboraron las trenzas usando tres porciones de masa (en total 150g), las que se estiraron y trenzaron, finalmente se colocaron en moldes previamente engrasados. Se fermentaron a 35°C aproximadamente por 30 minutos o hasta que duplicaron su tamaño. Se hornearon a 230-240°C durante 20 minutos. Se dejaron enfriar 2 horas para realizar el análisis sensorial y de textura. Parte de las muestras se secaron en un horno con aire a 100°C, se molieron en un mortero y se almacenaron en frascos cerrados a temperatura ambiente, para su posterior análisis.

### Análisis sensorial

Se hizo una prueba de nivel de agrado o desagrado para ver si los productos gustaban o no gustaban; participaron 60 personas no entrenadas (50 mujeres y 10 hombres) entre 19 y 55 años de edad; las 6 muestras se presentaron individualizadas, en diferente orden para cada individuo y se pidió a los evaluadores que las calificaran de acuerdo con la siguiente escala hedónica: 1. Extremadamente agradable, 2. Muy agradable, 3. Agradable, 4. Ligeramente agradable, 5. Ni agradable ni desagradable, 6. Ligeramente desagradable, 7. Desagradable, 8. Muy desagradable, 9. Extremadamente desagradable (8).

### Características físicas

Análisis de textura. Se hizo el perfil de textura empleando el Texturómetro TA-XT2, se cortaron piezas de 2.5 cm de grosor, se usó un cilindro de 1 pulgada de diámetro, a una velocidad de 1.7 mm/s para la entrada y salida, y un recorrido de 10 mm en dos compresiones separadas por 5 s imitando dos mordidas al pan (9).

Para determinar el volumen del pan. Se usó el método de desplazamiento utilizando semillas de nabo (10).

### Análisis químico

El análisis químico se realizó empleando las técnicas de la AOAC (11), se determinó la humedad (método 935.29), contenido de proteína (Nx6.25) (método 978.04), lípidos (método 920.39), fibra cruda (método 962.09), cenizas (método 923.03), los carbohidratos se calcularon por diferencia, fibra dietética total (método 985.29). La cuantificación de calcio y fósforo fue por los métodos 927.02 y 964.06 respectivamente (11). Partiendo del análisis químico proximal, se calculó el contenido energético multiplicando el contenido de proteínas e hidratos de carbono x 4 y los lípidos x 9 (12).

El ácido fólico se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (13). La cuantificación de los ácidos grasos se hizo por cromatografía de gases, utilizando el método 969.33 de la AOAC (14).

#### Capacidad de absorción de agua

Se utilizaron 5 g de muestra molida y se siguió el método de la AACC (15).

#### Índice retardatorio de la diálisis de la glucosa (GDRI)

Este índice se determinó como un indicador indirecto de la velocidad de absorción de la glucosa en el intestino delgado, que se ve afectada por el contenido de fibra en el alimento, se utilizó el método de Adiotomre y Eastwood (16).

#### Diseño de experimentos y análisis estadístico

Se hizo un diseño completamente aleatorizado para 6 tratamientos, con 3 repeticiones. Las variables estudiadas fueron: cada una de las determinaciones del análisis proximal y sensorial. Se llevó a cabo el análisis de varianza. Para el procesamiento de datos se usó el paquete Statgraphics Plus for Windows, versión 2.1.

## RESULTADOS

#### Evaluación sensorial de los panes

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la evaluación sensorial cuyos valores variaron de 1.61 a 3.53 comparado con el testigo que fue de 2.83, se presentó diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos, se observa en la escala que se clasificaron como muy agradables y agradables.

TABLA 1  
Resultados del análisis sensorial de los panes integrales

Tratamiento	Media $\pm$ s
Pan integral (testigo)	2.83 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>
Soya 10 %	2.55 $\pm$ 0.50 <sup>c</sup>
Soya 17 %	3.53 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>
Soya 10 %, chía 5 %	1.61 $\pm$ 0.48 <sup>c</sup>
Soya 10 %, linaza 5 %	2.41 $\pm$ 0.49 <sup>c</sup>
Soya 10 %, chía 5% y linaza 5%	2.23 $\pm$ 0.42 <sup>d</sup>

Superíndices en la columna indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ )

#### Análisis de textura de los panes

La dureza de los panes estuvo entre 1.1 y 17.6 Newtons (N), siendo los valores más altos para los productos que contenían chía. En este caso, se observó una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al estándar cuyo valor fue de 0.4 N. El incremento en la dureza se atribuye

a la costra que forma el gel de chía. El volumen del pan testigo ( $642 \pm 10 \text{ cm}^3$ ) fue diferente estadísticamente al de los panes desarrollados en este trabajo que varió de  $707 \pm 6 \text{ cm}^3$  a  $753 \pm 12 \text{ cm}^3$ . En tanto que el volumen específico para el pan testigo fue de  $5.04 \text{ cm}^3/\text{g}$  diferente estadísticamente ( $p < 0.05$ ) al de los panes experimentales que osciló entre 5.35 y  $5.54 \text{ cm}^3/\text{g}$ , indicando que estos panes presentaron una estructura más compacta.

#### Análisis químico y funcional de ingredientes

La composición química de las semillas de chía y harina de linaza se presenta en la Tabla 2, se observa que el contenido de proteína está por encima del 19% en ambos materiales, también se presentan valores elevados en el contenido de lípidos y fibra dietética total.

TABLA 2  
Composición química de semilla de chía y harina de linaza (g/100g base seca)

	Chía Media $\pm$ s	Linaza Media $\pm$ s
Materia seca	95.6 $\pm$ 0.3	94.9 $\pm$ 0.3
Proteínas	19.5 $\pm$ 0.7	22.7 $\pm$ 0.1
Lípidos	30.0 $\pm$ 0.2	39.6 $\pm$ 0.2
Fibra cruda	24.9 $\pm$ 0.2	22.6 $\pm$ 0.1
Hidratos de Carbono	23.1 $\pm$ 0.3	10.6 $\pm$ 0.2
Energía (kcal)	440.2	489.8
Fibra dietética soluble	5.1	37.8
Insoluble	42.9	2.1
Total	20.3	22.4

En la Tabla 3 se presentan los valores de GDRI obtenidos a los 30 y 60 minutos; se observa un mayor en la semilla de chía (80.4%) que en la harina de linaza (76.5%) a los 30 minutos.

TABLA 3  
Índice retardatorio de la diálisis de la glucosa (GDRI) en semilla de chía y harina de linaza

Tiempo (min)	Chía	Linaza
	% de Retención Media $\pm$ $\sigma$	% de Retención Media $\pm$ $\sigma$
30	80.4 $\pm$ 0.2	76.5 $\pm$ 0.3
60	80.0 $\pm$ 0.6	73.4 $\pm$ 0.7

#### Análisis químico y funcional de los panes

En la Tabla 4 se presentan los resultados de los análisis químicos y el valor calórico de los panes. En primer lugar es de resaltar el alto contenido de proteínas (N x6.25) encontrado

en las formulaciones propuestas (entre 23.23 y 30.24 g/100g en base seca). Se observó una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre estos niveles y el encontrado en el pan testigo (21.00%). En cuanto a los niveles de lípidos, se encontraron diferencias estadísticas entre algunos de los panes enriquecidos (10.07-12.15 g/100 g en base seca), sin embargo, dos tratamientos que contenían soya fueron iguales estadísticamente al pan testigo (10.78%). Los valores energéticos oscilaron entre 419.13 y 472.83 kcal para las formulaciones del estudio y estos fueron también similares a los declarados en la etiqueta para panes integrales comerciales.

#### Contenido de ácidos grasos en los panes

Se observa en la Tabla 5 que, el contenido de ácidos grasos varió en los panes con chía y linaza, presentándose un aumento en el contenido de ácido linolénico con respecto a los panes testigo.

#### Capacidad de absorción de agua en los panes

El resultado varió de 10.06 hasta 13.67 g por 1 g en base seca (Tabla 6), se observó diferencia estadística significativa entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), estos valores son altos, debido al contenido de fibra dietética tanto soluble como insoluble.

TABLA 4  
Composición química de los panes integrales en (g/ 100 g base seca)

	Pan de harina de trigo integral (testigo)	Soya 10%	Soya 17%	Soya 10%, Chía 5%	Soya 10%, Linaza 5%	Soya 10%, Chía 5%, Linaza 5%
	Media $\pm$ s	Media $\pm$ s	Media $\pm$ s	Media $\pm$ s	Media $\pm$ s	Media $\pm$ s
Materia seca	68.00	64.80	65.80	70.70	70.50	72.30
Cenizas	3.5 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	4.47 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	5.00 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	3.53 $\pm$ 0.50 <sup>c</sup>	3.82 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	3.73 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>
Proteínas	21.00 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	26.85 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup>	30.24 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	25.31 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>	25.09 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>	23.23 $\pm$ 0.20 <sup>d</sup>
Lípidos	10.78 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	11.68 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	12.15 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	10.46 $\pm$ 0.10 <sup>bc</sup>	10.07 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>	10.37 $\pm$ 0.50 <sup>bc</sup>
Fibra cruda	2.5 $\pm$ 0.30 <sup>d</sup>	2.31 $\pm$ 0.10 <sup>de</sup>	1.97 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	3.96 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	3.54 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>	4.45 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
Hidratos de carbono	62.22 $\pm$ 0.80 <sup>a</sup>	54.70 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>	60.63 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>	56.74 $\pm$ 0.30 <sup>d</sup>	57.61 $\pm$ 0.70 <sup>cd</sup>	58.22 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>
Energía de lípidos (kcal)	97.02	105.12	109.35	94.14	90.63	93.33
Energía de lípidos (% de la energía total)	22.56	24.37	23.12	22.29	21.50	22.26
Energía total kcal/100g	429.90	431.32	472.83	422.34	421.43	419.13
Calcio mg/100g	132.30 $\pm$ 0.01 <sup>f</sup>	153.57 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	182.37 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	297.02 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	326.23 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	318.10 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
Fósforo(mg /100g)	168.20 $\pm$ 1.70 <sup>c</sup>	208.17 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup>	230.84 $\pm$ 0.90 <sup>a</sup>	128.56 $\pm$ 0.40 <sup>f</sup>	136.45 $\pm$ 0.60 <sup>e</sup>	147.16 $\pm$ 0.70 <sup>d</sup>

\*Superíndices en la fila indican diferencia estadísticamente significativa entre productos ( $p < 0.05$ )

TABLA 5  
Contenido de ácidos grasos en los panes (base seca, g/100 g)

Ácido graso	Pan testigo	Soya 10 %	Soya 17 %	Soya 10 % Chía 5 %	Soya 10 % Linaza 5%	Soya 10 % Chía 5 % Linaza 5 %
Palmítico	1.02	0.65	0.47	0.45	0.28	0.32
Palmitoléico	0.06	—	—	—	—	—
Estearico	0.06	0.09	0.09	0.12	0.10	0.14
Oleico	5.17	6.03	6.13	3.23	4.08	2.93
Linoléico	3.45	3.59	4.05	2.56	2.45	2.43
Linolénico	0.96	1.12	1.12	3.96	2.96	4.46
Araquídico	0.04	0.04	0.02	0.04	0.04	0.03
Gadoléico	0.14	0.17	0.15	0.07	0.08	0.05

TABLA 6  
Capacidad de absorción de agua, Índice Retardatorio de la Diálisis de la Glucosa y Ácido Fólico en panes

	Con harina integral (Testigo)	Soya 10%	Soya 17%	Soya 10%, Chía 5%	Soya 10%, Linaza 5	Soya 10%, Chía 5% Linaza 5%.
	Media ± s	Media ± s	Media ± s	Media ± s	Media ± s	Media ± s
Capacidad de absorción de agua (g/g base seca)	9.98 ± 0.1 <sup>d</sup>	13.67 ± 0.5 <sup>a</sup>	10.06 ± 0.1 <sup>d</sup>	12.95 ± 0.1 <sup>b</sup>	11.71 ± 0.1 <sup>c</sup>	10.35 ± 0.1 <sup>d</sup>
Índice retardatorio de la diálisis de la glucosa (% a los 60 min)	95.8 ± 1.1 <sup>b</sup>	96.9 ± 0.9 <sup>ab</sup>	89.1 ± 0.3 <sup>d</sup>	98.1 ± 0.5 <sup>a</sup>	98.1 ± 0.5 <sup>a</sup>	93.3 ± 0.6 <sup>c</sup>
Ácido fólico (µg/100g base seca)	312.94	845.78	991.30	808.90	833.90	699.44

Superíndices distintos en la fila indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ )

### Índice retardatorio de la diálisis de la glucosa (GDRI) en los panes

Se puede observar que, el valor de GDRI fue más alto en los panes elaborados con chía o linaza, componentes ricos en fibra dietética.

