

**Volumen 56. N° 2. Junio 2006**

# ALAN

**A R C H I V O S**

**Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición**

**L A T I N O A M E R I C A N O S**

**Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición**

**D E N U T R I C I O N**



*Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)* es editado como órgano oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), para la divulgación de conocimientos en el campo de la alimentación y de la nutrición principalmente en el Hemisferio Americano. En sus páginas se acogen manuscritos en español, inglés, portugués y francés, tanto de miembros como de aquellos que no sean miembros de la Sociedad, y de cualquiera de las siguientes categorías: 1. Trabajos generales (revisiones científicas críticas); 2. Trabajos de investigación (originales); 3. Trabajos de nutrición aplicada (resultados analíticos de programas de intervención y discusión de recomendaciones de aplicación práctica), y 4. Cartas al Editor (comentarios cortos de interés general o relacionados con resultados o conceptos científicos publicados previamente en *Archivos*).

*Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)* is the official publication of the Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), for the dissemination of knowledge in the fields of food and nutrition, principally throughout the American Hemisphere. Articles in Spanish, English, Portuguese and French are accepted, both from the Society members and from nonmembers, in the following categories: 1. General articles (critical scientific reviews); 2. Research articles (originals); 3. Papers in applied nutrition (analytical results from intervention programs and discussion of recommendations of practical application), and 4. Letters to the Editor (short comments of general interest or about scientific facts and concepts previously published in *Archivos*).



**Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición**

Apartado 62.778. Chacao.  
Caracas 1060. Venezuela, S.A.  
Fax (58.212) 286.00.61

Ubicación en formato digital: <http://www.scielo.org.ve>  
Correo electrónico: alanven04@hotmail.com

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION está registrado en ASEREME e indizado en las siguientes Bases de Datos: LILACS/CD ROM; Food Science & Technology Abstracts; MEDLINE, Life Science Collection; Science Citation Index

## ENTIDADES PATROCINANTES

- ▣ **FONACIT.** Venezuela
- ▣ **Fundación para la Alimentación y Nutrición “José María Bengoa”**  
Caracas, Venezuela
- ▣ **Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)**  
Guatemala, Guatemala C.A.
- ▣ **INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION.** Venezuela
- ▣  América Latina
- ▣ **Fundación POLAR**
- ▣ **Centro de Atención Nutricional Infantil Antimano. CANIA**
- ▣ **ADM Protein Specialties**
- ▣ **Coca-Cola de Venezuela**
- ▣  **Kraft Foods**  
**Kraft Foods Venezuela, C.A.**

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION se complace en destacar y agradecer el apoyo económico recibido del FONACIT para la edición sostenida de la revista.  
Bajo la responsabilidad del Capítulo Venezolano de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición.

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la  
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

---

VOL 56

JUNIO 2006

Nº 2

---

## Contenido

Páginas

### ARTICULOS GENERALES

#### El fruto de la acerola: composición, características productivas e importancia económica

Tatiana Mezdri, M<sup>a</sup> Soledad Fernández-Pachón, Débora Villaño, M<sup>a</sup> Carmen García-Parrilla, Ana M Troncoso .. 101

#### Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino y valoración de sus efectos *in vivo*

M<sup>a</sup> Soledad Fernández-Pachón, Débora Villaño, Ana M<sup>a</sup> Troncoso y M<sup>a</sup> Carmen García-Parrilla ..... 110

#### Ácido linoléico conjugado (CLA) e sua relação com a doença cardiovascular e os fatores de risco associados

Letícia Groff Funck, Daniel Barrera-Arellano y Jane Mara Block ..... 123

### TRABAJOS DE INVESTIGACION

#### Nutrición Humana

#### Vitamina B<sub>12</sub> y folato en adultos mayores urbanos no institucionalizados

Abraham Ramírez Pereda, Bertha I. Pacheco, Humberto Astiazarán-García, Julián Esparza-Romero y Heliodoro Alemán-Mateo ..... 135

#### Bioquímica Nutricional

#### Índice de Masa Corporal al comienzo del embarazo en un grupo de gestantes venezolanas de bajo estrato socioeconómico y su relación con la antropometría de sus recién nacidos

Armando Sánchez Jaeger, Sara Irene Del Real Vargas, Liseti Solano Rodríguez, Evelyn Peña Perdomo y María Adela Barón..... 141

<b>Efeito de um novo produto fermentado de soja, enriquecido com isoflavonas e cálcio, sobre o tecido ósseo de ratas</b>	
Raquel Bedani, Elizeu Antonio Rossi, José Salvador Lepera, Charles Chenwei Wang, Graciela Font de Valdez .....	146
<b>Nutrición y Salud Pública</b>	
<b>Contribuição da semiologia para o diagnóstico nutricional de pacientes hospitalizados</b>	
Marcia Naim Nehme, Maria Eugenia Vieira Martins, Vanessa Lourenço Chaia y Eliane Moreira Vaz .....	153
<b>Edad de la menarquia en adolescentes del noroeste de México</b>	
Rosa Olivia Méndez Estrada, Mauro E. Valencia y Juana María Meléndez Torres .....	160
<b>Nutrición y Obesidad</b>	
<b>Patrones alimentarios y su relación con sobrepeso y obesidad en niñas chilenas de nivel socioeconómico medio alto</b>	
Lydia Lera Marqués, Sonia Olivares Cortés, Bárbara Leyton Dinamarca, Nelly Bustos Zapata .....	165
<b>Microbiología de Alimentos</b>	
<b>Comparación del perfil de sensibilidad a antibióticos de cepas de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i> spp. aisladas a partir de alimentos con cepas de origen clínico</b>	
Juan Manuel Zamora, Carolina Chaves y María Laura Arias .....	171
<b>Ciencia de Alimentos</b>	
<b>Efecto de diversos tratamientos en la cocción del frijol <i>Mucuna</i> sobre el contenido de L-Dopa</b>	
Carmen Luz García Echeverría y Ricardo Bressani.....	175
<b>Tecnología de Alimentos</b>	
<b>Desarrollo de una formulación optimizada de mousse de linaza (<i>Linum usitatissimum</i>)</b>	
Mario Villarroel, Lucía Pino, Julia Hazbún.....	185
<b>FE DE ERRATAS</b> .....	192
<b>INFORMACION PARA LOS AUTORES</b> .....	193

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the  
Latin American Society of Nutrition

---

VOL 56

JUNE 2006

Nº 2

---

## Contents

	Pages
<b>GENERAL ARTICLES</b>	
<b>The acerola fruit: composition, productive characteristics and economic importance</b> Tatiana Mezadri, M <sup>a</sup> Soledad Fernández-Pachón, Débora Villaño, M <sup>a</sup> Carmen García-Parrilla, Ana M Troncoso ...	101
<b>Review of the different methods for the evaluation of the <i>in vitro</i> antioxidant activity of wine and study of <i>in vivo</i> effects</b> M <sup>a</sup> Soledad Fernández-Pachón, Débora Villaño, Ana M <sup>a</sup> Troncoso and M <sup>a</sup> Carmen García-Parrilla .....	110
<b>Conjugated linoleic acid (CLA) and its relationship with cardiovascular disease and associated risk factors</b> Leticia Groff Funck, Daniel Barrera-Arellano and Jane Mara Block .....	123
<b>RESEARCH PAPERS</b>	
<b>Human Nutrition</b>	
<b>Vitamin B<sub>12</sub> and folate in non-institutionalized urban older people</b> Abraham Ramírez Pereda, Bertha I. Pacheco, Humberto Astiazarán-García, Julián Esparza-Romero and Heliodoro Alemán-Mateo .....	135
<b>Nutritional Biochemistry</b>	
<b>Body Mass Index in a group of Venezuelan pregnant women and its relationship with the newborns' anthropometry</b> Armando Sánchez Jaeger, Sara Irene Del Real Vargas, Liseti Solano Rodríguez, Evelyn Peña Perdomo and María Adela Barón .....	141

<b>Effect of a novel soy fermented product enriched with isoflavones and calcium on bone tissue of rats</b> Raquel Bedani, Elizeu Antonio Rossi, José Salvador Lepera, Charles Chenwei Wang, Graciela Font de Valdez ....	146
<b>Public Health Nutrition</b>	
<b>Contribuição da semiologia para o diagnóstico nutricional de pacientes hospitalizados</b> Marcia Naim Nehme, Maria Eugenia Vieira Martins, Vanessa Lourenço Chaia and Eliane Moreira Vaz .....	153
<b>The menarche age in teenagers of the Northwest of Mexico</b> Rosa Olivia Méndez Estrada, Mauro E. Valencia and Juana María Meléndez Torres .....	160
<b>Nutrition and Obesity</b>	
<b>Dietary patterns and its relation with overweight and obesity in Chilean girls of medium-high socioeconomic level</b> Lydia Lera Marqués, Sonia Olivares Cortés, Bárbara Leyton Dinamarca, Nelly Bustos Zapata .....	165
<b>Food Microbiology</b>	
<b>Comparison of the antibiotics sensibility pattern of <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Salmonella</i> spp. strains isolated from food with clinical origin samples</b> Juan Manuel Zamora, Carolina Chaves and María Laura Arias.....	171
<b>Food Science</b>	
<b>Effect of different cooking treatments of <i>Mucuna</i> beans on its L-Dopa content</b> Carmen Luz García Echeverría and Ricardo Bressani.....	175
<b>Food Technology</b>	
<b>Development of an optimized formulation of flaxseed (<i>Linum usitatissimum</i>) mousse</b> Mario Villarroel, Lucía Pino, Julia Hazbún.....	185
<b>ERRATA .....</b>	192
<b>INFORMATION FOR AUTHORS .....</b>	193

## El fruto de la acerola: composición, características productivas e importancia económica

Tatiana Mezadri, M<sup>a</sup> Soledad Fernández-Pachón, Débora Villaño, M<sup>a</sup> Carmen García-Parrilla, Ana M Troncoso

Universidade do Vale do Itajaí, Rua Uruguai, Itajaí, Santa Catarina, Brazil. Area Nutrición y Bromatología.  
Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Sevilla España.

**RESUMEN.** La acerola (*Malpighia emarginata* Sessé y Mociño ex DC) es una especie arbustiva que se desarrolla en zonas de climas tropical y subtropical. Su origen se centra en el sur de México, América Central y zona septentrional de Sudamérica. Su denominación se adoptó en 1986 por el Consejo Internacional de Recursos Genéticos Vegetales. La *Malpighia emarginata* presenta un fruto subglobuloso en forma de drupa, el cual posee tres semillas que representan entre el 19 y el 25% del peso total. El diámetro del fruto varía de 1 a 4 cm y el peso de 2 a 15 g. Presenta una coloración verde cuando está en desarrollo, cambiando a tonos amarillos y rojos cuando está maduro. Cada planta produce cerca de 20 a 30 kg de frutos anualmente. La fruta de acerola proporciona macro y micronutrientes: proteínas (0,21-0,80 g/100 g), grasas (0,23-0,80 g/100 g), y carbohidratos (3,6-7,8 g/100 g), sales minerales (hierro 0,24, calcio 11,7 y fósforo 17,1 mg/100g) y vitaminas (tiamina 0,02, riboflavina 0,07 y piridoxina 8,7 mg/100 g). Hay que destacar su elevado contenido en vitamina C (695 a 4827 mg/100 g), el cual ha inducido un gran consumo de esta fruta en los últimos años, de ahí su importante valor económico. La acerola también presenta carotenoides y bioflavonoides, que le otorgan gran valor nutritivo y su uso potencial como antioxidante. Brasil, por su clima y suelo favorables, es el principal productor mundial de acerola, que comercializa en forma de zumos, mermeladas, helados, compotas, gelatinas, confituras, dulces y licores. Para la realización de esta revisión bibliográfica se han consultado bases de datos internacionales (Scifinder Scholar y Medline) y artículos originales que han sido localizados y proveídos principalmente por los Recursos Electrónicos de la Biblioteca de la Universidad de Sevilla y la Universidad do Vale do Itajaí (Santa Catarina, Brazil).