### Ácido fólico en los panes

El ácido fólico osciló entre 699.44 y 991.30 µg/100g en base seca, respecto 312.94 µg/100g el pan testigo.

## DISCUSION

Los resultados de la evaluación sensorial revelaron una gran aceptación de los panes experimentales, como se puede observar en la Tabla 1, el pan de Chía obtuvo una clasificación de 1.61 (muy agradable y extremadamente agradable) y los demás panes se consideraron como agradables y muy agradables; el pan de soya 17% fue el que menos gustó debido a que la alta concentración de soya le confiere un sabor ligeramente amargo que algunas personas alcanzaron a percibir, no obstante su evaluación fue positiva. En los análisis de la chía y la linaza, es de resaltar que, el contenido de fibra dietética soluble y total en la chía (42.9 g/100g) presentado en la Tabla 2, prácticamente duplica al de la linaza (22.4%). Se cree que, la unidad estructural de la goma de chía y también el principal responsable de su naturaleza espesante, es un tetrasacárido constituido por residuos del 4-O-metil- $\alpha$ -D-glucopiranosil, ramificados en O-2 de algún residuo  $\beta$ -D-xilopiranosil en la cadena principal que consiste de unidades de (1-4)- $\beta$ -D-xilopiranosil-(1-4)- $\alpha$ -D-glucopiranosil-(1-4)- $\beta$ -D-xilopiranosil (17). Por su parte, la linaza también contiene polisacáridos (gomas y mucílagos) que al formar parte de la fibra dietética parecen jugar un papel muy importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y diabetes (6). Ambos materiales (chía y linaza) son ricos en lípidos con va-

lores de 30.0 a 39.6 g/100 g, siendo mayor en la linaza. El aceite de chía es extremadamente alto en ácidos grasos poliinsaturados particularmente ácido linolénico  $\omega$ -3. Los principales componentes son: ácido linoleico (17-26%) y ácido linolénico (50-57%) (4). La linaza es una fuente abundante de ácido  $\alpha$ -linoleico, fibra con componentes viscosos, antioxidantes fitoquímicos como lignanos, flavonoides, ácidos fenólicos y tocoferoles; y proteína. El alto contenido de grasas limita el uso de la linaza; porque se oxida fácilmente (6), de aquí la importancia de mezclarla con la chía que es rica en compuestos antioxidantes. Los valores de GDRI fueron altos, cabe señalar que estos niveles son superiores a los reportados en la goma guar (45.9%) por Adiotomre et al. (16).

En la composición química de los panes experimentales se observa un alto contenido de proteínas el cual se debe principalmente a la aportación de la soya desengrasada (45.2% de proteína), estos valores son superiores a los de los panes comerciales, lo que indica que tienen un mejor valor nutritivo. Asimismo, los resultados de contenido de lípidos obtenidos en este trabajo son muy similares a los niveles declarados en las etiquetas de panes integrales comerciales. El contenido de fibra cruda fue superior para los panes con chía y linaza ( $p < 0.05$ ) respecto a los demás panes, de acuerdo con los altos contenidos de fibra en las semillas de la chía y la linaza. Lógicamente, los niveles de fibra en el pan testigo y los panes elaborados con mayores proporciones de soya fueron relativamente más bajos, ya que la soya tuvo las menores concentraciones de fibra. En cuanto a los altos valores observados de GDRI, se podría decir que el proceso de panificación, debido a altas temperaturas e hidratación, posiblemente ayuda a que se suavicen estas estructuras y de esta manera pudieran tener un importante efecto en retardar la difusión de la glucosa a través de la membrana de diálisis. Lógicamente, un efecto similar podría tener lugar en el intestino delgado, protegiendo de esta manera el organismo de la absorción de glu-

cosa. Altos valores de GDRI en los panes desarrollados podrían ser de interés en la dieta de mujeres con diabetes gestacional.

Parece interesante que, los panes elaborados con chía y linaza presentaron más altos niveles de calcio respecto a otras formulaciones (diferencias estadísticamente significativas,  $p < 0.05$ ). Este resultado es de importancia para la dieta de la mujer. Tomando en cuenta la Ingestión Diaria Recomendada de calcio de 800 mg/día, podemos resaltar que al consumir 100 g de los panes desarrollados en este trabajo, se cubren entre el 11.1% y 28.8% de la IDR establecida por la Norma Oficial Mexicana para etiquetado (12).

Debido al alto contenido de proteínas en la soya y de ácidos grasos poliinsaturados en la linaza, esta combinación ha sido utilizada en diversos alimentos como panes y cereales para el desayuno, principalmente por el beneficio que aportan a la salud cardiovascular. Así, se ha demostrado en un estudio piloto con mujeres postmenopáusicas que la inclusión regular de alimentos que contienen soya y linaza en la dieta pueden mejorar los lípidos plasmáticos en sujetos con hipercolesterolemia (18). El uso de semillas de chía ha sido relativamente menos explorado, particularmente en la elaboración de los panes.

Con respecto a los ácidos grasos, se observa que en los tratamientos con chía y/o linaza y en el control, la grasa representó del 21.50 al 24.37% de las calorías totales, lo que se considera adecuado, debido a que se conserva por debajo de la relación recomendada, ya que es inferior al 30% máximo aceptable de una dieta (19). Respecto a los ácidos  $\omega$ -6, a pesar de que el contenido de ácido linoléico es menor en los panes que contienen chía y/o linaza este es de 2.43 a 2.56g/100 g de pan en base seca, lo que convierte a estos panes en buena fuente de este ácido graso esencial ya que se recomienda ingerir de 2 a 7 g por día (1-3% de las calorías totales) (19). También es importante el incremento de ácido linoléico ( $\omega$ -3) en los panes con chía y/o linaza los cuales contienen de 2.96 a 4.46 g/100 g de pan en peso seco, con lo que se cubren ampliamente las recomendaciones de 0.8 a 1.1 mg/día (19). Ha sido demostrado que, por su contenido de ácidos grasos, las dietas con chía disminuyen los niveles de triglicéridos. En particular, se observó el cambio de distribución de colesterol entre fracciones lipídicas con un aumento de su nivel en las lipoproteínas de alta densidad en el suero de ratas (20).

En lo que respecta al contenido de ácido fólico, se puede decir que existen fuertes evidencias del impacto que tiene el ácido fólico en la reducción de problemas de salud pública referidos a los defectos del tubo neural y espina bífida. Todas las mujeres en edad reproductiva deberían consumir 400  $\mu$ g de ácido fólico diariamente (21), de preferencia como compuesto sintético (aditivo en los alimentos), dado que este presenta alta estabilidad durante largos tiempos (meses hasta años) (10,21). El análisis del ácido fólico realizado en este trabajo

reveló sus concentraciones en diferentes muestras de panes entre 699.44 y 991.3  $\mu$ g/100g, respecto 312.94  $\mu$ g/100g en el pan testigo. Estos resultados confirman la factibilidad de utilizar el ácido fólico como aditivo en proceso de panificación. En otras palabras, a pesar de exponer la vitamina a las condiciones relativamente drásticas (proceso de fermentación, calentamiento 230-240°C, durante 20 min), el producto final contiene altas concentraciones de esta vitamina. En consecuencia, el pan elaborado parece ser una buena fuente de ácido fólico para los consumidores y, específicamente para las mujeres embarazadas y en edad reproductiva.

## CONCLUSIONES

Se concluye que los panes elaborados con adición de soya, chía y linaza tuvieron una gran aceptación por su buen sabor; como lo reveló la evaluación sensorial; adicionalmente, contienen mayor cantidad de proteínas respecto a los panes comerciales. En particular, los panes con chía y linaza son ricos en fibra dietética y los resultados obtenidos sugieren posible efecto de estos panes en la reducción de absorción de glucosa en el tracto digestivo. Otra característica, potencialmente beneficiosa para la salud, es alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (oleico, linoleico y linoléico) y alto contenido de calcio. Finalmente, se ha demostrado la factibilidad de enriquecer los panes desarrollados en este trabajo con el ácido fólico. Por todas estas características, los panes propuestos podrían subsanar carencias de nutrimentos muy importantes en la mujer y prevenir algunas enfermedades.

## AGRADECIMIENTO

A la Dirección de Investigación y Postgrado de la Universidad de Guanajuato, por el financiamiento de este trabajo.

A la Compañía PROBST S.A. de C.V. por la donación de la premezcla vitamínica.

## REFERENCIAS

1. Hollingsworth P, 2002. Developing and marketing foods for women. *Food Technology* 1999; 56(1):38-45.
2. Secretaría de Salud. Encuesta Nacional de Nutrición: Estado Nutricio de Niños y Mujeres en México. 1999;13-14.
3. Smith A y C Sydney. Soybean: Chemistry and Technology. Vol. 1. Proteins. AVI Publishing Company, Inc., Connecticut, U. S. A. 1995.
4. Ting IP, JH Brown, HH Naqvi, J Kumamoto y M Matsumura. Chia: A potential oil crop for arid zones. In: *New industrial crops and products*. Proceedings of the Association for the advancement of Industrial Crops. The University of Arizona, Office of Arid Lands Studies. Tucson Arizona. 197-200, 1990.
5. Ayerza R y Cotas Y. Semillas de Chía: nueva fuente natural de ácidos grasos omega-3, antioxidantes y fibra dietética.

- Southwest Center for Natural Products Research & Commercialization. Office of Arid Lands Studies, University of Arizona. <http://www.eatchia.com/chiasourcesp.htm>. 2006.
6. Oomah BD, Mazza G. Flaxseed Products for Disease Prevention. En: Mazza G, editor. Functional Foods. USA: Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster Basel.;1998. p. 91-138.
  7. Taga MS, Miller EE, Pratt DE. Chia Seeds as a source of lipid antioxidants. *JAOCS*, 1984;61(5):928-931.
  8. Sancho J, Bota E, De Castro JJ. Introducción al análisis sensorial de los alimentos. México, D. F. Alfaomega; 2002.
  9. Al-Saquer NJ, Sidhu SJ, Al-Hoti NS. Instrumental texture and baking quality of higher-fiber toast bread as affected by added wheat mill fractions. Biotechnology Dept. Kuwait Institute for Scientific Research, 13109-Safat, Kuwait. 1999.
  10. Penfield MP, Campbell AM. Experimental Food Science. 3<sup>th</sup> Edition. San Diego, Cal. U.S.A: Academic Press;1990.
  11. Association of Official Analytical Chemists. AOAC. Official Methods of Analysis., 15<sup>th</sup> Ed. K.Erlach (Ed.). Arlington, Virginia, USA. 59-87. 1049-1106. 1990.
  12. Norma Oficial Mexicana. NOM-051-SCFI. Información Comercial –Disposiciones generales para productos. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas. Estados Unidos Mexicanos. 1994.
  13. Osseyi ES, Wheling RL, Albrecht JA. Liquid Chromatographic Method for determining added folic acid in fortified cereal products. *Chromatog A*, 1998; 826(2):235-240.
  14. Association of Official Analytical Chemists. (AOAC). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17<sup>th</sup> Edition. Dr. W. Horwitz Editor. 969.33. 2000.
  15. American Association of Cereal Chemists (AACC). Water hydration capacity of protein materials. AACC Method 88-04. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, ICC. St. Paul Minnesota USA. 1976.
  16. Adiotomre J, Eastwood M.A. Dietary fiber *in vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in human. *Am. J. Clin. Nutr.* 52:128-34; 1990
  17. Kuei-Ying Lin, Daniel JR, Whistler RL. Structure of chia seed polysaccharide exudates. Department of Food Nutrition, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47907, US. 1993.
  18. Ridges L, Sunderland R, Moerman K, Meyer B, Astheimer L, Howe P. Cholesterol lowering benefits of soy and linseed enriched foods. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2001;10(3):204-211.
  19. Mahan KLy Escott-Stump S. Nutrición y Dietoterapia de Krause. 9<sup>a</sup>. Edición. México DF.: McGraw-Hill Interamericana. 1998.
  20. Ayerza R, Coates W. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutrition Research*, 2005;25(11):995-1003.
  21. PAHO/MOD/CDC. Recommended Levels of Folic Acid and Vitamin B12. Fortification: A PAHO/MOD/CDC Technical Consultation. *Nutrition Reviews*, 2004;62(6): S1-S2.
  22. O'Leary K, Sheehy PJ. Effects of preparation and cooking of folic acid-fortified foods on the availability of folic acid in a folate depletion/repletion rat model. *J. Agric. Food Chem*, 2001;49(9):4508-4512.

Recibido: 19-10-2006

Aceptado: 28-02-2007

## Evaluación de los ácidos grasos n-3 de 18 especies de pescados marinos mexicanos como alimentos funcionales

Castro-González MI, Ojeda VA, Montañón BS, Ledesma CE, Pérez-Gil RF.

Dirección de Nutrición. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Universidad La Salle.  
Depto. Nutrición Animal. INCMNSZ. Depto. Tecnología de Alimentos. INCMNSZ. México

**RESUMEN.** El objetivo del presente trabajo fue caracterizar y evaluar el contenido de ácidos grasos n-3 de 18 especies de pescados marinos mexicanos como base para su empleo potencial como alimentos funcionales. Se obtuvieron los lípidos totales (LT) y ácidos grasos (AG) del filete de pescado, por extracción con solventes y cromatografía de gases con FID. De las especies estudiadas el 50% procedió del Pacífico y el resto del Golfo de México. Los LT variaron desde 0.76 hasta 7.13 g/100g. Se obtuvo una media de 58.51, 58.74 y 132.85 mg/100g de AGS, AGM y AGP, respectivamente. En todas las muestras se identificaron los siguientes AG n-3 por orden de abundancia (mg/100g filete): C22:6n-3 (DHA) (85.02), C20:5 n-3 (EPA)(16.22), C18:3 n-3 (ALA)(1.95) y el C20:3 n-3 se identificó sólo en 4 especies con valores desde 0.08 hasta 12.99. El 27% de los pescados presentaron valores bajos de AG n-3 (4–40); el 66% con valores intermedios (70–170) y 7% valores altos (200 a 300 mg/100g), correspondiendo éstos a la barracuda (*Sphyraena agentea*) y al sargo (*Lagodon rhomboides*). De acuerdo a los valores recomendados internacionalmente (de 200 a 650 mg de EPA+DHA/día) el consumo cotidiano de éstas especies pueden considerarse como benéfico para la salud, y sugerirse como alimentos funcionales.

**Palabras clave:** Pescados mexicanos, ácidos grasos n-3, alimentos funcionales.

### INTRODUCCION

La composición y propiedades nutricionales de la parte comestible del músculo del pescado varían dependiendo de factores bióticos y abióticos (1). Aunque el pescado ha sido alimento por siglos, existen desde hace más de dos décadas numerosas publicaciones científicas sobre los efectos benéficos del consumo de pescado en el proceso enfermedad-alimentación-salud, demostrándose la relación entre su consumo y una buena salud. De los alimentos que actualmente se consumen, los pescados son la mayor fuente de los ácidos grasos n-3 (AGn-3), principalmente el ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA) (C22:6 n-3).

Actualmente no existe una definición mundialmente aceptada de alimento funcional, en resumen, es cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales

**SUMMARY. n-3 fatty acid evaluation in eighteen Mexican marine fishes as functional food.** The objective of the present work was to characterize the n-3 fatty acid composition of eighteen species of Mexican marine fishes and to evaluate their potential as functional food. Total lipids and fatty acid (FA) compositions were obtained of the edible portion of the fish, by solvent extraction and gas chromatography. Fifty percent of the studied species proceeded of the Mexican Pacific and the remainder from the Gulf of Mexico. The total lipid content varied from 0.76 to 7.13 g/100g. Averages of 58.51, 58.74 and 132.85 mg/100g of flesh were obtained for saturated, monounsaturated and polyunsaturated FA, respectively. In all the samples the n-3 fatty acids identified in order of abundance were (mg/100g), C22:6n-3 (DHA) (85.02), C20:5 n-3 (EPA)(16.22), C18:3 n-3 (ALA)(1.95) and the C20:3 n-3 was found only in four species (range from 0.08 to 12.99 mg/100g). Twenty-seven percent of the fishes exhibited low (4 to 40), 66% intermediate (70 to 170) and 7% high values (200 to 300 mg/100g) of n-3 FA. The latter species were identified as picuda (*Sphyraena agentea*) and sargo (*Lagodon rhomboides*). Since international standards recommend a daily regular consumption from 200 to 650 mg of EPA + DHA/day as beneficial for good health, it is therefore suggested as functional food.

**Key words:** Mexican fish, n-3 fatty acids, functional food.

(nutracéuticos) que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona. Por otro lado, un nutracéutico es un compuesto bioactivo presente en el alimento funcional, que proporciona un valor agregado para la obtención de beneficios en la salud y en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades (2-4).

Los compuestos nutracéuticos se clasifican, entre otras cosas, por su mecanismo de acción o efectividad fisiológica. Numerosos estudios clínicos sugieren que los AG n-3 y sus metabolitos participan en el tratamiento y prevención de numerosas enfermedades, proporcionando efectos cardioprotectores en personas con diabetes tipo II, disminuyendo la incidencia de accidentes cardiovasculares, muerte súbita y reduciendo los niveles de triglicéridos, además de incrementar los niveles de lipoproteínas de alta densidad en sangre (5); en forma directa y como coadyuvante en el tratamiento de cáncer, asma, psoriasis, enfermedad de Chron, esclerosis múltiple, migraña y artritis, por su efecto

antiinflamatorio e inmunológico (6-7), en enfermedades renales ayudando a la normalización del metabolismo de lípidos (8); en desórdenes mentales, ya que los AG esenciales son componentes principales de las células del cerebro (9,10); en el tratamiento de la depresión (11); en el mejoramiento del desarrollo prenatal y postnatal al formar parte del desarrollo de la retina y las conexiones neuronales (12).

Actualmente, se desconoce el contenido de ácidos grasos presentes en la mayoría de los recursos pesqueros mexicanos, así como su variación dada por factores bióticos y abióticos. Sin lugar a dudas, algunas de las especies de pescados podrían llegar a considerarse como alimentos funcionales, por su contenido de AG n-3, por lo que el objetivo de este trabajo fue caracterizar y evaluar los ácidos grasos presentes en 18 especies de pescados marinos mexicanos de consumo cotidiano, como componentes nutraceuticos.

## MATERIALES Y METODOS

### Obtención e identificación de las muestras

Con información existente sobre la producción y oferta-demanda de las especies de pescado marino fresco para consumo directo, a nivel nacional, se identificaron y seleccionaron 18 especies de pescado, como continuación del trabajo de investigación previamente realizado con pescados de amplia demanda en la Ciudad de México (3). Todas las muestras fueron proporcionadas por la Sociedad Nacional de Introdutores y Distribuidores de Pescados y Mariscos "La Nueva Viga", en la Ciudad de México. En este centro de acopio 422 bodegas comercializan diariamente más de 250 ton de productos pesqueros, con un manejo todo el año en promedio de 55 especies, algunas de las cuales existen todo el año y otras por temporada. Por esto, se considera el centro de acopio más grande e importante de América (13). Las muestras de pescado obtenidas se identificaron hasta especie con la ayuda de fotografías y organismos frescos en donde se tomaron en cuenta las características morfológicas principalmente, así como el empleo de claves taxonómicas y libros especializados (14).

### Muestreo

Las muestras se obtuvieron en diferentes meses del año, dependiendo de su presencia. El número de individuos de cada tipo de pescado fue variable. Se obtuvieron de las diferentes bodegas que comercializan la especie, obteniendo de cada una un ejemplar y teniendo como mínimo 15 pescados de cada especie, los cuales se filetearon y se tomaron 5 k de muestra, la cual se sometió a un cuarteo para obtener una submuestra de 2 k, de la que se tomaron al azar 100g de filete para la realización de los análisis por triplicado, previa molienda y homogeneización (15).

El peso de los filetes fue variable dependiendo de la especie.

Se agregó BHT Sigma (USA) al 0.1% como antioxidante. Cabe mencionar que diario llegan, desde el lugar de captura, a este centro de acopio tráileres cargados con los diferentes pescados que se reparten en las diferentes bodegas.

De las especies seleccionadas, el 50% de los pescados fueron del Golfo de México y el otro 50% del Pacífico mexicano; 84% fueron especies magras, 11% semigrasas y sólo una grasa (lebrancha). La mayoría de los pescados procedieron de clima subtropical. En cuanto a su distribución ecótica se distribuyeron de la siguiente manera: 8 especies pelágicas, 5 bentopelágicas y 5 demersales, con esto se considera que las especies estudiadas representan un barrido batimétrico.

### Ensayos analíticos

La humedad se determinó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, para humedad en alimentos por tratamiento térmico (16). Las cenizas y la proteína bruta por los métodos de prueba de la Norma Mexicana (17, 18).

Extracción y análisis de lípidos totales. Cada muestra de pescado se pesó por triplicado ( $1 \pm 0.01$ g). Se añadieron 20 mL de una solución de cloroformo: metanol (2:1, v/v) y se dejó extraer en agitación por 12 hrs. Después de filtrarse se agregaron 2 mL de agua, se centrifugó a 3000 rpm/10 min. Se extrajo la fase acuosa y la fase orgánica se evaporó en atmósfera de nitrógeno. El contenido de los lípidos totales se determina gravimétricamente (19).

Saponificación, metilación y composición de los ácidos grasos. Una vez obtenidos los lípidos totales se procedió a una saponificación con potasa metanólica saturada para la obtención de los ácidos grasos libres, los cuales se esterificaron y metilaron con una solución de trifluoruro de boro-metanol. Se evaporaron a sequedad en atmósfera de  $N_2$ . Para la identificación y cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos obtenidos, se utilizó una mezcla de estándares Supelco 37 Fame Mix (USA), comparando con los tiempos de retención y áreas correspondientes entre éstos y la muestra. Se utilizó un cromatógrafo de gases Varian 3400CX, con una columna capilar de 100m x 0.25mm Supelco SP2560 (USA). La detección de los ácidos grasos fue por ionización de flama. El volumen de inyección fue de 1  $\mu$ L (split 1:100) por triplicado en cada muestra y se utilizó como estándar interno el éster metílico del ácido cis-vaccénico.

### Condiciones cromatográficas

Temperatura del inyector = 250°C, Temperatura del detector = 300°C. En la columna, un gradiente de temperatura en donde la temperatura inicial = 140°C, aumentando 10°C/min hasta 200°C, se sostiene 1 minuto y nuevamente se aumenta 5°C/min hasta 230°C, se mantiene 7 minutos. El gas acarreador fue nitrógeno. Los resultados de los ácidos grasos se presentan en mg/100 g de la filete (19).