**Palabras clave:** Acerola, *Malpighia emarginata*, taxonomía, vitamina C, antocianos, carotenoides, aspectos económicos, mercado.

### INTRODUCCION

La acerola (*Malpighia emarginata* Sessé y Mociño ex DC., Prodr. 1:578; 1824) es una planta originaria del sur de México, de América Central y de la zona septentrional de Sudamérica. Su difusión tuvo lugar mucho antes del descubrimiento de

**SUMMARY.** The acerola fruit: composition, productive characteristics and economic importance. The acerola (*Malpighia emarginata* Sessé y Mociño ex DC) is a wild plant grown in zones of tropical and subtropical climate. Acerola is origin from South of Mexico, Central America and Septentrional area of South America. Its scientific name was adopted in 1986 by the International Council of Vegetable Genetic Resources. *Malpighia emarginata* has a subglobulose drupa fruit with three seeds which account between the 19 - 25% of the total weight. The diameter and weight of the fruit varies between 1 - 4 cm and 2 - 15 g, respectively. The fruit shows green color when it is developing, which changes to yellow and red tones when it is mature. Each plant produces annually 20 - 30 kg of fruits. This fruit contents macro and micronutrients: proteins (0,21-0,80 g/100 g), fats (0,23-0,80 g/100 g), carbohydrates (3,6-7,80 g/100 g), mineral salts (iron 0,24, calcium 11,7, phosphorus 17,1 mg/100g) and vitamins (thiamine 0,02, riboflavine 0,07, piridoxine 8,7 mg/100 g). Its high content in vitamin C (695 a 4827 mg/100 g) is remarkable, therefore acerola has an increasing economic value by its great consume during last years. Acerola also presents carotenoids and bioflavonoids which provide important nutritive value and its potential use as antioxidant. Brazil has a climate and soil appropriate for the culture of acerola, thus this country is the main mundial producer. Acerola is commercialised as juices, jams, ices, gelatins, sweets or liquors. Bibliographical data have been mainly supplied by Electronic Resources of the University of Sevilla and the University do Vale do Itajaí (Santa Catarina, Brazil).

**Key words:** Acerola, *Malpighia emarginata*, taxonomy, vitamin C, anthocyanins, carotenoids, economic aspects, market.

América, los nativos de las islas de América Central, además de consumir la acerola, la transportaban en sus viajes y migraciones diseminándola así de isla en isla (1). La coloración atrayente de sus frutos y su extensa utilización en la alimentación de los nativos, llamaron la atención de los españoles que, debido a la semejanza morfológica con la cereza europea, la denominaron "Cereza de Las Indias Occidentales" (West Indian Cherry). La acerola ha recibido distintos nombres populares dependiendo del país en donde se cultiva: cereza de Barbados, cereza de las Antillas, cereza colorada, manche o semeruco.

Financiación recibida del Ministerio de Ciencia y Tecnología del Estado Español (Proyectos de Investigación 2001-2368, 2001-2396 y 2004-1399) y de la Junta de la Comunidad Autónoma Andaluza (España) (2003-AGR 167).

Pliny Reasoner introdujo la *Malpighia emarginata* en Florida (EEUU) en 1880 como planta ornamental por su denso follaje, sin embargo, sus frutos no se reconocieron como comestibles hasta 1903 (2).

La importancia de la acerola se ha relacionado con su carácter nutricional, representado por su elevado contenido en vitamina C, que motiva una creciente demanda por parte del consumidor (3). Su papel como antioxidante ha tenido especial relevancia en los últimos años, debido a que la mayoría de enfermedades cardiovasculares tienen su origen en el stress oxidativo producido por especies reactivas de oxígeno (ROS) (4-6). La vitamina C se considera uno de los más potentes y menos tóxico antioxidante natural (7-8).

El consumo de frutas y verduras en general se ha relacionado de forma inversa y proporcional con el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, crónicas y degenerativas. Además de las vitaminas, los alimentos de origen vegetal contienen compuestos fenólicos, que son sustancias orgánicas no nutrientes cuya estructura química es propicia para secuestrar radicales libres. La actividad antioxidante que presentan estos compuestos se debe fundamentalmente a la facilidad con la que un átomo de hidrógeno desde un grupo hidroxilo aromático puede ser donado a la especie radical, y a la habilidad de la estructura fenólica para soportar un electrón desapareado (9).

Distintos estudios han abordado la caracterización de este fruto en cuanto a composición fenólica (10-11), carotenoides (12-15), aromas (16) así como el análisis de su actividad antioxidante total (17-18). Otras frutas han sido evaluadas con mayor extensión en este sentido (19-23).

Debido por tanto al contenido vitamínico de la acerola y a su posible papel como ingrediente antioxidante, resulta de gran importancia económica detectar y seleccionar variedades de acerola cuyo genotipo reúna en gran medida características de alto valor hortícola y nutricional, convertibles así en clones comerciales (3, 24-27). Las variedades que alcancen un crecimiento y maduración más elevados, con mayores picos de producción al año, y que presenten asimismo un contenido de compuestos bioactivos adecuado tendrán mayor relevancia para el mercado y los consumidores (2, 3, 24, 25, 27, 28).

Este trabajo pretende caracterizar el fruto de la acerola, resaltando sus características vegetativas y su composición, y relacionando éstas con su papel como producto saludable y como ingrediente alimentario en vistas a la producción de alimentos funcionales.

#### Aspectos botánicos y taxonómicos de la acerola

Asenjo (29) señala que el nombre «acerola» proviene del nombre del fruto de *Crataegus azarolus* L., un arbusto de la familia de las Rosáceas originario de la parte oriental de la cuenca del Mediterráneo (Creta) y cultivado en los países del sur de Europa, entre ellos España.

En 1535 Oviedo hizo la primera referencia sobre *Malpighia emarginata* cuando describió el «semeruco» como un pequeño árbol de frutos delicados y sabrosos parecidos a la cereza europea (*Prunus cerasus* L.), pero que, a diferencia de ésta, contenía dos o tres semillas (30). En 1696 Sloane, desconociendo el trabajo de Oviedo, empleó la denominación «cereza de Suriname» o «pitanga», sin embargo, este último nombre coincide con el de los frutos de *Eugenia uniflora* L., un arbusto de la familia de las Mirtáceas (30). En 1703 Charles Plumier, en su obra "*Nova Plantarum Americanarum Genera*", agrupó cinco especies de árboles y arbustos en un género al que denominó *Malpighia* (en honor del naturalista italiano Marcello Malpighi), dando «nombres frase» a cinco especies (31). En 1753 Linneo publicó "*Species Plantarum*", obra que se considera el punto de partida en la clasificación binomial de las especies. Basándose en el trabajo de Plumier, Linneo describe en su libro como especie tipo del género a *Malpighia glabra*, frecuentemente confundida con *Malpighia emarginata*. En la segunda edición de la obra, Linneo reconoce como nueva especie del género a *Malpighia puniceifolia* (32).

El status taxonómico de *Malpighia emarginata* ha sido objeto de controversias: Algunos botánicos distinguen la «Barbados cherry» (*Malpighia glabra*) de la «West Indian Cherry» (*Malpighia puniceifolia*). Otros sugieren que *Malpighia emarginata* podría tratarse de una especie híbrida entre *Malpighia glabra* y *Malpighia puniceifolia*. También se ha considerado a *Malpighia glabra* como una variedad de cultivo de *Malpighia puniceifolia*. En 1979 Vivaldi (33) considera sinónimas las denominaciones *Malpighia glabra* y *Malpighia puniceifolia* (*Malpighia glabra* L.). Para este autor *Malpighia emarginata* aparece por primera vez en la literatura botánica en el volumen I (1824) de la obra de A. P. De Candolle (DC.) "*Prodomus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*", donde es reconocida formalmente la especie a partir de los datos de Martín Sessé y José Mariano Mociño tras su expedición por América Central. La denominación de esta especie como *Malpighia emarginata* Sessé y Mociño ex DC. se adoptó definitivamente en 1986 en el Consejo Internacional de Recursos Genéticos Vegetales (34).

#### Características vegetativas de la acerola

*Malpighia emarginata* es una especie arbustiva que se desarrolla en zonas de climas tropical y subtropical. Mide de 2 a 5 m de altura, con un tallo tortuoso, corteza rugosa, madera blanca y ligera. Presenta un fruto subglobuloso en forma de drupa, de superficie lisa o sensiblemente trilobada, que se dispone apartada o en panículas de dos o tres en axilas foliares, con pedúnculos cortos y posee tres semillas que representan entre el 19% y el 25% del peso total. El tamaño del fruto varía de 1 a 2,5 cm, el diámetro de 1 a 4 cm y el peso de 2 a 15 g. Presenta una coloración verde cuando está en desarrollo,

cambiando a tonos amarillos y rojos cuando está maduro (34).

La especie se caracteriza por presentar un crecimiento que varía entre semiprostrado a erecto y de compacto a abierto, con ramas largas sobre las cuales se disponen lateralmente ramas de entrenudos cortos. Las inflorescencias son pedunculadas y se originan en las axilas foliares inferiores de las ramas del último crecimiento y en las ramas laterales cortas (2,33,27).

La actividad metabólica de la acerola es intensa, y su maduración ocurre en corto espacio de tiempo, por lo que no se necesita de ningún agente activador para que la fruta esté en condiciones ideales para el consumo (35). En el proceso de maduración están implicadas una serie de reacciones bioquímicas complejas tales como: hidrólisis del almidón, conversión de cloroplastos en cromoplastos con transformación de clorofila, descenso de acidez, aumento de azúcares reductores, producción de carotenoides, antocianinas, fenoles y formación de compuestos volátiles (36,37). Todas estas reacciones son importantes para finalizar la maduración de la fruta y para caracterizar su sabor peculiar.

Las acerolas maduras mantenidas a temperatura ambiente se deterioran en 4 - 5 días y las verdes y semi-maduras en 6 - 7 días (38). Las alteraciones asociadas con la maduración están relacionadas con el estadio en que se encuentren los frutos.