### Análisis estadísticos

Los resultados de cada una de las especies se sometieron a un análisis estadístico descriptivo. Los resultados de los AG n-3 se agruparon, para su evaluación como componentes nutraceuticos, dependiendo de su clasificación biológica (óseos y cartilagosos), ubicación ecótica (demersales, bentopelágicos y pelágicos), distribución general (tropical y subtropical), distribución geográfica (Golfo de México y Océano Pacífico) y clasificación de la carne por el contenido de grasa (magros, semigrasos y grasos). Para la diferencia de medias se aplicó, dependiendo de la clasificación, una t de student, un análisis de varianza, una prueba de Tukey HSD para N desigual, con un nivel de significancia de 0.05 (20, 21).

### RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presentan 18 especies de pescados que forman parte de la gran variedad de alimentos marinos mexicanos que se pueden encontrar en el Mercado de Pescados y Mariscos “La Nueva Viga” de la Ciudad de México. De éstos, solo una especie correspondió al grupo de los peces cartilaginosos (tiburón), especie ampliamente consumida en México. En esta misma tabla se presentan los valores de humedad que van desde 69.90 g/100g (conejo) hasta 82.20 g/100g (lengua), y proteína, con concentraciones entre 15.14 g/100g (pierna) hasta 28.21 g/100g (conejo), en éste último se presenta un comportamiento típico entre estas dos determinaciones dada por la relación inversamente proporcional entre humedad y proteína, es decir a mayor proteína menor contenido de agua en carne (22). Tanto la proteína como la humedad fueron semejantes entre especies, independientemente de las diferentes clasificaciones a las que pertenezcan.

TABLA 1  
Nombres y composición proximal de 18 especies de pescados marinos mexicanos  
(g/100g filete)

Nombres comunes	Nombres científicos	Lípidos totales	Humedad	Proteína bruta	Cenizas
Abadejo, Cuna garopa	<i>Mycteroperca phenax</i>	1.52	79.84	15.63	0.83
Angelito, Rubia voladora	<i>Prionotus evolans</i>	1.71	77.37	20.23	1.03
Atún aleta amarilla, albacora, rabil	<i>Thunnus albacares</i>	0.76	75.24	22.37	0.90
Bandera, Bagre banderillo, gato, bagre cacumo, bagre	<i>Bagre marinus</i>	2.33	77.07	20.15	1.09
Bobo escama, bobo, lisa bobo	<i>Joturus pichardi</i>	3.73	77.86	17.00	1.05
Conejo, bajacu, tamboril	<i>Lagocephalus laevigatus</i>	1.60	69.90	28.21	0.96
Gurrubata, berrugata californiana, ratón	<i>Menticirrhus undulatus</i>	1.75	79.47	17.83	1.11
Lebrancha, lisa criolla, jarea, josea, lisa blanca	<i>Mugil curema</i>	7.13	75.55	17.06	1.27
Lengua, lengua amarillenta, lengua Williams	<i>Symphurus williamsi</i>	1.70	82.20	16.19	0.87
Lenguado, lenguado de Florida	<i>Paralichthys lethostigma</i>	1.24	75.59	21.43	1.18
Merluza, merluza norteña o del pacifico	<i>Merluccius productus</i>	1.07	81.70	15.75	0.95
Pargo huachinango, acara aya, pargo colorado	<i>Lutjanus campechanus</i>	1.23	76.53	19.20	1.31
picuda, Barracuda, plateada	<i>Sphyrna agentea</i>	1.56	77.73	16.21	1.10
Pierna, blanquillo, cabezudo, peje blanco	<i>Caulolatilus princeps</i>	1.61	78.37	15.14	0.98
Rubia, colirubia, cola, rabirubia	<i>Ocyurus chrysurus</i>	0.92	75.82	17.86	1.04
Sargo, chop espina	<i>Lagodon rhomboides</i>	1.59	77.09	18.47	1.09
Tiburón, Cazón, macuira, tiburón manchado, volador	<i>Carcharhinus limbatus</i>	1.56	77.78	20.04	1.15
Verdillo, cabrilla de arena	<i>Paralabrax nebulifer</i>	1.52	78.88	16.76	1.10

En la Tabla 2 se presentan los valores de lípidos totales (LT), donde se observa una gran variación numérica entre especies, teniendo como es de esperar valores bajos de (LT) en las especies magras (desde 0.76 g/100 g de filete hasta

1.75 g/100g), y concentraciones muy altas de (LT) en la especie grasa analizada (7.13 g/100g). Se encontraron diferencias significativas entre los pescados magros y semigrasos.

TABLA 2  
Contenido de ácidos grasos en 18 especies de pescados marinos mexicanos (mg /100g de filete)

Pescado	AGS	AGM	AGP	n-3	n-6	n-3 / n-6
Abadejo	78.13	57.45	133.82	114.95	17.67	6.51
Angelito	88.66	137.89	220.61	142.36	76.55	1.86
Bandera	18.13	97.45	120.40	68.23	42.40	1.61
Bobo escama	12.88	13.55	20.39	5.04	12.88	0.39
Lebrancha	136.92	119.94	196.60	165.42	27.83	5.94
Pargo huachinango	51.62	41.18	156.34	131.16	22.43	5.85
Conejo	38.75	55.77	116.53	101.05	13.67	7.39
Rubia	71.82	71.47	111.38	95.71	15.67	6.11
Tiburón	57.98	54.62	127.78	94.83	27.67	3.43
Verdillo	28.93	24.42	47.92	36.71	7.33	5.01
Pierna	12.57	18.98	47.43	41.78	4.71	8.87
Sargo	7.74	15.27	313.34	293.54	19.79	14.83
Gurrubata	64.69	25.98	70.36	39.26	29.51	1.33
Lenguado	19.47	23.09	42.26	34.20	8.07	4.24
Merluza	42.63	33.26	133.39	102.77	30.62	3.36
Atún aleta amarilla	104.59	65.79	225.02	170.04	54.98	3.09
Picuda	125.18	111.59	324.90	295.42	29.48	10.02
Lengua	92.58	89.67	141.92	95.41	42.16	2.26

AGS =  $\Sigma$  Ácidos grasos saturados

AGM =  $\Sigma$  Ácidos grasos monoinsaturados

AGP =  $\Sigma$  Ácidos grasos poliinsaturados

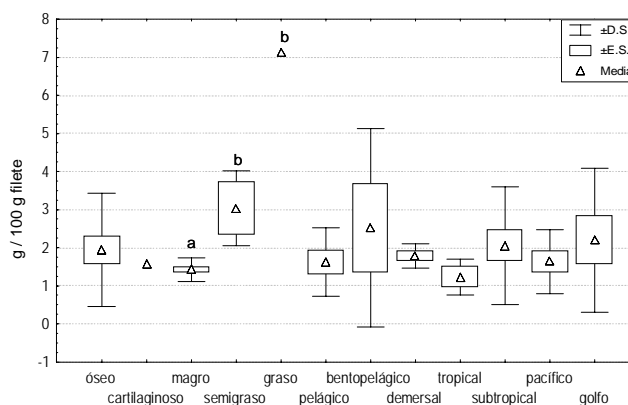
Comparando con lo reportado en las tablas del valor nutritivo (23) solo se encontraron valores de (LT) reportados anteriormente (g/100g) para: pargo huachinango (2.10), tiburón (10.20), gurrubata (3.20) y lenguado (1.0), excepto este último, todos los valores de tablas fueron mas altos. Estas variaciones se explican debido a que el contenido de grasa en el músculo de los pescados depende de los cambios ocasionados por las diferentes estaciones del año y las diferencias fisicoquímicas de los lugares de captura (19,24).

El contenido de lípidos totales presente en los diferentes pescados de acuerdo a diferentes clasificaciones se presenta en la Tabla 3. Por su clasificación biológica no se encontraron diferencias significativas (Figura 1), entre el pescado cartilaginoso (tiburón) y los óseos (17 especies restantes). Por su contenido de grasa en carne se encontró diferencia estadística entre las especies magras y las semigrasas y grasa, no así entre estas dos últimas; la concentración de LT de la especie grasa fue 5 veces más que las magras; este comportamiento se observó en un estudio previo (3). Los LT tuvieron valores similares, sin diferencias significativas, independientemente de su distribución general, distribución geográfica y ubicación ecótica (Figura 1, Tabla 3). En este caso, los lípidos totales variaron solamente dependiendo de su contenido de grasa en el músculo.

El contenido de ácidos grasos de los pescados analizados, dependiendo de su tipología se presenta en la Tabla 2. Los ácidos grasos saturados (AGS) identificados en la mayoría de las especies fueron: C11:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C22:0,

C23:0 y C24:0, el C11:0 solo se detecto en el bandera con un valor de 0.11 mg/100g, el C23:0 fue el ácido graso menos abundante y no se detectó en los siguientes pescados: angelito, bobo escama, gurrubata, lenguado, merluza, atún aleta amarilla, lengua. El ácido graso saturado más abundante fue C16:0 y no se detectó en el sargo; el único AGM detectado en todas la especies fue el nervónico (C24:1), aunque en cantidades pequeñas, entre 0.2 y 15.27 mg / 100 g con una media de  $5.9 \pm 4.4$ .

FIGURA 1  
Lípidos totales en 18 especies de pescados marinos mexicanos



En la mayoría de las especies estudiadas, la relación entre ácidos grasos saturados (AGS) y monoinsaturados (AGM) es 1:1, presentando una media y d.s. de  $58.52 \pm 39.76$  y  $58.74 \pm 38.72$  (mg/100g), respectivamente; a diferencia de las especies reportadas en el artículo previo a éste (3) en donde los AGS fueron los más abundantes en todos los pescados, mientras que en el presente estudio los poliinsaturados (AGP) fueron los más abundantes en todas las especies, con un valor promedio de  $141.95 \pm 87.32$  (mg/100g), Los AGM detectados fueron C14:1, C15:1, C16:1, C17:1, C18:1n-9t, 18:1n-9c, C20:1, C22:1, C24:1. El C17:1 o cis-10-heptadecanoico fue el menos abundante ya que sólo se detectó en seis especies, abadejo, bobo escama, bandera, lebrancha, tiburón y pierna. Mientras que el AGM más abundante fue el ac. oleico (C18:1) ( $34.02 \pm 28.13$  (mg/100g), el cual no fue detectado en el sargo; el único AGM detectado en todas la especies fue el ac. nervónico (C24:1), con una valor promedio de  $5.93 \pm 4.38$ .

Los AGP detectados fueron C18:2n-6t, 18:2n-6c, C18:3n-6, 18:3n-3, C20:2, C20:3n-6, C20:3n-3, C20:4n-6, C22:2, C20:5n-3 y C22:6n-3, el C20:3n-3 sólo se cuantificó en cuatro especies; angelito, bandera, lebrancha y pierna, mientras que C20:4 n-6, C20:5n-3 y C22:6n-3 se presentó en todas la especies, con una media y d.s. de  $12.21 \pm 7.62$ ,  $19.00 \pm 21.91$  y  $90.01 \pm 66.30$  mg/100g, respectivamente. La d.s. tan elevada se debe a la variación que existe entre las diferentes especies.

TABLA 3  
Acidos grasos n-3 en 18 especies de pescados marinos mexicanos de amplio consumo México  
(mg/100g de filete)

Pescado	n	ALA	11,14,17 eicosatrienioco	EPA	DHA
Abadejo	15	1.13 (0.43)	nd	8.30 (3.6)	105.52 (31.26)
Angelito	18	4.18 (1.78)	nd	12.23 (2.67)	123.74 (23.64)
Atún aleta amarilla	25	2.15 (0.48)	25.08 (3.14)	15.48 (0.53)	152.40 (2.65)
Bandera	18	3.66 (0.70)	nd	3.82 (0.31)	35.67 (0.67)
Bobo escama	15	3.09 (0.79)	nd	0.56 (0.17)	1.39 (0.36)
Conejo	24	0.58 (0.05)	nd	15.66 (4.52)	28.75 (1.26)
Gurrubata	15	2.59 (0.55)	0.29 (0.07)	7.91 (2.14)	79.97 (6.82)
Lebrancha	15	7.24 (0.39)	nd	77.92 (6.08)	84.82 (5.44)
Lengua	32	1.43 (0.03)	nd	9.16 (1.41)	31.03 (6.27)
Lenguado	22	nd	nd	3.17 (0.63)	78.45 (11.27)
Merluza	18	1.78 (0.22)	nd	22.54 (6.04)	102.08 (13.77)
Pargo huachinango	25	1.01 (0.43)	0.32 (0.02)	28.07 (5.45)	237.33 (1.83)
Picuda	19	2.56 (0.63)	nd	55.54 (0.75)	35.79 (7.36)
Pierna	18	1.37 (0.67)	nd	4.30 (1.82)	92.23 (7.89)
Rubia	16	1.99 (0.46)	nd	1.49 (0.07)	237.88 (3.05)
Sargo	18	nd	nd	55.67 (1.04)	85.00 (2.67)
Tiburón	22	1.90 (0.28)	nd	7.93 (0.45)	23.82 (6.57)
Verdillo	15	0.64 (0.16)	nd	12.25 (3.81)	84.82 (5.44)

nd = no detectado n = N° de repeticiones

### Acidos grasos omega 3

Se identificaron y cuantificaron cuatro ácidos grasos de la familia n-3: 1) ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3 n-3), conocido internacionalmente por sus siglas en inglés como ALA; 2) 11,14,17 eicosatrienoico (C20:3 n-3); 3) ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3) conocido como EPA y 4) ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3), conocido como DHA (Tabla 3). En general, su abundancia fue C18:3 < C20:3 < C20:5 < C22:6, con los siguientes valores totales de cada uno de los AG en todos los pescados analizados:  $2.35 \pm 1.67$ ,  $6.98 \pm 12.10$ ,  $19.00 \pm 21.91$ ,  $90.01 \pm 66.30$  (mg/100g filete), respectivamente; la desviación estándar observada se debe a la alta variabilidad de las muestras dado su carácter biológico, ya que se sabe que los valores de AG dependen de factores bióticos como, la especie del pescado y estado fisiológico, así como factores abióticos como el lugar, la época de captura y el proceso industrial al que se someta (19, 25). El C18:3n-3 no se identificó en sargo y lenguado; el C20:3 sólo se detectó en angelito, bandera, lebrancha y pierna. El EPA y DHA se identificaron en todas las especies.

En la Tabla 4 se observa el contenido de AG n-3 de acuerdo a las diferentes clasificaciones, que finalmente son variables que pudieran influir en su concentración. Por su distribución ecótica se observó que la profundidad en la que las especies estudiadas habitan no influye en el contenido de AG n-3, lo mismo ocurrió para la distribución general y biológica, ya que no se detectó

diferencia significativa para este tipo de ácidos grasos.

Por su distribución geográfica, C18:3, C20:3, C20:5 presentaron un comportamiento diferente, observándose que los procedentes del Golfo de México tuvieron una relación 2:1 sobre los del Pacífico, a excepción del C22:6, que presenta valores muy cercanos en los dos casos.

Por el contenido de grasa en carne, la lebrancha fue el único pescado graso (7.13% LT) estudiado, su contenido de EPA fue el más elevado (77.9 mg/100g) en comparación con las especies aquí estudiadas y con la mayoría de las 25 especies reportadas por Castro-González (3) incluyendo las especies grasas, con valores entre 1.53 y 68.0 mg/100g para el cazón y cojinuda, respectivamente. En el trabajo antes citado, los pescados albacora, trucha marina y jorobado presentaron concentraciones muy elevadas de éste ácido graso, en comparación con este trabajo: 339.2, 106.1 y 127.7 mg/100g, respectivamente.

Por otro lado los pescados clasificados como semi-grasos y magros tuvieron un comportamiento similar en cuanto al grado de concentración de C18:3n-3, C20:3n-3 y C20:5 n-3.

El DHA del pescado graso de este trabajo, presentó un comportamiento diferente en comparación con lo informado por Castro-González (3), quienes encontraron que éste ácido graso era superior en concentración y en comparación con el EPA para las especies grasas, por ejemplo, albacora (EPA = 339.2 y DHA = 962.5 mg/100g), jorobado (EPA = 127.7 y

DHA = 685.9 mg/100g), mientras que en el presente trabajo el lebrancha tuvo una concentración de EPA = 77.9 y DHA = 79.9 mg/100g. Lo que concluye que este pescado a pesar de ser una especie grasa no es rica en DHA. En general, los valores de ésta ácido graso de las 18 especies analizadas fue bajo en comparación con las 25 especies analizadas en el trabajo antes mencionado.

En la Figura 2 se presentan los AG n-3 y n-6 de las 18 especies de pescados de acuerdo al contenido de grasa en el músculo. A diferencia de lo esperado y reportado por Castro-

González (3), no se encontró diferencia significativa por el contenido de grasa en músculo, lo mismo para los n-6, sin embargo, se encontró diferencia estadística entre los n-3 magros y n-6 magros, semigrasos y grasos. No se encontró esta diferencia entre los n-3 semigrasos y n-6 de ningún tipo. Se detectó diferencia significativa entre n-3 grasos y n-6 magros. Los ácidos grasos n-3 y n-6 del grupo de los pescados grasos no se pudieron someter a análisis estadístico debido al número de representantes (n = 1), sin embargo, se observa una diferencia numérica muy marcada entre ellos.

TABLA 4  
Ácidos grasos n-3 en 18 especies de pescado marino mexicano de acuerdo a diferentes clasificaciones.  
(mg / 100 g filete)

Clasificación	n	LT g/100g	C18:3 n-3	C20:3 n-3	C20:5 n-3	C22:6 n-3	Total
<b>Biológica</b>							
Óseos	17	1.94 (1.49)	2.36 (1.72)	6.98 (12.10)	19.65 (22.40)	90.33 (68.30)	119.32
Cartilaginosos	1	1.56	1.90	nd	7.93	85.00	94.83
<b>Grasa en carne</b>							
Magros	15	1.42 (0.31)	1.79 (0.97)	1.27 (1.34)	17.31 (17.06)	100.24 (66.65)	120.62
Semi- grasos	2	3.03 (0.99)	3.38 (0.40)	25.08 (0.29)	2.19 (2.31)	18.53 (24.24)	49.17
Grasos	1	7.13	7.24	nd	77.92	79.97	165.13
<b>Distribución general</b>							
Tropical	2	1.00 (0.33)	1.58 (0.81)	nd	21.78 (8.90)	127.24 (35.59)	150.60
Subtropical	16	2.03 (1.50)	2.44 (1.74)	6.82 (2.50)	18.65 (23.19)	85.39 (68.45)	113.45
<b>Distribución geográfica</b>							
Golfo	9	2.20 (1.89)	2.80 (2.2)	9.19 (13.79)	23.45 (26.34)	98.96 (60.73)	134.41
Pacífico	9	1.64 (0.84)	1.87 (0.76)	0.32	14.55 (16.78)	81.11 (73.93)	97.85
<b>Ubicación ecótica</b>							
Pelágicos	8	1.65 (0.9)	1.82 (0.86)	nd	16.30 (17.38)	96.97 (72.67)	115.09
Bentopelágicos	5	2.52 (2.6)	3.16 (2.59)	0.94	24.80 (31.44)	86.76 (32.70)	115.66
Demersales	5	1.66 (0.1)	2.21 (1.54)	1.10 (2.21)	19.44 (20.34)	99.80 (87.58)	122.56

Por columna, se presentan los datos de la media  $\pm$  DS  
nd = no detectado n = N° de especies por clasificación

De acuerdo a su clasificación biológica (Tabla 4), no se encontró diferencia significativa, entre pescados cartilaginosos (tiburón) y óseos (los 17 restantes); por su distribución general, las especies tropicales presentaron un contenido de EPA y DHA, ligeramente mayor a las subtropicales, debido probablemente al tipo de alimento que existe en estos lugares (26).

Respecto a la distribución geográfica, el 50% de las especies fue procedente del Golfo de México y 50% del Pacífico occidental. Estadísticamente no se detectó diferencia significativa para ningún AG n-3 debido probablemente a las desviaciones estándar dadas por la gran variación que existe entre organismos. Sin embargo, numéricamente las especies del Golfo presentaron valores mayores para todos los AG n-3. El caso contrario ocurrió entre especies con esta distribución geográfica en el trabajo reportado por Castro-González (3),

donde las del Pacífico presentaron valores más elevados, lo cual nos indica que la distribución geográfica no es un factor determinante para la concentración de ácidos grasos n-3.

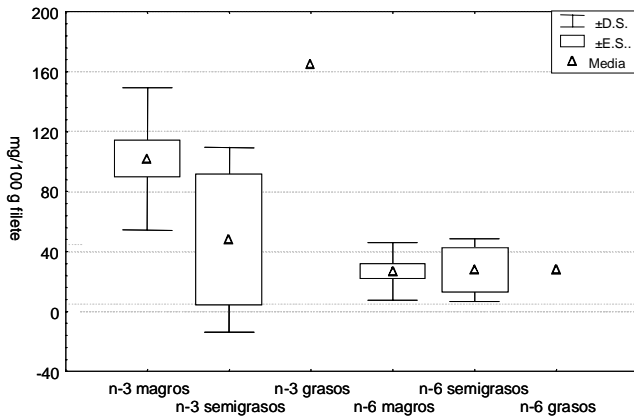
De acuerdo a su distribución ecótica (dependiente de la profundidad en que se encuentren los peces en la columna de agua), los tres AG n-3, principales, presentaron una distribución muy parecida, entre pelágicos y demersales; mayor cantidad de DHA y menor cantidad de ALA y EPA, en comparación a los bentopelágicos. Estos últimos, junto con los demersales tuvieron una desviación estándar muy grande, lo cual nos estaría indicando que la distribución a lo largo de la columna de agua no influye en el contenido de AG n-3.

Las elevadas desviaciones estándar obtenidas (Tabla 4), se deben a que la clasificación engloba distintas especies, conformando grupos heterogéneos, cuya composición química es establecida por factores bióticos y abióticos

(19,25,27); sin embargo, con estas clasificaciones se pretende dar una visión general de aquellos grupos de pescados que pueden proporcionar valores más altos de ciertos compuestos nutraceuticos.

FIGURA 2

Acidos grasos n-3 y n-6 en 18 especies de pescados marinos mexicanos, de acuerdo al contenido de grasa en músculo



**Evaluación de las 18 especies de pescados como alimentos funcionales**

Como se mencionó en el artículo presentado por Castro-González (8), no existe hasta el día de hoy un consenso mundial sobre la recomendación para el consumo diario de AG n-3 (EPA y DHA), con el fin de obtener los numerosos beneficios

que estos compuestos nutraceuticos proporcionan, sin embargo y con base en numerosos estudios clínicos que se han llevado a cabo en todo el mundo, algunos países sugieren los siguientes valores de consumo diario de EPA + DHA: Estados Unidos 0.65 g/día, el Comité de Aspectos Médicos y Política Alimenticia de Canadá sugiere 0.20g/día; Reino Unido propone 0.50% de la energía consumida provenga de EPA y DHA combinados; los japoneses recomiendan una ingesta importante de DHA para mujeres embarazadas de 0.5 g /día, para mejorar el desarrollo pre y post-natal, así como para evitar el nacimiento de niños prematuros (25).

En este estudio, de las 18 especies analizadas solo dos presentaron, para el lugar y época de captura dada, una concentración de EPA y DHA mayor a 0.20 g que es el valor mínimo dado en las recomendaciones mundiales para la obtención de los beneficios que estos ácidos grasos otorgan a la salud, principalmente en la prevención de enfermedades cardiovasculares, por lo que se les podría considerar como alimentos funcionales. Estas especies son el sargo (293.5) y la picuda (295.4) mg/ 100 g de filete. Comparado con lo reportado en un estudio similar (3), en donde los valores de EPA + DHA variaron entre 0.22 y 0.61 g/100g de filete, estos valores se encuentran en el nivel inferior, sin dejar de ser muy buenas fuentes de AG n-3.