La producción comienza a los 1-2,5 años después de plantado y su período de fructificación es de 3 a 4 veces al año. Cada planta produce cerca de 20 a 30 kg de frutos anualmente (39). En Puerto Rico, Simão (40) constató hasta siete picos de producción por año. En algunas regiones del noreste brasileño, que presentan alta disponibilidad de luz y buena irrigación, las plantas comienzan a dar frutos en menos de un año y producen prácticamente todo el año (3).

### Composición de la acerola

En la Tabla 1 se detallan los distintos componentes de la fruta de acerola, así como el intervalo de concentración encontrado para los mismos. Cabe destacar su elevado contenido en vitamina C.

El fruto contiene también carotenoides y bioflavonoides, de ahí su gran valor nutritivo y su uso potencial como antioxidante (48). La Tabla 2 recoge los datos de concentración determinados para estos compuestos.

La composición de los frutos y de sus productos depende de algunos factores como las condiciones climáticas (lluvias, disponibilidad de nutrientes del suelo, variación de la temperatura), el tratamiento del cultivo, la localización geográfica, la aplicación de pesticidas, el estadio de la maduración o el procesado y almacenamiento.

Tabla 1  
Composición nutritiva del fruto de acerola

	Contenido por 100g
Proteínas	0,21 <sup>(41)</sup> - 0,6 <sup>(42)</sup> - 0,8 <sup>(42)</sup> g
Grasas	0,23 <sup>(41)</sup> - 0,5 <sup>(42)</sup> - 0,8 <sup>(42)</sup> g
Carbohidratos	3,57 <sup>(41)</sup> - 6,3 <sup>(42)</sup> - 7,8 <sup>(42)</sup> g
Hierro	0,24 mg <sup>(41)</sup>
Calcio	11,7 mg <sup>(41)</sup>
Fósforo	17,1 mg <sup>(41)</sup>
Tiamina	0,02 mg <sup>(41)</sup>
Rivoflavina	0,07 mg <sup>(41)</sup>
Piridoxina	8,7 mg <sup>(41)</sup>
Vitamina C	695 - 4827 mg <sup>(43-44)</sup> 470 - 1655 mg <sup>(45)</sup> 1,79 g <sup>(46)</sup> 885 mg <sup>(18)</sup>
Agua	90,6 <sup>(42)</sup> - 92 <sup>(42)</sup> g
Cenizas	0,4 g <sup>(42)</sup>
Fibra dietética	3 g <sup>(42)</sup>
Energía	17 <sup>(41)</sup> - 27 <sup>(42)</sup> Kcal
Acidez valorable	1,04 - 1,87 g ácido málico <sup>(47)</sup>

Tabla 2  
Compuestos no nutrientes del fruto de acerola

	Contenido por 100g
Carotenoides totales	0,32 - 40,6 mg <sup>(14)</sup>
β-Caroteno	0,5 - 1,2 mg <sup>(49)</sup>
	441 - 1269 mg <sup>(12)</sup>
α-Caroteno	1,6 - 3,6 mg <sup>(12)</sup>
Luteína	0,1 - 0,2 mg <sup>(49)</sup>
Fenoles totales	861 mg <sup>(18)</sup>
	536 - 4524 mg <sup>(14)</sup>
	140 - 1150 mg <sup>(50)</sup>
Antocianinas	3,79 - 59,74 mg <sup>(51)</sup>
	3,81 - 47,4 mg <sup>(47)</sup>
	2,7-5,23 mg <sup>(50)</sup>
Flavonoles	7-18,5 mg <sup>(47)</sup>

La variabilidad encontrada en los valores de vitamina C por distintos autores puede estar relacionada con el grado de madurez de los frutos. Durante la maduración se produce un descenso en el contenido de vitamina C. Los frutos verdes presentan mayor contenido en vitamina C que los maduros (52). Butt (53) atribuyó este descenso a la acción de la enzima ácido ascórbico oxidasa (ascorbato oxidasa), y comprobó que la actividad de esta enzima en los frutos maduros es superior que en los verdes. Las técnicas de procesado y almacenamiento también afectan el contenido de ácido ascórbico de la acerola (54).

Los frutos sufren una pérdida de agua acompañada de un descenso de hasta un 25,2% en su contenido de ácido ascórbico después de ser recolectados y expuestos directamente al sol durante 8 horas (55). Sin embargo, la radiación solar, que aumenta la actividad fotosintética de la acerola durante la fase de crecimiento, incrementa el nivel de azúcares en los tejidos de la planta y, como consecuencia, de ácido ascórbico, puesto que éste se sintetiza a partir de las hexosas. Por ello, cuanto mayor es la incidencia de la radiación solar a lo largo del ciclo de la planta, mayor es el contenido de vitamina C de los frutos.

En la Tabla 3 se muestran valores de vitamina C de otras frutas (los datos corresponden a Tablas de Composición de Alimentos españolas y de América Latina). Como se puede observar, la acerola presenta el mayor contenido en vitamina C. El fruto de *Myrciaria dubia* (camu-camu), que se cultiva en la región Amazónica de Perú y Brasil, presenta un mayor contenido de esta vitamina.

Mezadri, et al. (13) identificaron 17 pigmentos carotenoides en el fruto de acerola: neoxantina, isómero de neoxantina, neocromo, isómero de neocromo, violaxantina, isómero de violaxantina, luteoxantina, auroxantina, anteraxantina, mutatoxantina, luteína, cis-luteína,  $\beta$ -criptoxantina 5-8-epóxido y 5-6-epóxido,  $\beta$ -criptoxantina,  $\beta$ -caroteno y cis- $\beta$ -caroteno. Resultados similares se describen en otros estudios (15, 58-60). Entre los carotenoides identificados, el  $\beta$ -caroteno destaca por su alto contenido (40 - 60% de los carotenoides totales). En el zumo se han encontrado valores de hasta un 75% de  $\beta$ -caroteno. Otros carotenoides como neoxantina, neocromo, luteoxantina, auroxantina, anteraxantina, mutatoxantina, cis-luteína, cis- $\beta$ -caroteno, criptoxantina-5,6-epóxido y criptoxantina-5,8-epóxido se encuentran en menor cantidad, en algunos casos no excede el 5% del contenido total de carotenoides. El perfil de estos pigmentos guarda relación con la presencia de cloroplastos, que se transforman en cromoplastos durante la maduración.

La composición en carotenoide resulta influenciada por la temperatura de la zona de cultivo, se han descrito valores bajos de  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina y  $\alpha$ -caroteno en regiones frías del estado de São Paulo (Brasil), en comparación con los valores encontrados en frutas cultivadas en áreas templadas de Pernambuco (60).

El estado de maduración también influye en la concentración de algunos carotenoides. Las frutas maduras presentaron un contenido de  $\beta$ -caroteno de 12  $\mu\text{g/g}$ . En frutas parcialmente maduras el valor fue inferior (5  $\mu\text{g/g}$ ). En cambio, la concentración de luteína fue en éstas últimas ligeramente mayor (2  $\mu\text{g/g}$ ) que en las maduras (1  $\mu\text{g/g}$ ) (49).

Tabla 3  
Contenido en vitamina C de distintas frutas

	mg/100 mL o 100 g de porción comestible	
	América latina <sup>(42)</sup>	España <sup>(56)</sup>
<i>Fragaria vesca</i>	42,0 - 60,0	64,0
<i>Persea americana</i>	8,0 - 14,0	13,0
<i>Prunus avium</i> 1	5,6 - 700	15,0
<i>Prunus domestica</i>	4,2 - 36,8	5,8
<i>Cocos nucifera</i>	0,9	0,0
<i>Annona cherimola</i>	3,3 - 19,0	15,0
<i>Ficus carica</i>	0,6 - 15,0	2,7
<i>Diospyros kaki</i>	6,9 - 13,1	16,0
<i>Actinidia chinensis</i>	95,8 - 98,0	71,0
<i>Citrus limonum</i>	37,0 - 77,0	53,0
<i>Citrus reticulata</i>	24,0 - 72,0	30,0
<i>Mangifera indica</i>	19,0 - 80,0	27,7
<i>Malus pumila</i>	1,3 - 11,0	12,0
<i>Cucumis melo</i>	42,0 - 74,0	32,0
<i>Cydonia oblonga</i>	11,0 - 15,0	13,0
<i>Hierba mora</i>	2,4 - 205	17,0
<i>Citrus aurantium</i>	48,0 - 92,3	50,0
<i>Prunus pérsica</i>	5,0	10,5
<i>Eriobotrya japonica</i>	1,0 - 1,2	10,0
<i>Pyrus communis</i>	4,0 - 7,0	4,6
<i>Ananas comosus</i>	10,0 - 19,9	19,0
<i>Citrus grandis</i>	61,0	44,0
<i>Citrullus lanatus</i>	5,0 - 10,0	6,0
<i>Vitis vinifera</i>	4,0 - 11,0	4,2
<i>Myrciaria dúbia</i>	4000 <sup>(57)</sup>	
<i>Malpighia emarginata</i>	695 - 4827 <sup>(43-44)</sup>	
	470 - 1655 <sup>(45)</sup>	
	885 <sup>(18)</sup>	
	1790 <sup>(46)</sup>	
Zumo de <i>Malpighia emarginata</i>	43 - 1797 <sup>(50)</sup>	
	1247 - 1845 <sup>(47)</sup>	

Por otra parte, la variedad genotípica de la fruta determina también la composición carotenoide. El genotipo Olivier presentó un contenido significativamente mayor de carotenoides totales que el genotipo Waldy cati, ambos cultivados en la misma región del estado de São Paulo (Brasil). Esta diferencia se debió a la mayor concentración de los carotenoides principales (excepto la luteína) en Olivier ([ $\beta$ -caroteno] = 1269,4  $\mu\text{g/g}$ ; [ $\alpha$ -caroteno] = 36,7  $\mu\text{g/g}$ ) con respecto a Waldy cati ([ $\beta$ -caroteno] = 441,5  $\mu\text{g/g}$ ; [ $\alpha$ -caroteno] = 16  $\mu\text{g/g}$ ) (12). También se comprobó para las dos variedades genotípicas anteriores que las plantas sometidas a una mayor exposición lumínica, generan una mayor concentración de carotenoides, principalmente  $\beta$ -caroteno (12).

Actualmente existe una escasa información sobre la caracterización de los compuestos fenólicos de la acerola. El contenido fenólico total sí se ha analizado con frecuencia. En

la Tabla 2 se muestran los valores de contenido fenólico total descritos por distintos autores. La amplitud del intervalo obtenido se debe a la influencia de la variedad genotípica de la muestra (14).

La cantidad de fenoles totales varía según el grado de madurez de la fruta, el fruto de acerola madura presentó un valor de 1,35 mg/g; el contenido fenólico del zumo de acerola inmadura presentó un valor superior (9,2 mg/g) (17). Factores externos como luz y temperatura también influyen en el contenido de compuestos fenólicos totales (61).

En cuanto al perfil fenólico de la acerola, Hanamura et al. identificaron dos antocianinas, cianidin-3- $\alpha$ -*O*-ramnósido (C3R) y pelargonidin-3- $\alpha$ -*O*-ramnósido (P3R), y quercetin-3- $\alpha$ -*O*-ramnósido (quercitrina). Vendramini y Trugo (11) identificaron los siguientes compuestos en el fruto: ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido clorogénico, kaempferol y quercetina. Riguetto et al. (17) determinó la presencia de catequina, ácido gálico, ácido cumárico, ácido siríngico, ácido cafeico y ácido ferúlico en zumos de acerola inmadura. Mezadri (50) identificó los compuestos furfural, procianidina B1, ácido clorogénico, galato de (-)-epigallocatequina, (-)-epicatequina y rutina.

Con respecto a los antocianos totales, en la Tabla 2 se indican los valores de concentración obtenidos por diversos autores. Estos valores son menores que los detectados en otros zumos de frutas como el de *Fragaria vesca* (55,7 mg/100 mL) (62) y el de *Coriandrum sativum* (12,8 – 21,7 mg/100 mL) (63). Price y Wrolstad (64) midieron cantidades excepcionales de antocianos en el zumo de una variedad de *Theristicus caudatus* denominada "Royal Okanogan Huckleberry" (530 mg/100 mL).

Vendramini y Trugo (11) identificaron en la piel de la acerola los antocianos malvidina 3,5-diglicosilada, cianidina 3-glicosilada y pelargonidina, con un contenido total de 37,5 mg/100 g. Estos autores proponen que la piel puede ser utilizada como fuente de pigmento natural.

Los antocianos, como muchos otros pigmentos naturales, son inestables frente a las variaciones de diversos factores como la temperatura, el oxígeno, el pH, la interacción con otros componentes del alimento. Generalmente, son más estables en condiciones ácidas. Cuando se degradan, la fruta sufre una pérdida de color, seguida de la formación de color marrón y de productos insolubles (65-66).

Los compuestos responsables del aroma del fruto han sido aislados e identificados por cromatografía de gases y espectrometría de masas. Entre los 46 compuestos correspondientes a la fracción volátil, los alcoholes (3-metil-3-butenol, 3-metil-1-butenol y 2-metil-1-butenol) son los predominantes. Compuestos aromáticos y ésteres participan también en el aroma de la fruta. Entre las 42 agliconas identificadas por primera vez, los alcoholes y los norisoprenoides alifáticos son los componentes principales. La hidrólisis de estas agliconas

puede aumentar el aroma de la acerola (67).

#### Usos, producción y aspectos económicos de la acerola

La fruta puede consumirse fresca, aunque por la acidez de la pulpa no resulta la forma más frecuente de consumo. Así, generalmente se elaboran zumos, mermeladas, helados, compotas, gelatinas, confituras, dulces y licores. En Sudamérica es comúnmente empleada como saborizante en helados, bebidas y cócteles. En la industria se utiliza también en muchas vitaminas comerciales, para la elaboración de concentrados, en nutracéuticos, principalmente por su contenido en vitamina C y como fortificador del ácido ascórbico en otros zumos de frutas pobres en esta vitamina. Matsuura y Rolim (68), aumentaron cinco veces la cantidad de vitamina C del zumo de piña añadiendo un 5 - 10% de zumo de acerola, preservando además las características sensoriales del zumo de piña original.

Estudios recientes han demostrado que la acerola presenta actividad antioxidante basada en su capacidad de secuestrar radicales libres (69-70), siendo así adecuada para la prevención de enfermedades relacionadas con la edad, tales como hipertensión (71-72), distintos tipos de cáncer (73-75), arteriosclerosis e infarto de miocardio (71).

Extractos de acerola presentaron valores de actividad antioxidante elevada mediante su evaluación por los siguientes métodos de medida: ensayo basado en la inhibición de la peroxidación inducida por cobre en liposomas, y ensayo basado en la inhibición de la co-oxidación de ácido linoleico y  $\beta$ -caroteno (18).

Los compuestos cianidin-3- $\alpha$ -*O*-ramnósido, pelargonidina-3- $\alpha$ -*O*-ramnósido y quercetin-3- $\alpha$ -*O*-ramnósido, identificados en extractos de acerola, presentaron actividad antioxidante *in vitro* relacionada con su capacidad secuestradora del radical  $O_2^{\cdot-}$  y su efecto inhibitorio de  $\alpha$ -glucosidasa y de formación de derivados avanzados de glicosilación, ambos parámetros indican que la acerola es beneficiosa para prevenir la diabetes mellitus (10). Zumos de acerola mostraron actividad antioxidante medida como inhibición de la oxidación de linoleato de metilo (17).

En relación con otros alimentos, los valores de actividad antioxidante obtenidos con el método ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) para la pulpa y el zumo de acerola (valor medio de 57,8 mM) (50) son superiores a los obtenidos con el mismo método en otros zumos o productos vegetales como naranja (5,8 mM) (76), gazpacho (1,2 mM), arándanos (38,3 mM) y zarzamora (26,5 mM) (77). Los valores de actividad antioxidante obtenidos con el método DPPH

(2,2-difenil-1-picrilhidrazil) para las mismas muestras de acerola (74,3 mM) (50) fueron mayores que los encontrados para el vino (6-8 mM) (78-79), infusiones de té verde (8,3 mM) (80) y granada (28 mM) (81). Los valores de actividad antioxidante obtenidos con el método ORAC (Capacidad de

Absorbancia de Radicales de Oxígeno) en dichas muestras (51,2 mM) (50) fueron también superiores a los obtenidos con el mismo método para coliflor (17.7 mM), fresa (15.4 mM) y espinaca (12.6 mM) (82), y similares a los valores de arándanos (83).

El crecimiento relativamente rápido de la acerola, su producción de varias cosechas al año y su elevada concentración en vitamina C, así como su contenido en carotenoides y antocianinas, ha propiciado un sensible incremento de su consumo en los últimos años despertando un gran interés económico sobre el cultivo de esta planta (3).

Actualmente Brasil es el principal productor mundial de esta fruta, que comercializa en forma de pulpa y frutos congelados. En 1996 produjo 32.990 toneladas de acerola (84). La región brasileña de mayor producción corresponde al sureste, seguido de la región noreste y norte, ambas caracterizadas por grandes áreas de cultivo vinculadas a agro-industrias. Por último, la región sur está formada por pequeñas propiedades, pero con un gran potencial de mercado (52). Otras plantaciones comerciales importantes se localizan en Puerto Rico, Florida y Hawai (39, 85).

El interés comercial que presenta el cultivo de acerola a escala industrial, se explica por el aumento del consumo interno y de la demanda externa. Esto ha favorecido la aparición de pequeños productores que cuentan con una plantación de fácil cultivo, contribuyendo al desarrollo de regiones más desfavorecidas de Sudamérica y fomentando el empleo agrario.

Uno de los principales problemas al que se enfrentan los productores de acerola es la gran sensibilidad de los frutos maduros después de su recolección y durante el proceso de comercialización. La rapidez en su maduración hace frágil la piel de la acerola, por lo que cualquier daño mecánico provoca su ruptura con facilidad iniciándose la fermentación de la pulpa. Para evitar estos inconvenientes se exigen cuidados especiales de recolección y almacenamiento que, por otra parte, encarecen y dificultan la explotación comercial (86-87).

Entre los compradores externos de la acerola brasileña destaca el mercado japonés, seguido de Estados Unidos y Europa. En Japón, la acerola es procesada y utilizada para la fabricación de suplementos vitamínicos y para la fortificación de otros zumos. En Europa, concretamente en Alemania, Francia, Bélgica y Hungría, la acerola se emplea básicamente para enriquecer zumos. En Estados Unidos su utilización principal es como complemento vitamínico en la industria farmacéutica. Otro mercado prometedor es el de América Latina, principalmente Argentina, Chile y Uruguay. Argentina, por ejemplo, es un gran comprador de zumos de acerola (88).

La producción de acerola presenta una gran variabilidad en cuanto a la composición y características vegetativas de los frutos. Esta planta todavía no posee variedades homogéneas (89). Las plantas de acerola muestran una gran variabilidad genética como consecuencia de la extensa propagación de sus

semillas (12). Características tales como precocidad, hábito de crecimiento y floración, productividad, capacidad de enraizamiento y calidad de la fruta son diversas según la variedad de estudio. Resulta de gran interés la detección y selección de plantas cuyo genotipo produzca los valores más óptimos de dichas variables para construir clones comerciales de gran valor para el consumo, por su agradable palatabilidad y contenido en compuestos beneficiosos para el organismo, tales como flavonoides y vitamina C (2,27,3,24-25). En un estudio se evaluaron las características de 34 variedades de acerola, seleccionadas a su vez entre más de un millón de la zona árida del estado Lara (Venezuela). Un total de 7 plantas reunieron en mayor grado los valores positivos de los aspectos analizados (índice de floración, índice de fructificación, contenido en ácido ascórbico, acidez y sólidos solubles totales), por lo que representan un valioso potencial hortícola para ser propagadas vegetativamente (28).

#### Métodos de búsqueda y recopilación de datos

Los trabajos consultados para la elaboración del presente estudio de revisión bibliográfica han sido localizados mediante los siguientes recursos:

- Software SciFinder Scholar Versión 2004, que es un Buscador Internacional de trabajos científicos (American Chemical Society Ed.).
- Recursos Electrónicos de la Biblioteca de la Universidad de Sevilla (búsqueda por orden alfabético, por materias, por proveedor): [http://bib.us.es/recursos/recursos\\_e.asp](http://bib.us.es/recursos/recursos_e.asp)
- Base de Datos de la Red de Bibliotecas del CSIC: <http://www.csic.es/cbic/cbic.htm>

Asimismo, los trabajos analizados han sido proveídos en su totalidad por los fondos de la Biblioteca del Instituto de la Grasa (CSIC) (Avda. Padre García Tejero, 4 41012 Sevilla, España), la Universidad do Vale do Itajaí (Santa Catarina, Brazil), que ha proporcionado trabajos editados en su país, y los recursos electrónicos anteriormente citados.

#### REFERENCIAS

1. Couceiro EM. Curso de extensão sobre a cultura da acerola. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco 1985; 45.
2. Ledin RB. The Barbados or West Indian cherry. Gainesville: University of Florida 1958; 594: 28-38.
3. Alves RE, Menezes JB, Silva SM. Colheita e pós-colheita da acerola. In: SÃO JOSÉ AR, ALVES RE (Ed.). Acerola no Brasil: produção e mercado. Vitoria da Conquista: UESB 1995 p. 77-89.
4. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J.* 1997; 324: 1-18.
5. Diplock AT. Antioxidants and disease prevention. In: *Molecular Aspects of Medicine* 1994; 15: 295-376 (H. Baum, editor). Oxford and New York: Pergamon Press.

6. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 1996; 313: 17-29.
7. Bendich A, Machlin LJ, Scandurra O, Burton GW, Wayner DDM. The antioxidant role of vitamin C. *Free Rad Biol & Med* 1986; 2: 419-444.
8. Weber P, Bendich A, Schalch W. Vitamin C and human health – a review of recent data relevant to human requirements. *Inter J Vit Nutr Res* 1996; 66: 19-30.
9. Kanner J, Frankel E, Granit R, German B, Kinsella JE. Natural antioxidants in grapes and wines. *J Agric Food Chem* 1994; 42: 64-69.
10. Hanamura T, Hagiwara T, Kawagishi H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69 : 280-286.
11. Vendramini AL, Trugo LC. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). *J Braz Chem Soc* 2004; 15: 664-668.
12. De Rosso VV, Mercadante AZ. Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. *Food Res Int* 2005; 38: 1073-1077.
13. Mezadri T, Perez-Galvez A, Hornero-Mendez D. Carotenoid pigments in acerola fruits (*Malpighia emarginata* DC.) and derived products. *Eur Food Res Technol* 2005; 220: 63-69.
14. Lima Vlag, Mélo EA, Maciel MIS, Prazeres FG, Musser RS, Lima Des. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chem* 2005; 90: 565-568.
15. Azevedo-Meleiro CH, Rodríguez-Amaya DB. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *J Food Comp Anal* 2004; 17: 385-396.
16. Pino JA, Marbot L. Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Fruti. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 5880-5882.
17. Riguette AM, Netto FM, Carraro F. Chemical composition and antioxidant activity of juices from mature and immature acerola (*Malpighia emarginata* DC). *Food Sci Tech Int* 2005; 11: 315-321.
18. Hassimotto NMA, Genovese I, Lajolo FM. Antioxidant Activity of Dietary Fruits, Vegetables, and Commercial Frozen Fruit Pulps. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 2928-2935.
19. Hazak JC, Harbertson JF, Adams DO, Lin CH, Ro B. The phenolic components of grape berries in relation to wine composition. *Acta Horticulturae* 2005; 689: 189-196.
20. Kim MY, Iwai K, Matsue H. Phenolic compositions of *Viburnum dilatatum* Thunb. fruits and their antiradical properties. *J Food Comp and Anal* 2005; 18: 789-802.
21. Morello JR, Romero MP, Ramo T, Motilva MJ. Evaluation of L-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit setting period to harvesting time. *Plant Science* 2005; 168: 65-72.
22. Chinnici F, Bendini A, Gaiani A, Riponi C. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 4684-4689.
23. Kosar M, Kafkas E, Paydas S, Baser K, Huesne C. Phenolic composition of strawberry genotypes at different maturation stages. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 1586-1589.
24. Arostegui F, Asenjo C, Muñiz A, Alemany L. Observations and data on promising selection of West Indian Cherry, *Malpighia puniceifolia* L. *J Agric of Univ PR* 1955; 39: 51-56.
25. Bosco J, Neto M, Aguiar S, Melo A, Baros R. Pesquisa e estensao com Acerola na Paraiba. En: Sao José AR, Alves RE, editores. *Acerola No Brasil*. Universidade Estadual Do Sudoeste Da Bahia. Bahia, Brasil 1995, pp 124-129.
26. Ledin RB. The Barbados or West Indian cherry. Gainesville: University of Florida 1958; 594: 28-38.
27. Nakasone H, Yamane G, Miyashita P. Selection, evaluation and naming of acerola (*Malpighia glabra* L.) cultivars. *Hawaii Agric. Exp. St. University of Hawaii* 1968; 65: 19.
28. Laskowski LE, Bautista D. Evaluacion de características vegetativas, productivas y de calidad de la fruta de plantas de semeruco cultivadas en zonas áridas. *Agron Trop* 1997; 48: 239-249.
29. Asenjo CF. Aspectos químicos y nutritivos de la acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). *Revista Hispano Americana de Ciencias Puras y Aplicadas*. México 1959; 19:109-118.
30. Ostendorf FW. The West Indian cherry. *Tropical abstracts*, Amsterdam. 1963; 18: 145-150.
31. Plumier C. *Nova Plantarum Americanarum Genera*. 1703
32. Linneo C. “*Species Plantarum*”. 1753.
33. Vivaldi J. The systematic *Malpighia* L. Thesis of Degree of Doctor or Philosophy. Fac. of Graduate School of Cornell University 1979.
34. Alves RE, Menezes JB. Botânica da aceloreira. En: São José AR, Alves RE, editores. *Acerola no Brasil: produção e mercado*. Vitória da Conquista - BA, UESB 1995, pp 160.
35. Alves RE. Características das frutas para exportação. En: *Acerola para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita*. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria do Desenvolvimento Rural. Programa de apoio à produção e exportação de frutas, hortaliças, flores e plantas ornamentais. Brasília: EMBRAPA 1996, pp 30.
36. Alves RE, Menezes JB, Chitarra AB, Chitarra MIF. Atividade respiratória e características físico-químicas e químicas de acerolas (*Malpighia emarginata* DC.) em diferentes estádios de maturação. *Agropecuária Técnica* 1992; 13: 77-89.
37. Speirs J, Brady CJ. Modification of gene expression in ripening fruit. *Aust J Plant Physiol* 1991; 18: 519-532.
38. Manica I, Carvalho RIN. Acerola pesquisa e extensão no Rio Grande do Sul. En: São José AR, ALVES RE, editores. *Acerola no Brasil: produção e mercado*. Vitória da Conquista - BA, UESB 1995, pp 160.
39. Netto ML. *Acerola o Cereja Tropical*. Nobel/Dier-berger. Sao Paulo 1986:94.
40. Simão S. *Cereja das Antilhas*. En: Simão, S editor. *Manual de Fruticultura*. São Paulo: Agronômica Ceres 1971; 15: 477-485.
41. Assis SA, Lima DC, Oliveira OMMF. Acerola's pectin methylesterase: studies of heat inactivation. *Food Chem* 2000; 71: 465-467.
42. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe (Tabla de Composición de Alimentos de América Latina) <http://www.rlc.fao.org/bases/alimentos/busca.asp>

43. Gomes E, Dilermando P, Martins ABG, Ferraudo AS. Análise de grupamentos e de componentes principais no processo seletivo em genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC.). Rev Bras Frutic 2000; 22: 36-39.
44. Santos ARL, Reinhardt DH, Silveira WR, Oliveira JRP, Caldas RC. Qualidade pós-colheita de acerola para processamento, em função de estádios de maturação e condições de armazenamento. Rev Bras Frutic 1999; 21: 365-371.
45. Oliveira MEB, Bastos MSR, Feitos A T, Branco Maac, Silva MGG. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. Ciência e Tecnologia de Alimentos 1999; 19: 326-332.
46. Visentainer JV, Vieira OA, Matsushita M, De Souza NE. Physico-chemical characterization of acerola (*Malpighia glabra* L.) produced in Maringa, Parana State, Brazil. Arch Latinoamer Nutr 1997; 47: 70-2.
47. Musser RS. Caracterização de acessos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.) do Banco Ativo de Germoplasma da UFRPE em Pernambuco. Ph. D. Thesis, UFRPE, Recife.
48. Mezquita PC, Vigoa YG. La acerola. Fruta marginada de América con alto contenido en ácido ascórbico. Alimentaria 2000, pp113-125.
49. Porcu OM, Rodríguez-Amaya DB. Carotenóides de acerola: efeito de estágio de maturação e remoção de película. En: V Simposio Latinoamericano de Ciencia de Alimentos. Campinas, SP, Brazil 2003. 10-14 Nov.
50. Mezadri T. Evaluación de la actividad antioxidante de frutos de acerola (*Malpighia emarginata* DC) y sus derivados. 2005 Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
51. Lima VLAG, Mélo EA, Maciel MIS, Lima DES. Avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de 12 frutos de diferentes aceroleiras (*Malpighia emarginata* DC.). Cienc Tecnol Aliment 2003; 23: 101-103.
52. Nogueira RJMC, Moraes JAPV, Burity HA, Silva Junior JF. Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas da acerola. Pesq Agropec Bras 2002; 37: 463-470.
53. Butt VS. Direct oxidases and related enzymes. En: STUMPF PK, CONN EE, editores. The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. New York: Academic; 1980; 2: 81-123.
54. Carvalho IT, Guerra NB. Suco de acerola - estabilidade durante o armazenamento. En: São José AR, Alves RE, editores. Acerola no Brasil: produção e mercado. Vitória da Conquista - BA, UESB 1995, pp 160.
55. Nakasone HI, Miyashita RK, Yamane GM. Factors affecting ascorbic acid content of acerola. Am Soc Hortic Sci 1966; 89: 161-164.
56. SENBA (Sociedad Española de Nutrición Básica y Aplicada) (Tablas de Composición de Alimentos). 1997.
57. Hernández LE, León J. Cultivos Marginados Otra Perspectiva de 1492. En: Hernández LE, León J, editores. Colección FAO: Producción y protección vegetal; 1992; 46: 16-30.
58. Agostini-Costa TDS, Luciana Nobre de Abreu LN, Guimaraes Rossetti A. Effect of freezing and storing time of pulp of acerola on the carotenoid contents. Rev Bras Frutic 2003; 25: 56-58.
59. Godoy HT, Rodríguez-Amaya DB. Occurrence of cis isomers of provitamin A in Brazilian fruits. J Agric Food Chem 1994; 42: 1306-1313.
60. Cavalcante ML, RODRIGUEZ-Amaya DB. Carotenoid composition of the tropical fruits *Eugenia uniflora* and *Malpighia glabra*. En: Charalambous G editor. Food Science and Human Nutrition. Amsterdam: Elsevier Science Publishers 1992, pp 643-650.
61. Macheix JJ, Fleuriet A, Billot J. Fruits phenolics. 1990. Boca Raton: CRC Press, Inc.
62. Torreggiani D, Forni E, Guercilena I, Maestrelli A, Bertolo G, Archer GP, Kennedy CJ, Bone S, Blond G, Contreras-López E, Champion D. Modification of glass transition temperature through carbohydrates additions: effect upon colour and anthocyanin pigment stability in frozen strawberry juices. Food Res Int 1999; 32: 441-446.
63. Mondello L, Cotroneo A, Errante G, Dugo G, Dugo P. Determination of anthocyanins in blood orange juices by HPLC analysis. J Pharmac & Biomed Anal 2000; 23: 191-195.
64. Price CL, Wrolstad RE. Anthocyanin pigments of Royal Okanagan huckleberry juice. J Food Sci 1995; 60: 369-74.
65. Hendry GAF, Houghton JD. Natural Food Colorants. Blackie Academic London 1996, pp 1-103.
66. Bridle PL, Timberlake CF. Anthocyanins a natural food colours selected aspects. Food Chem 1997; 58: 1-2.
67. Boulanger R, Crouzet J. Identification of the aroma components of acerola (*Malpighia glabra* L.): free and bound flavour compounds. Food Chem 2001; 74: 209-216.
68. Matsuura FCA, Rolim RB. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um "blend" com alto teor de vitamina C. Rev Bras Frutic 2002; 24: 138-141.
69. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. Free Rad Biol Med 1996; 20: 707-727.
70. Hwang J, Sevanian A, Hodis HN, Ursini F. Synergistic inhibition of LDL oxidation by phytoestrogens and ascorbic acid. Free Rad Biol Med 2000b; 29: 79-89.
71. Hwang J, Peterson H, Hodis HN, Choi B, Sevanian A. Ascorbic acid enhances 17  $\beta$ -estradiol-mediated inhibition of oxidized low density lipoprotein formation. Atherosclerosis 2000a; 150: 275-284.
72. Hwang J, Hodis HN, Sevanian A. Soy and alfalfa phytoestrogen extracts become potent low-density lipoprotein antioxidants in the presence of acerola cherry extract. J Agric Food Chem 2001; 49: 308-314.
73. Hecht SS. Approaches to cancer prevention based on an understanding of N-nitrosamine carcinogenesis. Proc Soc Exp Biol Med 1997; 216: 181-191.
74. Nagamine I, Akiyama T, Kainuma M, Kumagai H, Satoh H, Yamada K, Yano T, Sakurai H. Effect of acerola cherry extract on cell proliferation and activation of ras signal pathway at the promotion stage of lung tumorigenesis in mice. J Nutr Sci Vitaminol 2002 ; 48: 69-72.
75. Motohashi N, Wakabayashi H, Kurihara T, Fukushima H, Yamada T, Kawase M, Sohara Y, Tani S, Shirataki Y, Sakagami H, Satoh K, Nakashima H, Molnár A, Spengler G, Gyémánt N, Ugocsai K, Molnár J. Biological activity of Barbados cherry (*Acerola* fruits, fruit of *Malpighia emarginata* DC) extracts and fractions. Phytother Res 2004; 18: 212-223.