Estudios clínicos o epidemiológicos recientes han demostrado diferentes beneficios al incluir EPA+DHA en la dieta y han propuesto diferentes recomendaciones, como se observa en la Tabla 5.

TABLA 5  
Recomendaciones de consumo de ácidos grasos n-3 y su beneficio en la salud

R	Recomendación	Beneficio
(28)	1 g/d EPA+DHA	Como prevención: (EC) (MS) Como tratamiento: Infarto miocardio y prevención 2 <sup>aria</sup>
(29)	500mg/d EPA+DHA (2 /d) 1 g/d EPA + DHA	↓ Riesgo EC Tratamiento: en EC existente
(30)	DHA 120 mg/d hombres 100 mg/d mujeres	Beneficios generales mencionados por otros autores.
(31)	0.5 % consumo energía/d en adultos. 1.0 % consumo energía/d en Adultos mayores, embarazadas y lactantes	Beneficios generales mencionados por otros autores.
(32)	> 0.2 g/d AG cadena larga	Beneficios generales mencionados por otros autores
(33)	100 mg/d DHA	↑ Coeficiente Intelectual 0.13 puntos en niños alimentados c/ fórmula
(34)	180 mg/d DHA (2.7 / sem)	↓ 50% riesgo de demencia y degeneración macular asociado con la edad.
(35)	2 raciones de pescado rico en EPA+DHA /sem	↓ Riesgo MS y EC, ↓ Presión sanguínea.

R = referencia      EC = enfermedad cardiovascular  
MS = muerte súbita

## CONCLUSIONES

En el presente trabajo se concluye que los factores que más pudieron afectar la concentración de los lípidos totales en las 18 especies estudiadas fueron la distribución general y la distribución geográfica, los cuales probablemente son las variables determinantes del tipo de grasa en los pescados. El tipo y concentración de AG n-3 fue muy variable entre especies y entre los factores analizados. Por otro lado, por su contenido de EPA + DHA, de las 18 especies analizadas solo el 11 %, pudiera ser consideradas como alimentos funcionales ya que en estas se encontraron en los intervalos de las recomendaciones mundiales dadas por los diferentes países, siempre y cuando se incorpore su consumo de manera habitual, al menos dos veces por semana en la dieta, de acuerdo a la Asociación Americana del Corazón.

A diferencia de lo que se piensa, en este caso, el sargo y la picuda son especies magras con elevado contenido de EPA+DHA, lo cual abre la posibilidad de considerar no solo a los pescados azules o grasos como buenas fuentes de ácidos grasos omega 3, sino en general, la mayoría de las especies pudieran llegar a considerarse como un alimento funcional, dependiendo de algunos factores bióticos, principalmente.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración del Sr. Roberto Gutiérrez A., presidente de la Sociedad Nacional de Introdutores y Distribuidores de Pescados y Mariscos La Nueva Viga en la Cd. de México, por la materia prima y el apoyo otorgado durante la realización del presente estudio. De manera muy especial agradecemos la colaboración del Dr. José Luis Castro-Aguirre del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, eminente ictiólogo mexicano quien amablemente colaboró en la identificación de algunas de las especies, además de proporcionarnos valiosa información.

## REFERENCIAS

- Potter NN y Hotchkiss JH. Food Science. Chapman and Hall. U.S.A.608 pp. Roberfroid, M.B. 2000. Concepts and strategy of funcional food science: The European perspective. Am J Clin Nutr. 1995;71(6):1664-1669
- Wildman CER. Handbook of Nutraceuticals and Funcional Foods. CRC Press. U.S.A. 542. 2001.
- Castro-González MI, Ojeda A, Silencio JL, Cassis L, Ledesma H, Pérez-Gil RF. Perfil lipídico de 25 pescados marinos mexicanos con especial énfasis en sus ácidos grasos n-3 como componentes nutraceuticos. Arch Latinoamer Nutr 2004;54(3):328
- Martin RE, Flick GJ, Hebard CE y Warrd DR. Chemistry and Biochemistry of marine food products. AVI Publishing Co. Westport, C.T. 1990;356 pp.
- Netleton JA, Katz R. n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in type II diabetes: a review. J Am Diet Assoc. 2005;105(3):428-440.
- Clelan L, James M, Proudman S. The role of fish oils in the treatment of rheumatoid arthritis. Drugs; 2003;63 (9):845-53.
- Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. J Am College Nutr. 2002;21(6):495-505.
- Cerkauskiene R, Kaminskas A, Kaltenis P, Vitkus D. Influence of omega-3 fatty acids on lipid metabolism in children with steroid sensitive nephritic syndrome. Medicina (Kaunas) 2003;39 Suppl 1:87-7.
- Tully AM, Roche HM, Doyle R, Fallon C, Bruce I, Lawlor B, Coakley D, Gibney MJ. Low serum cholesteryl ester-docosahexaenoic acid levels in Alzheimer's disease: a case-control study. Br J Nutr 2003;Apr; 89(4):483-9.
- Bourre JM. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during ageing. J Nutr Health Aging. 2004;8(3):163-174.
- Colin A, Reggers J, Castronovo, V, Anseau, M. Lipids, depression and suicide. Encephale Jan-Feb; 2003;29(Pt 1):49-58.
- Chen WJ, Yeh SL. Effects of fish oil in parental nutrition. Nutrition, 2003;Mar; 19(3):275-9.
- Secretaría de Economía. Informe de producción de pescado en México del Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados. Informe anual. [publicación periódica en línea] 2002. Se consigue en <http://www.sniim.gob.mx>
- Froese R and D Pauli, Editors. 2000. FishBase 2000: concepts, design and data sources. ICLARM, Philippines. 344 pp.
- Pérez C. Técnicas de muestreo estadístico. Teoría, práctica y aplicaciones informáticas. España.: Alfaomega- Rama, 2000.
- NOM-116-SSA1-1994. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa.
- NMX-f-607-NORMEX-2002. Alimentos - Determinación de cenizas en alimentos. Método de prueba.
- NMX-608-NORMEX-2002. Alimentos - Determinación de proteínas en alimentos. Método de prueba.
- Castro GMI, Montañó BS, Pérez-Gil RF. Ácidos grasos del atún de diferentes zonas pesqueras del Pacífico mexicano, en aceite y agua. Arch Lat Nutr 2001;51(4):407-413.
- Hair FJ, Anderson ER, Tatham LR, Black CW. Análisis Multivariante. Madrid (España): Prentice Hall, 2000.
- StatSoft, Inc. Statística for Windows (Computer program Manual). Tulsa, OK: StatSoft Inc., 2325 East 13<sup>th</sup> Street, Tulsa OK 74104, (918) 583-41-49, Fax: (918)583-4376. 1995.
- Pigott MG & Turker WB. Seafood Effects of Thechnology on Nutrition. Marcel Dekker. New York, USA. 362 pp. 1990.
- Muñoz CM, Ledesma SJA, Chávez VA, Pérez-Gil RF, Mendoza ME, Calvo C, Castro GMI, Sánchez CC, Ávila CA. Los Alimentos y sus Nutrientes. Tablas de Valor Nutritivo de Alimentos. México (México): McGraw -Hil Interamericana;2002.
- Haard NF. Composition and Nutritive Value of Fish Proteins. En: Ruitter A, editor. Fish and Fishery products. United Kingdom: Cab International; 1995. p.77-115.
- Castro González MI, Ácidos Grasos n-3 Beneficios y fuentes, Interciencia 2002;27(3):128-136.

26. Bone Q, Marshall NB, Blaxter JHS. *Biology of Fishes*. New York (USA). Blackie Academic & Professional; 1997.
27. Love M. *The Chemical Biology of Fishes*. Vol. 2. New York (USA). Academic Press; 1980.
28. Sackey CV, Harris WS. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Cardiovasc Res* 71(4). Sep. 2006.
29. Gebauer Sk, Psota Tl, Harris WS, Kris-Etherton PM. n-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *Am J Clin Nutr*. 83(6 Suppl):1526S-1535S. 2006.
30. Astorg P, Arnault N, Czernichow S, Noisette N, Galan P, Hercberg S. Dietary intakes and food sources on n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. *Lipids*. 2004;39(6):527-535.
31. Bourre JM. Where to find omega-3 fatty acids and how feeding animals with diet enriched in omega-3 fatty acids to increase nutritinal value of derived products for human: what is actually useful?. *J Nutr Health Aging*. 9(4):232-242.
32. Meyer BJ, Mann NJ, Lewis JI, Milligan GC, Sinclair AJ, Howe PR. Dietary intakes and food sources of oemga-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*. 38(4):391-398.
33. Cohen JT, Belliger DC, Connor WE, Shaywitz BA. A quantitative análisis of prenatal intake of n-3 polyunsaturated fatty acids and cognitive development. *Am J Prev Med*. 29(4):366-374.
34. Johnson EJ, Schaefer EJ. Potencial role of dietary n-3 fatty acids in the prevention of dementia and macular degeneration. *Am J Clin Nutr*. 83(6 Suppl):1494S-1498S. 2006.
35. Lichtenstein A, Lawrence Ch, Brands M. Diet and Lifestyle Recomendations Revision 2006. *Circulation*. 2006;114:82-96.

Recibido: 31-10-2006

Aceptado:09-03-2007

## Caracterización del acai o manaca (*Euterpe olerácea* Mart.): un fruto del Amazonas

Sanabria Neida, Sangronis Elba

Laboratorio de Análisis de Alimentos. Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos,  
Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue determinar la composición proximal, el perfil de ácidos grasos, el contenido de minerales, taninos, polifenoles, antocianinas, la capacidad antioxidante y el color de la pulpa del acai (*Euterpe olerácea* Mart), recolectada en el Amazonas venezolano, provenientes de 2 cosechas del año 2005. Para el análisis proximal se utilizaron métodos oficiales y los minerales se analizaron mediante la técnica de plasma inducido. Los polifenoles, taninos y antocianinas se determinaron por métodos espectrofotométricos y para la capacidad antioxidante se siguió el método del DPPH. Los resultados expresados en base seca indicaron que el acai de las 2 cosechas tiene un alto contenido de lípidos (49,4% y 33,1%,), proteínas (13,8% y 9,3%), cenizas (5,2% y 2,2%,) y fibra dietética total (30,9% y 20,0%,). Destaca que el 71% de la grasa es ácido oleico y que el contenido de Fe de la primera y segunda cosecha fue 0,023 y 0,015 g/100g, respectivamente; polifenoles 5,02 y 2,20 g/100 g; taninos 0,70 y 1,37 g/100g; antocianinas 0,73 y 1,60 g/100g y la capacidad antioxidante fue 88,03 y 87,87%, respectivamente. Se concluye que el acai o manaca recolectada en el Amazonas venezolano tiene un alto valor nutricional y contiene compuestos antioxidantes que sugieren la necesidad de industrializarlo para aprovechar al máximo sus propiedades.

**Palabras clave:** Capacidad antioxidante, antocianinas, taninos, polifenoles, minerales.

**SUMMARY.** Characterization of the acai or manaca (*Euterpe olerácea* Mart.): a fruit of the Amazon. The objective of this study was to determine the proximal composition, the fatty acid profile, the content of minerals, tannins, polyphenols, anthocyanins, the antioxidant capacity and the color of the acai pulp (*Euterpe olerácea* Mart) collected in the Venezuelan Amazon from 2 harvests of the year 2005. For the proximal analysis, the official methods were used and the minerals were analyzed by the induced plasma technique. Polyphenols, tannins and anthocyanins were determined by spectrophotometric methods and the antioxidant capacity was analyzed by DPPH method. Results in dry basis indicated that acai has a high lipids content (49.4% and 33.1%), proteins (13.8% and 9.3%), ash (5.2% and 2.2%) and total dietary fiber (27.3% and 18.0%). It stands out that 71% of the acai fat is oleic acid and that the Fe content of the first and second harvest was 0.023 and 0.015 mg/100g, respectively; polyphenols 5.02 and 2.20 g/100 g; tannins 0.70 and 1.37 g/100g; anthocyanins 0.73 and 1.60 g/100g and the antioxidant capacity 88.03 and 87.87%, respectively. It is concluded that the acai or manaca collected in the Venezuelan Amazon has a high nutritional value and contains antioxidant compounds which suggests the need to industrialize it to take advantage to the maximum of its properties.

**Key words:** Antioxidant capacity, anthocyanins, tannins, polyphenols, minerals.

### INTRODUCCION

El acai (*Euterpe olerácea* Mart.), también conocida como assaí, palmito o manaca, es una palma ampliamente distribuida en el Amazonas. Su fruto, conocido con el mismo nombre, es una baya de forma redonda-ovalada de color violáceo cuando está maduro (variedad roja) y verde cuando está inmaduro (1), también existe una variedad blanca menos conocida y denominada acai blanco (2). La siembra y cosecha del acai se efectúa bajo condiciones controladas en la región brasileña (1), mientras que en Venezuela es un fruto silvestre consumido fundamentalmente por los indígenas de la región amazónica. El cultivo del acai requiere un clima tropical lluvioso, su período de zafra ocurre entre Julio y Diciembre de cada año, siendo la producción casi nula el resto del año. En Brasil, el acai forma parte de la dieta habitual en la región de Belem do Pará, y se venden productos comerciales como el

jugo preparado a partir del fruto sin semilla, el denominado vino de açaí, la pulpa congelada, helados, jugo pasteurizado de açaí-guarána, etc. (1,3). En Venezuela, las comunidades indígenas del Amazonas venezolano consumen el acai como fruto o en la preparación de jugo, pero es prácticamente desconocido en el resto del país. Tanto en Brasil (4) como en Venezuela (5) se han realizado pruebas para la obtención de harina de acai como una forma alternativa de preservar los frutos en épocas de zafra y utilizarlos luego en la formulación de productos para diversificar así su uso.

Existe un creciente interés en los compuestos antioxidantes presente en los alimentos, a los que se les atribuyen la capacidad de inhibir los procesos de oxidación generado por los radicales libres en el organismo y tener así un rol preventivo de ciertas enfermedades como cáncer, cataratas y patologías cerebrales. Entre los compuestos antioxidantes están los flavonoides como son los fenoles, taninos y antocianinas.

Estudios indican que el acai contiene compuestos polifenólicos, principalmente de tipo antocianicos (2, 3, 6, 7, 8), y su caracterización mediante HPLC señala un predominio de la cianidina 3-glucósido, epicatequina y catequina, con una capacidad antioxidante del fruto de 48,6  $\mu\text{mol ET/L}$  (Equivalentes de Trolox por litro), lo cual es superior a la presentada por fresas, arándanos y frambuesas (8). Al estudiar el efecto de los componentes antocianicos del acai sobre la proliferación y la inducción al deterioro en células de leucemia tipo HL-60 se demostró su capacidad de inhibir la división celular (9). El objetivo de esta investigación fue determinar la composición proximal, el perfil de ácidos grasos, el contenido de minerales, polifenoles, taninos, antocianinas, capacidad antioxidante y color en la pulpa del acai (*Euterpe oleracea* Mart) recolectada en el Amazonas venezolano.

## MATERIALES Y METODOS

### Muestra

Los frutos de acai (10 kg) se adquirieron en el mercado local de Puerto Ayacucho, Edo. Amazonas y provenían de las cosechas de Febrero y Julio del año 2005. Los frutos fueron lavados con agua corriente, escurridos, secados con papel absorbente para retirar el exceso de humedad y luego fueron despulpados manualmente y colocados en bolsas plásticas y refrigerados a 14°C para su análisis posterior.

### Humedad

Según método 925.09 AOAC (10).

### Proteínas

Según método 960.52 AOAC (10). Para la conversión del porcentaje de nitrógeno a proteína se usó el factor de 6,25.

### Grasa

Según método 920.39 AOAC (10), empleando hexano grado técnico como solvente de extracción.

### Cenizas

Según método 923.03 AOAC (10).

### Fibra dietética

Se usó el método 985.29 AOAC (10). Para la hidrólisis se empleó un sistema de enzimas formado por una amilasa termoestable, una proteasa y una amiloglucosidasa. Se cuantificaron las fracciones de fibra dietética soluble e insoluble y la fibra dietética total.

### Perfil de ácidos grasos

Se usó el método de Blau y Halket (11). Se extrajo la grasa de la muestra con extracción clorofórmica según el método de Bligh y Dyer (12). Se pesaron 15 mg de la grasa, se le

agregó 1 mL HCl 3N en metanol, 250 mL de 2,2-dimetoxipropano y 1 mL de hexano. Se llevó a baño de agua a 70°C por 60 min, se agitó y se dejó en reposo hasta la separación de las fases, se tomó una alícuota de la fase superior orgánica y se introdujo en un vial de 2 mL con tamiz molecular como agente desecante. Se inyectaron 2  $\mu\text{L}$  en el cromatógrafo de gases marca HP6890 con control electrónico de presión con las siguientes condiciones: una columna marca Supelco SP-2380, 90% cianopropil-fenil-siloxano de 30 cm longitud, 250 mm diámetro interno y 0,20 mm espesor de la fase estacionaria.

### Minerales

Según método 984.27 AOAC (10). A partir de las cenizas se preparó una solución ácida en la cual se determinaron los siguientes minerales: hierro, cobre, sodio, potasio, fósforo, magnesio, manganeso, zinc, cromo, calcio. Se empleó un equipo de plasma inducido (ICP), marca Spectroflame XL ICP (GBC, Australia).

### Compuestos antioxidantes

La pulpa deshidratada y desgrasada se molió hasta una granulometría de 80 mesh, y se determinaron polifenoles totales, taninos y antocianinas. Los polifenoles totales se determinaron según método de Singleton y Rossi (13). La curva de calibración se preparó empleando una solución patrón de ácido tánico, la lectura se realizó a una longitud de onda  $\lambda=765$  nm, empleando un espectrofotómetro Spectronic 21D (Milton Roy Company, Analytical Products Division New Cork, U.S.A). Se graficó absorbancia versus concentración. El contenido de polifenoles totales se cuantificó como la suma del contenido de polifenoles de cada fracción analizada. Para la determinación de taninos se utilizó el método colorimétrico de Price y Butler (14). Para la curva de calibración se disolvieron 25 mg de catequina en 25 mL de metanol. Los resultados se expresaron como equivalentes de catequina por gramo de muestra. Para determinar las antocianinas se usó el método espectrofotométrico que cuantifica las antocianinas monoméricas totales como cianidina 3-glucósido por el método pH diferencial (15), con algunas modificaciones en el tratamiento de la muestra. A 100 mg de muestra se le agregaron 10 mL de agua destilada, se homogenizaron con un desintegrador de tejidos marca Polytron PT 3100 (Kinematica A.G., Switzerland) durante 1 min a 15000 rpm a temperatura ambiente. Se centrifugó a 3500 rpm por 15 min, y el sobrenadante se recolectó en tubos de ensayo. A partir del sobrenadante se prepararon 2 diluciones de la muestra, en la primera se tomó una alícuota de 2 mL y se llevó a 25 mL con buffer de cloruro potásico 0,025 M a pH 1. Para la otra dilución se tomó una alícuota de 2 mL se llevó a 25 mL con buffer acetato de sodio 0,4 M a pH 4,5. Ambas soluciones se dejaron en reposo en la oscuridad por 15 min y se midió la

absorbancia a una longitud de onda de  $\lambda = 700$  nm y luego a un  $\lambda = 520$  nm.

### Capacidad antioxidante

Se siguió el método colorimétrico (16) que emplea DPPH (1,1-difenil-2-picril hidrazilo hidratado). El blanco para calibración del equipo fue una mezcla metanol:agua (2:1). Se midió absorbancia a una longitud de onda de  $\lambda = 517$  nm. Se expresa como efecto atrapador (%) de la muestra calculada según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Efecto atrapador} = \frac{\text{Abs Patrón}_{\lambda=517\text{nm}} - \text{Abs Muestra}_{\lambda=517\text{nm}}}{\text{Abs Patrón}_{\lambda=517\text{nm}}} \times 100$$

### Color

Se utilizó un colorímetro Hunterlab, miniscan D-65. Se determinaron los parámetros L, a y b a fin de determinar si la presencia de los pigmentos determinados tenían alguna relación con los parámetros del color.

### Análisis estadístico

Los resultados se reportaron como medias y desviación estándar de triplicados de las muestras por cada cosecha, para la comparación entre ellas se utilizó el t-student y el programa estadístico SPSS versión 12.0 con un valor prefijado de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presenta la composición proximal expresada en base seca del acai de las 2 cosechas evaluadas con la finalidad de realizar la comparación entre ellas. Adicionalmente se reportan los porcentajes de humedad de dichas cosechas. Se observaron diferencias significativas en la composición, lo cual se esperaba ya que se trata de materiales biológicos probablemente provenientes de diferentes sitios y cosechados en diferentes condiciones. En ambas cosecha resalta el alto contenido de proteínas y de lípidos, los cuales son mayores a los reportados en estudios anteriores (5,17). El aporte de fibra dietética total del acai es superior a la reportada para fresas, higos, guayabas y dátiles (18), y comparable a valores reportados para harina de trigo integral y afrecho de arroz, los cuales son considerados fuentes de fibra (19). En las dos cosechas, destaca tanto el alto contenido de fibra soluble (3,6 y 2,0 g/100g, respectivamente) como de fibra insoluble (27,3 y 18,0 g/100g, respectivamente). El contenido de cenizas del acai es superior al reportado por otros autores (5,17), lo que indica un alto aporte de minerales, destacando el alto contenido de hierro, potasio calcio, fósforo, magnesio y sodio (Tabla 3). El contenido de hierro, potasio y calcio está en el orden de lo reportado para el acai brasileiro (17), destaca el alto contenido de hierro de los frutos de las dos

cosechas (23,0 y 15,0 mg/100g, respectivamente). En estudios realizados con ratas, investigadores concluyeron que el mayor valor nutricional del fruto de acai es esencialmente como alimento energético, ya que a pesar de su alto contenido de hierro no resultó efectivo en combatir la anemia (20). Entre los factores que podrían limitar la biodisponibilidad de hierro presente estaría el alto contenido de fibra de los frutos del acai.

TABLA 1  
Composición del acai de la primera y segunda cosecha expresados en base seca (g/100 g)<sup>1</sup>

	Primera cosecha (Febrero 2005)	Segunda cosecha (Julio 2005)
Proteínas	13,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	15,9 ± 0,3 <sup>a</sup>
Lípidos	49,4 ± 1,1 <sup>a</sup>	33,1 ± 1,4 <sup>b</sup>
Cenizas	5,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,1 <sup>b</sup>
Carbohidratos	31,6 <sup>a</sup>	48,8 <sup>b</sup>
Fibra insoluble	27,3 ± 2,3 <sup>a</sup>	18,0 ± 0,2 <sup>b</sup>
Fibra soluble	3,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,0 ± 1,0 <sup>b</sup>
Fibra total	30,9	20,0
Minerales		
Cr	0,003 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,004 ± 0,001 <sup>a</sup>
Zn	0,006 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,002 ± 0,001 <sup>b</sup>
Fe	0,023 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,015 ± 0,007 <sup>a</sup>
Cu	0,001 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,001 ± 0,001 <sup>a</sup>
Mn	0,009 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,013 ± 0,001 <sup>b</sup>
Na	0,066 ± 0,030 <sup>a</sup>	0,009 ± 0,001 <sup>a</sup>
K	0,697 ± 0,132 <sup>a</sup>	0,466 ± 0,040 <sup>b</sup>
Mg	0,079 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,112 ± 0,006 <sup>a</sup>
Ca	0,373 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,182 ± 0,012 <sup>b</sup>
P	0,200 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,092 ± 0,005 <sup>b</sup>

Se reportan media y desviación estándar de triplicados. Letras iguales en la misma fila indican no diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).<sup>1</sup>Humedad de los frutos de la primera y segunda cosecha= 48,6y 41,8g/100g, respectivamente. Los carbohidratos se calcularon por diferencia.