76. Proteggente AR, Saija A, Pasquale A, Rice-Evans CA. The compositional characterisation and antioxidant activity of fresh juices from Sicilian sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) varieties. *Free Rad Res* 2003; 37: 681-687.
77. Sellapan S, Akoh CC, Krewer G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 2432-2438.
78. Fogliano V, Verde V, Randazzo G, Ritieni A. Method for measuring antioxidant activity and Its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 1035-1040.
79. Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, Scaccini C. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 361-367.
80. Prior RL, Cao GH. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review. *J AOAC Inter* 2000; 83: 950-956.
81. Gil MI, Tomás-Barberán FT, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 4581-4589.
82. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 3426-3431.
83. Howard LR, Clark JR, Brownmiller C. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *J Sci Food Agric* 2003; 83: 1238-1247.
84. Oliveira JRP, Soares Filho WS. Situação da cultura da acerola no Brasil e ações da Embrapa Mandioca e Fruticultura em recursos genéticos e melhoramento. En: *Simpósio de Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste do Brasil*. Petrolina, PE, Brazil: EMBRAPA Semi-Árido 1998.
85. Asenjo C. Acerola. En: Shaw eds. *Tropical and subtropical fruits*. AVI. Publishing, INC. Westport, Connecticut; 1980, pp 341-374.
86. Carvalho RIN, Manica I. Acerola, composição, armazenamento de frutas. *Cuadernos de Horticulturas (UFRGS)*. Rio Grande do Sul 1993; 1: 143.
87. Moscolo CC. West Indian cherry richest know source of natural vitamin C. *Econ Bot* 1956; 10: 280-294.
88. Bliska FMM, Leite RSSF. Aspectos econômicos e de mercado. En: São José AR, Alves RE, editores. *Acerola no Brasil: produção e mercado*. Vitória da Conquista - BA, UESB; 1995, pp 160.
89. Matsuura FCAU, Cardoso RL, Folegatti MIS, Oliveira JRP, Santos DB. Avaliações físico-químicas em frutos de diferentes genótipos de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). *Rev Bras Frutic* 2001; 23: 602-606.

Recibido: 15-02-2006

Aceptado: 27-04-2006

## Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino y valoración de sus efectos *in vivo*

M<sup>a</sup> Soledad Fernández-Pachón, Débora Villaño, Ana M<sup>a</sup> Troncoso y M<sup>a</sup> Carmen García-Parrilla

Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. Sevilla. España

**RESUMEN.** El objetivo de esta revisión es el estudio de la actividad antioxidante del vino, analizando los distintos métodos que se han empleado en su evaluación. Esta actividad se relacionará, tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo, con el perfil de compuestos polifenólicos presentes en el vino. Los vinos tintos presentan actividades superiores a los blancos y la magnitud de dichos valores varía en función del método de análisis empleado. No existe un único compuesto polifenólico responsable mayoritariamente de la actividad antioxidante del vino, sino que ésta se explica por el conjunto de todos ellos. Para evaluar la influencia del consumo de vino tinto en el organismo humano se ha utilizado como biomarcador más frecuente la capacidad antioxidante del plasma, que incrementa su valor tras la ingesta del vino. Se expone que la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino requiere el uso de diversos métodos que proporcionen una información diferente y complementaria. Los métodos *in vivo* tienen la ventaja de valorar las transformaciones metabólicas que sufren los fenoles en el organismo y que modifican su actividad. De los estudios realizados hasta la fecha se concluye que el vino interviene en la capacidad antioxidante del plasma de forma directa a través de sus compuestos polifenólicos e indirecta al aumentar la concentración plasmática de ácido úrico. **Palabras clave:** Compuesto fenólico, vino, método de medida de actividad antioxidante, capacidad antioxidante del plasma, humano, ácido úrico.

### INTRODUCCION

Las Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) son especies químicas radicales y no radicales que debido a su inestabilidad se comportan como agentes oxidantes. Las ROS pueden tener en nuestro organismo un origen endógeno relacionado con el metabolismo del oxígeno y con distintas reacciones de defensa de nuestro sistema inmunológico. También pueden provenir de fuentes externas: el tabaco, la contaminación del aire, la radiación ultravioleta y la de alta energía, el ozono o ciertos medicamentos. El organismo dispone de mecanismos de defensa antioxidante frente a las especies reactivas de oxígeno, que comprenden sistemas enzimáticos y no enzimáticos (1). Ciertas enzimas como superóxido dismutasa, catalasa,

**SUMMARY.** Review of the different methods for the evaluation of the *in vitro* antioxidant activity of wine and study of *in vivo* effects. The aim of this paper is to evaluate the significance of these methods, as well as to correlate the antioxidant activity of wines with their phenolic profile, both in qualitative and quantitative terms. Red wines show higher antioxidant capacities than white ones and the magnitude of these differences depends on the method used. The antioxidant activity of wine can not be mainly ascribed to a particular phenolic compound, instead it is explained by the global interaction of all of them. To evaluate the influence of red wine consumption in the human organism, plasma antioxidant capacity has been frequently used as biomarker, and studies have shown that it increases after wine ingestion. We can conclude that it is necessary to use a battery of methods that provide different and complementary information to properly interpret the results. Phenolic compounds undergo metabolic transformations in the organism which modify their activities. *In vivo* assays do consider these changes. From the studies performed up to date we can conclude that acute ingestion of wine directly acts on plasma antioxidant capacity due to phenolic compounds and indirectly influences by means of changes on plasmatic concentration of endogenous antioxidants.

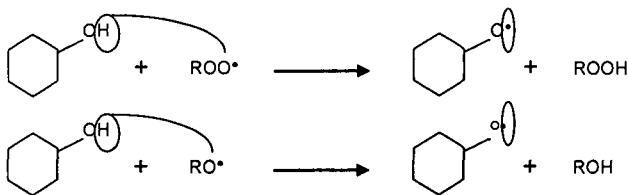
**Keywords:** Phenolic compound, wine, measurement method of antioxidant activity, plasma antioxidant capacity, human, uric acid.

glutación peroxidasa o glutación reductasa, neutralizan las especies reactivas. Los sistemas defensivos no enzimáticos abarcan una serie de compuestos antioxidantes como albúmina, ceruloplasmina, transferrina, glutatión, bilirrubina, ácido úrico, ubiquinona o melatonina. En ciertas situaciones extremas, estas defensas no son suficientes y las especies reactivas producen daño oxidativo, tanto en biomoléculas como en componentes celulares (2,3).

El daño oxidativo se relaciona con el origen y desarrollo de ciertas enfermedades multifactoriales de carácter crónico, como la oxidación de las LDL y la enfermedad cardiovascular (4), el daño oxidativo al ADN y el cáncer (5,6) y la oxidación de las proteínas de las lentes oculares y la alteración de la visión (7,8).

La ingesta de alimentos ricos en sustancias antioxidantes como vitaminas C y E, carotenoides o compuestos fenólicos, previene o disminuye el desarrollo de estas enfermedades (9-12). Se cree que la dieta aumenta la defensa antioxidante del organismo evitando el daño oxidativo.

Los compuestos fenólicos son sustancias orgánicas ampliamente distribuidas en el reino vegetal. Se sintetizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa, y son en gran medida responsables de las propiedades del color, la astringencia y el flavor (sabor y aroma) de los vegetales. Se encuentran en las verduras y frutas, y en productos derivados como el vino o la cerveza. Todos tienen en su estructura uno o más anillos aromáticos con al menos un sustituyente hidroxilo (13). Su estructura química es propicia para secuestrar radicales libres, debido a la facilidad con la que el átomo de hidrógeno desde el grupo hidroxilo aromático puede ser donado a la especie radical, y a la estabilidad de la estructura quinona resultante que soporta un electrón desapareado (14).



La actividad antioxidante de los polifenoles depende del número y la localización de los grupos hidroxilo que contiene en su estructura (15,16).

Además de su actividad antioxidante, se han atribuido otras propiedades biológicas a los compuestos fenólicos: inhiben la agregación plaquetaria (17) y ejercen como agentes vasorrelajantes (18), antiinflamatorios (19) y anticancerígenos (11,20,21).

Uvas y vinos presentan una gran variedad de compuestos fenólicos de muy diversas estructuras químicas y pesos moleculares, cuya cantidad total y la proporción en que aparecen dependen de una serie de factores, como la variedad de la uva, el área de producción, la añada, la climatología, las técnicas agrícolas, los métodos de vinificación, el procedimiento de prensado de la uva y el tiempo de fermentación del mosto con la piel y las semillas.

Los compuestos fenólicos de la uva se localizan en las partes sólidas: piel, semilla y tejido vascular. En la pulpa destaca la presencia de ácidos fenólicos y sus derivados. Los flavonoles y antocianos se encuentran localizados en las células del hollejo de la uva, siendo éstos últimos responsables del color rojo de los vinos tintos. Las procianidinas y flavan3-oles se localizan en las semillas de las uvas. En los vinos blancos los fenoles mayoritarios son aquellos procedentes de la pulpa, mientras que en los tintos, la maceración alcohólica de los hollejos y las semillas permite la liberación y solubilización de los flavonoides.

La "Paradoja Francesa" constituyó un interesante punto de partida, al mostrar cómo en Francia existe un riesgo bajo de padecer enfermedades cardiovasculares en la población a

pesar del elevado consumo de grasas saturadas de origen animal. Se descubrió que la dieta de los franceses difiere de la de otros países desarrollados por el consumo de vino tinto (22). Numerosos estudios epidemiológicos que relacionan el consumo moderado y regular de vino con una disminución del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, crónicas y degenerativas se realizaron a raíz de esta observación (23-25).

El objetivo de esta revisión es el estudio de la actividad antioxidante del vino, analizando los distintos métodos que se han empleado en su evaluación. Esta actividad se correlacionará, tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo, con el perfil de compuestos polifenólicos presentes en el vino.

### Actividad antioxidante

#### Comparación de los métodos de medida de la actividad antioxidante del vino: ventajas e inconvenientes

Los métodos de determinación de la actividad antioxidantes se basan en comprobar cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o la muestra. Por otra parte, hay ensayos que se basan en la cuantificación de los productos formados tras el proceso oxidativo.

Los distintos métodos difieren en el agente oxidante, en el sustrato empleado, en la medida del punto final, en la técnica instrumental utilizada y en las posibles interacciones de la muestra con el medio de reacción. Además, los objetivos de los diferentes métodos de medida son diversos. Entre ellos señalamos la medida de la resistencia de un alimento a la oxidación, la evaluación cuantitativa del aporte en sustancias antioxidantes o la evaluación de la actividad antioxidante del plasma una vez ingerido el alimento (26-30).

Los métodos *in vitro* son útiles para comparar la actividad antioxidante de diferentes muestras de alimentos. Los resultados son limitados desde un punto de vista nutricional, ya que no reproducen la situación fisiológica. Para alcanzar una mayor aproximación algunos ensayos incluyen radicales relevantes en los sistemas biológicos ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $ROO$ ,  $OH$ ) (31).

Por otra parte, la actividad antioxidante de un alimento *in vitro* difiere de su efecto antioxidante *in vivo*, ya que las transformaciones metabólicas que sufren los compuestos antioxidantes en el organismo modifican su actividad. Ciertos compuestos fenólicos poliméricos que presentan una baja actividad *in vitro* pueden, sin embargo, contribuir a la capacidad antioxidante del plasma después de su transformación metabólica en compuestos más simples. Así, dos muestras de té verde y negro, que daban resultados muy diferentes en experiencias *in vitro*, produjeron, tras su consumo, un incremento similar en la capacidad antioxidante del plasma (32).

Por ello es importante tener en consideración aspectos como el grado de absorción de los compuestos, los productos del metabolismo que generan y la actividad de los mismos.

Las medidas *in vivo* pueden reflejar las posibles interacciones entre los distintos componentes de la dieta. Sin embargo, existen numerosos aspectos aún desconocidos en las medidas *in vivo*, como el modo de acción de los radicales dentro de los compartimentos celulares y si los compuestos antioxidantes se transportan al interior de los mismos (33).

En la Tabla 1 se resumen las características más relevantes de los métodos de medida de actividad antioxidante del vino que han sido usados con mayor frecuencia (28, 31,32,34-50).

### Especies reactivas

La mayoría de los métodos de medida de la actividad antioxidante no emplean especies radicales de significado biológico. Son radicales ajenos al organismo el DPPH• o el ABTS<sup>2+</sup>. En el caso del ensayo FRAP el Fe<sup>2+</sup> producido en la reacción redox del ensayo FRAP puede reaccionar con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para producir OH, que se considera el radical libre más dañino encontrado *in vivo*. Por otra parte, hay antioxidantes que pueden inhibir la oxidación lipídica a través de la quelación de metales de transición que intervienen en la producción de radicales libres (51). El empleo de radicales peroxilo o hidroxilo en ensayos como ORAC, TRAP, TOSC, DCFH-DA les añade un mayor significado biológico, ya que estas ROS son las más importantes a nivel fisiológico (33).

### Sustrato diana

Los primeros métodos diseñados para medir la actividad antioxidante se centraron en la protección frente a la oxidación de lípidos (52), con el inconveniente de que sólo detectan un estado avanzado del daño oxidativo. El ensayo ORAC usa como diana a una proteína (ficoeritrina) que, por su sensibilidad, permite evaluar los pasos iniciales del proceso de oxidación.

### Posibilidad de interferencias

Se pueden producir interacciones entre la especie que genera los radicales y los compuestos antioxidantes de la muestra. Se pueden evitar estas interferencias si existe una elevada razón molar entre la especie radical y la muestra, como ocurre en los ensayos que emplean AAPH o ABAP. Así, estos métodos muestran mayor sensibilidad y especificidad.

También se pueden producir interacciones entre el sustrato de la reacción de oxidación y la muestra alterando los resultados. La oxidación de luminol produce radicales que emiten luz. Los compuestos antioxidantes no sólo reducen los radicales producidos por AAPH, sino también los radicales luminol.

Los métodos espectrofotométricos basados en la absorbancia a una longitud de onda pueden presentar interferencias debidas a compuestos coloreados presentes en los alimentos. Este es un factor importante a considerar cuan-

do se analiza la actividad antioxidante del vino tinto (53). Los métodos fluorimétricos no presentan este problema.

### Sensibilidad del método

El método quimioluminiscente (Ensayo basado en luminol) tiene un límite de detección inferior al de los ensayos espectrofotométricos (ABTS, DPPH, FRAP, Ensayo basado en crocina) (54). Las medidas de voltametría cíclica también presentan una sensibilidad relativamente baja.

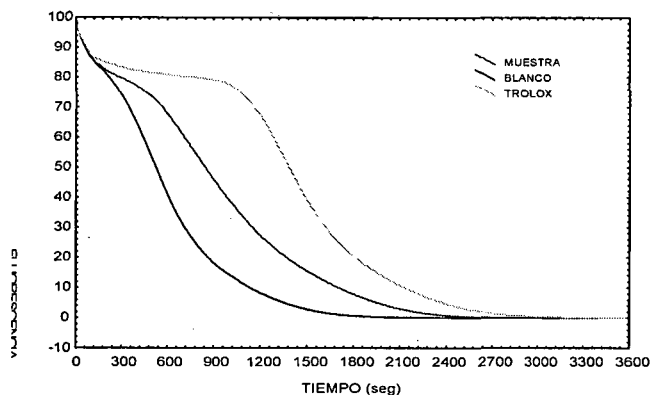
### Medio de reacción hidrosoluble/liposoluble

La mayor parte de los métodos de medida de la actividad antioxidante miden solamente compuestos solubles en agua debido a las naturalezas hidrofílicas de las especies reactivas y de los sustratos oxidables que emplean. Algunos ensayos pueden adaptarse para medir antioxidantes lipofílicos: ORAC (55,56), ABTS (57) y el ensayo TRAP (58).

### Tipo de determinación

Hay métodos (TRAP, ABTS, FRAP) que cuantifican la actividad antioxidante el porcentaje de inhibición a un tiempo fijo, con el handicap de que distintos antioxidantes pueden tener un mismo porcentaje a un tiempo dado pero distinto a otro tiempo determinado. Otros métodos miden la extensión del tiempo de inhibición a un porcentaje de inhibición fijo (30). En cambio, el ensayo ORAC desarrolla la reacción de la especie reactiva con el sustrato oxidable hasta el final y usa la técnica del área bajo la curva de descenso (AUC) para la cuantificación, que integra los porcentajes de inhibición sobre el período de tiempo completo que dura la inhibición (Figura 1).

FIGURA 1  
Fluorescencia relativa de  $\beta$ -Ficoeritrina incubada con AAPH frente al tiempo en presencia de tampón fosfato (blanco), trolox (20  $\mu$ M) o una muestra



El valor ORAC se obtiene calculando la diferencia de áreas bajo las curvas de descenso de fluorescencia de  $\beta$ -ficoeritrina a lo largo del tiempo entre el blanco y una muestra. Los resultados finales se expresan usando Equivalentes de Trolox

TABLA 1  
Descripción de las características más importantes de los distintos métodos de medida de actividad antioxidante

Características	Ensayos de transferencia de átomos de hidrógeno				Ensayos de transferencia de electrones			Otros ensayos		
	TRAP	ORAC	DCFH-DA	Ensayo Crocina	DPPH	ABTS	FRAP	Voltametría cíclica	Ensayo Luminol	TOSC
<u>Especie iniciadora</u>	AAPH (radicales peroxilo)	AAPH/ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Cu <sup>2+</sup> / CuSO <sub>4</sub>	AAPH (radicales peroxilo)	ABAP (radicales peroxilo)	Radical DPPH*	Ferrilmioglobina/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> → ABTS <sup>2+</sup>		Potencial eléctrico	AAPH/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / perborato → luminol?	ABAP (radicales peroxilo)
<u>Medida</u>	Oxígeno consumido	Inhibición de la caída de fluorescencia de PE/FL	Inhibición de oxidación de DCFH-DA	Inhibición de la oxidación de crocina	Descenso de DPPH <sup>?</sup>	Descenso de ABTS <sup>2+</sup>	Reducción: TPTZ-Fe <sup>3+</sup> a TPTZ-Fe <sup>2+</sup>	Capacidad reductora	Inhibición de quimioluminiscencia	Inhibición de oxidación de α-ceto-γ-m-butírico
<u>Técnica</u>	Electrodo de oxígeno	Fluorimetría	Espectrofotometría / Fluorimetría	Espectrofotometría	Espectrofotometría	Espectrofotometría	Espectrofotometría	Voltametría cíclica	Quimioluminiscente	Cromatografía de gas
<u>Cuantificación</u>	Longitud de fase de retraso	Fl a λ <sub>ex</sub> 540 y λ <sub>em</sub> 565 nm técnica AUC	Abs: 504 nm/ Fl: λ <sub>ex</sub> 504 λ <sub>em</sub> 529 nm- Fase de retraso	Abs: 443 nm/ competición cinética	Absorbancia a 515 nm	Absorbancia a 414 nm	Absorbancia a 593 nm y calibrado FeSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	Curva de potencial de corriente	Tiempo que dura la inhibición	AUC y comparación con reacción basal
<u>Expresión de resultados</u>	Equivalentes de Trolox	Equivalentes de Trolox	Equivalentes de Trolox	Equivalentes de Trolox	EC50 muestra que disminuye 50% DPPH*	Equivalentes de Trolox	μmol Fe <sup>2+</sup> /L	E <sub>1/2</sub> : Potencial de oxidación /a: corriente anódica	Equivalentes de Trolox	Relativo a concentración 1 μM de antioxidante
<u>Muestras</u>	Alimentos, muestras biológicas	Fenoles, alimentos, bebidas, muestras biológicas	Muestras biológicas	Muestras biológicas	Fenoles, alimentos, bebidas	Fenoles, alimentos, bebidas, muestras biológicas	Alimentos, bebidas, muestras biológicas	Compuestos puros, muestras biológicas	Fluidos biológicos	Compuestos puros, tejidos
<u>Referencias</u>	31-32	34-38	39	40-41	42-43	44-45	46	47	48-49	50

En conclusión, a la hora de abordar el estudio de la actividad antioxidante del vino es aconsejable emplear varios métodos, ya que cada uno ofrece información diferente. Hay compuestos antioxidantes que no reaccionan con determinadas especies oxidantes y sí con otras, pudiéndose obtener así valores dispares entre los distintos métodos.