TABLA 2  
Perfil de ácidos grasos del acai expresado como g/100g de grasa y de muestra

Acido graso	Grasa	Muestra
Palmítico	23,0 ± 0,1	6,0 ± 0,0
Palmitoléico	5,0 ± 0,1	1,6 ± 0,0
Esteárico	1,3 ± 0,0	0,3 0,0
Oleico	54,4 ± 0,2	13,8 ± 0,0
Linoléico	16,0 ± 0,0	4,0 ± 0,0
$\alpha$ -linolénico	0,8 ± 0,1	0,2 ± 0,0

Se reportan media y desviación estándar de triplicados

TABLA 3  
Compuestos antioxidantes, capacidad antioxidante y color del acai

Compuesto (g/100g <sup>1</sup> )	Primera cosecha (Febrero 2005)	Segunda cosecha (Julio 2005)
Polifenoles	5,02 ± 0,10 <sup>a</sup>	2,20 ± 0,20 <sup>b</sup>
Taninos	0,70 ± 0,20 <sup>a</sup>	1,37 ± 0,10 <sup>b</sup>
Antocianinas	0,73 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,60 ± 0,20 <sup>b</sup>
Capacidad antioxidante		
% Inhibición DPPH	88,03 ± 0,30 <sup>a</sup>	87,82 ± 0,20 <sup>a</sup>
Color		
L	33,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	35,1 ± 0,0 <sup>b</sup>
a	2,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,0 <sup>b</sup>
b	2,6 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,0 <sup>b</sup>

Se reportan media y desviación estándar de triplicados. Letras iguales en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). <sup>1</sup> Muestra seca y desgrasada.

Con respecto a la calidad de la grasa se observa el predominio de ácidos grasos polinsaturados, los cuales representan el 71% del total de lípidos (Tabla 2). Se destaca el alto contenido de ácido oleico (18:1), seguido de linoléico (18:2) y  $\alpha$ -linolénico (18:3). Los valores en ácido oleico son comparables a lo aportado por el aceite de oliva y canola (77,0 y 61,5%, respectivamente) (21). El perfil de ácidos grasos del acai coincide con el reportado en estudios para el acai brasileiro (22). También destaca un alto contenido de ácido palmítico (23,0%), un ácido graso saturado que puede resultar de interés ya que le confiere propiedades funcionales como plasticidad, suavidad, aireación y cremosidad a las mantecas vegetales y margarinas preparadas a partir de grasas donde predomine dicho ácido graso. El sabor a nuez percibido en los productos a base de acai se le atribuye a la presencia del ácido palmítico (2).

Los compuestos antioxidantes en el acai se presentan en la Tabla 3. El alto contenido de compuestos polifenólicos, taninos y antocianinas varió significativamente con la cosecha. Los polifenoles en los frutos de la primera cosecha fueron mayores que en la segunda, pero lo contrario se observó con respecto a los taninos y las antocianinas. Ello puede significar que hay otros compuestos polifenólicos diferentes a las antocianinas y a los taninos que incrementan el valor de los polifenoles. Los polifenoles totales son comparables a lo reportado para el merey (*Anacardium occidentale* L.) (1021,27 ± 21,74 mg/100 g) (23). El contenido de taninos en el acai resultó ser mayor al determinado en el Cajanus cajan comúnmente conocido en Venezuela como quinchoncho, variedad oscura y clara (0,030 y 0,011 g catequina/100g, respectivamente) (24). El método empleado para la determinación de las antocianinas las cuantifica bajo la forma de cianidina-3-

glucósido (15) y los resultados son comparables a los obtenidos por HPLC (25). Varios estudios (2,7,8,) indican que el tipo de polifenol predominante en el acai son antocianinas, estructuralmente proveniente de taninos condensados, de allí que el contenido de antocianinas esta en el mismo orden que los taninos.

No se observaron diferencias en la capacidad antioxidante de la acai proveniente de las dos cosechas, el porcentaje de inhibición del DPPH fue de 88,03% y 87,82% para la primera y segunda cosecha, respectivamente, valores superiores a lo reportado en lechugas (*Lactuca sativa* L.) de distinta procedencia (entre 74,4% y 84,2%) (26) y similar al reportado para hojas de salvia (*Salvia officinalis*) empleadas para la preparación de infusiones (88,2%) (16). En otro estudio (27) se determinó la capacidad antioxidante en jugos de acai con una concentración de pulpa:agua 1:3 y 1:5 y el porcentaje de inhibición al DPPH fue de 79,3% y 71,8%, respectivamente, valores comparables al obtenido en este estudio para la pulpa del fruto.

La capacidad antioxidante del fruto del acai resultó ser 48,6  $\mu$ mol equivalentes de Trolox cuando se utilizó el método ORAC. Dicha actividad es mucho mayor a la obtenida en frutos ricos en compuestos antioxidantes como fresas (18,3-22,9), moras (13,7-25,1) y cerezas (19,2-22,6) (8). La diversidad de antioxidantes fenólicos presentes en la acai impactan su respuesta como antioxidante, pero hay predominio de las antocianinas, las cuales son la mayormente responsable de dicha actividad (9). Varios autores opinan que el acai pudiera considerarse una potencial fuente industrial de antocianinas (15,28).

La comparación entre los parámetros de color de los frutos de las dos cosechas dio diferencias significativas entre ellos (Tabla 3). Esta determinación se realizó con el fin de determinar la relación entre los valores de a y b y la presencia de pigmentos en el tejido vegetal. Se observó que los parámetros de color variaron significativamente con la cosecha y al tratar de relacionarlos con la presencia de los polifenoles, pigmentos naturales responsables del color del acai, se determinó que la primera cosecha, la cual contiene mayor cantidad de polifenoles, fue la que dio los mayores valores de a y de b.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece el financiamiento al Decanato de Postgrado de la Universidad Simón Bolívar y al FONACIT, Proyecto N° 2001001439: Evaluación de alimentos autóctonos del Edo. Amazonas y Diseño o adaptación de Tecnologías para el desarrollo de productos alimentarios y conservación de alimentos.

## REFERENCIAS

1. Padhila de Oliveira MS, Urano de Carvalho JE, Oliveira do Nascimento WM, Müller CH. Cultivo do Açaizeiro para Produção de Frutos. Circular Técnica, Ministerio de Agricultura, Pecuaria e Abastecimiento (EMBRAPA). Belém 2002.
2. Lichtenthaler R, Rodrigues RB, Maia JG, Papagiannopoulos M, Fabricius H, Marx F. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) fruits. *Int J Food Sci Nutr* 2005; 56(1):53-64.
3. Alexandre D, Cunha RL, Hubinger MD. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. *Ciênc Tecnol Aliment* 2004; 24(1): 114-119.
4. Melo CF, Barbosa WC. Obtainment of dehydrated acai. *Boletim de Pesquisa Centro de Pesquisa Agropecuaria do Tropicó Umido. EMBRAPA-CPATU. Belem PA, Brazil.* 1998.
5. Sangronis E, Otero M, Teixeira P, Guerra M, Hidalgo G. Acaí (*Euterpe Oleracea* Mart.), Batata (*Ipomea batatas*), y Ñame (*Dioscorea spp.*): posibles sustitutos de la harina de trigo. *Arch Latinamer Nutr* 2006;56: 20-24.
6. Bobbio FO, Druzian JI, Abrao PA, Bobbio PA, Fadelli S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart). *Cienc Tecnol Aliment* 2000; 20 (3): 388-390
7. Gallori S, Bilia AR, Bergonzi MC, Barbosa WRL, Vincieri FF. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí palm). *Chromatogr* 2004; 59:739-743.
8. Del Pozo-Insfran D, Brenes CH, Talcott ST. Phytochemical Composition and Pigment Stability of Acaí (*Euterpe oleracea* Mart). *J Agric Food Chem* 2004a; 52:1539-1545.
9. Del Pozo-Insfran D, Percival SS, Talcott ST. Acai (*Euterpe oleracea* Mart) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. *J Food Agric Food Chem* 2004b; 54:1222-1229.
10. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th. Ed. Pub. By A.O.A.C., Washington, DC. 1990.
11. Blau K, Halket JM. Handbook of Derivatives for Chromatography. 2d. ed. John Wiley and Sons. New Jersey. p 15. 1993.
12. Bligh F and Dyer C. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad J Biochem* 1959; 37:911-913.
13. Singleton VL and Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 1965; 16:144-158.
14. Price M and Butler L. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J Agric Food Chem* 1977; 25(6):1268-1273.
15. Wrolstad RE, Durst W and Lee J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends Food Sci Tecnol* 2005; 16:423-428.
16. Wang W, Jiangang L, Rangarajan M, Chao Y, LaVoie J, Huang T, Ho Ch. Antioxidative phenolics compounds from Sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 1998; 46:4869-4873.
17. Franco G. Tabela de composição química de alimentos. Ed. Atheneu. Ed. 9. Rio de Janeiro. 1992. p 307.
18. Ramulu P and Udayasekhara Rao P. Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. *J Food Comp Anal* 2003; 16:677-685.
19. Sangronis E, Rebolledo MA. Fibra dietética soluble, insoluble y total en cereales, productos derivados de su procesamiento y en productos comerciales a base de cereales. *Arch Latinamer Nutr* 1993; 43:258-263.
20. Yuyama LKO, Rosa ED, Aguiar JPL, Nagahama D, Alencar FH, Yuyama K, Cordeiro GWO, Marques HO. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) possuem açaó anémica?. *Acta Amazon* 2002; 32(4):625-633.
21. O'Brien R. Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications. Technomic Pub Co, Inc. Pensilvania, USA. 1998. p. 255-256.
22. Yuyama LKO, Aguiar JPL, Melo T, Barros SE, Filho DN, Yuyama K, Fávoro, DI, Vasconcellos M, Pimentel SA, Badolato ES. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): qual o seu potencial nutricional? 2005. En: [http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais\\_xvii\\_cbf/tecnologia\\_de\\_alimentos/264.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/tecnologia_de_alimentos/264.htm). Fecha de acceso: Abril 2005.
23. Rosas A. Nuevas fuentes de antioxidantes naturales. Ed. por Rosas A, CYTED y MCT. Versión en CD. 2004.
24. Hernández G. Efecto del procesamiento sobre la actividad antioxidante del *Cajanus cajan*. Tesis de grado para optar al título de Licenciado en Química. Universidad Simón Bolívar. Venezuela. 2005.
25. Tosun I, Ustun NS. An investigation about antioxidant capacity of fruit nectars. *Pakis J Nutr* 2003; 2(3):167-169.
26. Liu X, Ardo S, Bunning M, Parry J, Zhou K, Stushnoff C, Stoniker F, Yu L, Kendall P. Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. *Lebens-Wiss U-Technol* 2005: disponible on line. [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)
27. Martelli M. 2004. Caratterizzazione chimica parziale di alcuni prodotti derivati da euterpe olerace, potenzialmente utilizzabili come nutraceuti nonche come derivati base per la strutturazione di prodotti dietetici innovativi o alimenti funzionali. Dipartimento di Scienze Chimiche Alimentari Farmaceutiche e Farmacologiche DISCAFF. Nota I. En: [www.soulfoodsrl.it/pdf/analisiinvara.pdf](http://www.soulfoodsrl.it/pdf/analisiinvara.pdf). Fecha de acceso: Marzo 2005.
28. Souza J. Caractérisation et quantification des anthocyanines du fruti de lâçayer (*Euterpe oleracea*). Mémoire de DEA en Sciences et Technologie ou Aliments. Unive. Catholique de Louvain. Belgique. 2000.

Recibido: 06-11-2006

Aceptado: 12-02-2007