Siendo el vino un alimento de sustrato hidroalcohólico, los métodos de medida de actividad antioxidante basados en especies hidrosolubles son de elección. En el caso de métodos *in vitro*, si el objetivo es realizar un screening de actividades antioxidantes de diferentes tipos de vinos, los métodos ABTS y DPPH son buenas elecciones, debido a su facilidad de uso y accesibilidad. El estudio de la actividad *in vivo* derivada de una ingesta de vino requiere el empleo de un método que mimetice las condiciones del organismo, como es el método ORAC, ya que utiliza una diana con significado biológico (proteína) y un tipo de especie oxidante presente en el organismo (radicales peróxido).

#### Actividad antioxidante del vino

En general, los valores de actividad antioxidante de los vinos tintos obtenidos con diferentes métodos son significativamente superiores a los de los vinos blancos, rosados o generosos (59-60). La magnitud de la diferencia observada entre los vinos tintos y blancos varía en función del método empleado (Tablas 2 y 3). Si se comparan vinos blancos y generosos, de elaboración similar, no existen diferencias significativas entre los valores de actividad antioxidante medidos con los métodos ORAC-PE, ABTS y DPPH (59).

TABLA 2  
Valores de actividad antioxidante (AA) de los vinos obtenidos con distintos métodos de medida

Métodos	Tipos de vinos			
	Tintos	Blancos	Generosos	Rosados
TRAP (mM Trolox)	14,22 (61) 29,16 (104)	4,2 (104)	2,09 (61)	2,47 (61) 5,00 (104)
ORAC (μM)	7180 (59) 7800 (63)	1173 (59)	1297 (59)	
ABTS (mM Trolox)	10,84 (61) 14,83 (69) 14,55 (106) 8,73 (60) 5,01 (59) 7,5 (45)	1,81 (61) 0,92 (69) 1,6 (60) 0,46 (59) 1,2 (109)	0,26 (59)	2,04 (61)
DPPH (mM Trolox)	3,95 (105) 11,49 (69) 9,44 (59)	0,48 (105) 0,61 (69) 0,52 (107) 0,83 (59)	0,78 (59)	
FRAP (mM Fe <sup>2+</sup> )	28,65 (61)	4,20 (61)		6,74 (61)
Crocina (mM Trolox)	17,38 (108)			
Luminol (mM Trolox)	2,18 (108)			

( ): Referencias bibliográficas

TABLA 3  
Relación encontrada entre la actividad antioxidante (AA) de los vinos tintos y los vinos blancos con distintos métodos de medida

Métodos de medida	AA vino tinto / AA vino blanco
ORAC-PE	6,1 (59) 4,3 (110)
ABTS	11 (59) 7,7 (68) 6,2 (61)
DPPH	11 (59)
TRAP	7,2 (104) 6,8 (61)

( ): Referencias bibliográficas

El vino tinto presenta mayor actividad antioxidante (métodos TRAP, FRAP y ABTS) que coñac, grapa, ron, cerveza y whiskey (61). Los valores TRAP y ABTS de vinos blancos fueron inferiores al del whiskey para algunas muestras y similar para otras. Con respecto al método TRAP, que utiliza R-PE y ABAP, la actividad antioxidante del vino tinto (14,22 mM) fue superior que la del vinagre (4,80 mM), té verde (7,63 mM) y té negro (4,87 mM). El vino tinto además presentó mayor valor TRAP que todas las bebidas no alcohólicas, los extractos de frutas y las verduras. En cambio, la actividad antioxidante del vino blanco (2,09 mM) fue menor que la del vinagre y el té (61).

#### Relación entre la actividad antioxidante del vino y su composición fenólica

Se ha determinado el contenido y la composición fenólica de los vinos mediante distintos procedimientos, con el fin de encontrar posibles relaciones entre los valores de actividad antioxidante obtenidos en las muestras y su perfil fenólico (62-64). La primera aproximación ha consistido en determinar la concentración de fenoles totales de los vinos. El método ampliamente usado para tal efecto ha sido el Índice de Polifenoles Totales (IPT) o Índice de Folin-Ciocalteu. En general, se ha encontrado una correlación lineal elevada entre los valores de actividad antioxidante y el IPT de los vinos (60, 62, 65,66) (Tabla 4).

La técnica de Extracción en Fase Sólida (SPE), que se basa en la diferencia de polaridad de los compuestos, se ha empleado para separar las principales fracciones de compuestos fenólicos de los vinos tintos (67). En concordancia con el proceso de elaboración de los vinos tintos, la fracción correspondiente a flavan-3-oles y antocianos es la más abundante, los ácidos fenólicos les siguen en orden cuantitativo y los flavonoles presentan la concentración más pequeña (59). Varios autores han encontrado correlación lineal elevada entre la concentración de flavan-3-oles y la actividad antioxidante

del vino tinto medida por el método ABTS (68,69), FRAP (70), DPPH (71) y voltametría cíclica (72). Los flavonoles no presentan una relación significativa con la actividad antioxidante de los vinos (59,73). Los ácidos fenólicos presentan una correlación lineal significativa entre su concentración y la actividad antioxidante de los vinos tintos (59,70).

**TABLA 4**

Coefficientes de correlación lineal obtenidos entre la actividad antioxidante medida con distintos métodos y el IPT de vinos tintos, blancos, generosos o el conjunto de ellos

Métodos	Tintos	Tipos de vinos		
		Blancos	Generosos	Conjunto
ORAC-PE	0,7519 (59)	0,7186 (59)	0,9474 (59)	0,9125 (59)
	0,8456 (110)	0,7377 (110)		
ABTS		0,7219 (59)		0,9012 (59)
				0,9902 (68)
DPPH	0,8237 (59)	0,5547 (59)	0,6755 (59)	0,9769 (59)
	0,7082 (71)			
	0,935 (69)			
DMPD Electroquímica	0,6588 (59)	0,6656 (59)		0,7771 (59)
	0,83 (72)			

( ): Referencias bibliográficas

Se ha medido la actividad antioxidante de cada familia de compuestos con el fin de determinar su contribución al valor total de los vinos tintos. La fracción correspondiente a flavan-3-oles y antocianos presentó la actividad antioxidante mayor medida por los métodos ORAC-PE, ABTS, DPPH e inhibición de la oxidación de las LDL y es la que más contribuye a la actividad antioxidante de los vinos tintos (representa de 33,3% a 40,2% del total) (59,63,74). La fracción de los ácidos fenólicos sigue en orden de actividad (de 6,41% a 20,8% del total del vino). La fracción correspondiente a los flavonoles es la que menor contribución presenta. A pesar de que en estudios *in vitro* los flavonoles presenten elevada actividad antioxidante (75), estos compuestos no se presentan en suficientes cantidades en el vino para ser considerados determinantes de su actividad antioxidante (76).

La composición fenólica de los vinos blancos se ha analizado ampliamente mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (CLAE). Se ha intentado relacionar la concentración de los compuestos fenólicos con la actividad antioxidante de estos vinos, obteniendo coeficientes de correlación lineal elevados ( $r > 0,7000$ ) en el caso de algunos compuestos (Tabla 5). Sin embargo, la actividad antioxidante de los vinos está más relacionada con el conjunto de fenoles que con algún compuesto de forma singular, a pesar de que ciertos compuestos contribuyan más que otros a la actividad antioxidante del vino (68,70,72,77).

**TABLA 5**

Coefficientes de correlación lineal ( $r > 0,7000$ ) obtenidos entre la actividad antioxidante medida con distintos métodos y la concentración de compuestos fenólicos en vinos blancos

Compuestos fenólicos	Métodos de medida			Peroxidación lipídica
	ABTS	DPPH	ORAC-PE	
Acido gálico	0,8300 (111)		0,8942 (38)	0,9200 (62)
Acido cutárico	0,7598 (77)		0,7218 (38)	
Cafeato de etilo	0,7765 (38)	0,7566 (38)	0,9309 (38)	
5-Hidroximetil-furfural		0,7295 (38)	0,8938 (38)	

( ): Referencias bibliográficas

Nosotros hemos intentado construir ecuaciones que predigan la actividad antioxidante de los vinos a partir de sus constituyentes fenólicos (38). Hemos buscado una combinación lineal a partir de los valores de actividad antioxidante teóricos de los compuestos fenólicos a las concentraciones que se encuentran en los vinos. Con el análisis estadístico de regresión múltiple se obtuvo la siguiente ecuación ( $r = 0,9028$ ):

$$AA_{\text{vino blanco}} = -1270,28 + 0,587 \cdot ORAC_{\text{gálico}} + 0,431 \cdot ORAC_{\text{protocatequico}} - 0,18 \cdot ORAC_{\text{furfural}} + 0,359 \cdot ORAC_{\text{tiroso}} + 0,456 \cdot ORAC_{\text{cafeico}} + 0,324 \cdot ORAC_{\text{galato de epigallocatequina}} - 0,68 \cdot ORAC_{\text{cumárico}}$$

De modo que para poder explicar la actividad antioxidante de un vino hay que acudir a la concentración de un amplio número de compuestos fenólicos.

**Evaluación de la capacidad antioxidante del plasma tras la ingesta de vino**

La capacidad antioxidante del plasma representa el balance antioxidante del organismo y valora tanto los antioxidantes endógenos como exógenos. Se ha usado como marcador indirecto de la biodisponibilidad de los antioxidantes presentes en los alimentos en estudios de intervención, tanto para evaluar el efecto aislado de un alimento a corto plazo como su influencia mediante su suplementación en la dieta a largo plazo (32).

En concreto se ha estudiado el efecto de la ingesta de espinacas, fresas (78), arándanos (79), chocolate negro (80), café (81), té negro y verde (82,83), proantocinidinas de la uva (84), chocolate rico en procianidinas (85), y bebidas alcohólicas como cerveza (86), vino blanco y vino tinto (78,83,87,88), entre otros.

### **Idoneidad de los métodos de medida de la capacidad antioxidante del plasma**

Actualmente, la determinación de la capacidad antioxidante del plasma tras la ingesta de vino se realiza con métodos diversos (89). No existe consenso científico sobre el más idóneo, pues difieren en el objeto de medida y su posible significación biológica, así como en la interferencia que puedan presentar con los componentes del plasma. Se podría escoger cualquiera de los métodos de medida de actividad antioxidante adaptados para muestras biológicas siempre que el método esté analíticamente validado.

### **Plasma versus suero**

Hay autores que utilizan el plasma en el estudio de la capacidad antioxidante (86), y otros emplean suero sanguíneo (79,90). Algunos trabajos no muestran diferencias significativas entre los valores de capacidad antioxidante de plasma y suero (31), en cambio, otros muestran valores más altos en el plasma que en el suero (38), o al contrario (91). En otro estudio realizado por Ghiselli y colaboradores (32), los valores de capacidad antioxidante del plasma y del suero fueron significativamente distintos en sujetos fumadores, pero no presentaban diferencias significativas en los no fumadores.

El suero se obtiene después de la eliminación del coágulo de fibrina de la sangre a temperatura ambiente. La muestra se somete así a una mayor exposición a la luz, por lo que posiblemente se pierden antioxidantes que son inestables en tales condiciones. Por otra parte, durante la agregación, las plaquetas liberan especies radicalarias que pueden disminuir la capacidad antioxidante de la muestra de suero. Esto hace aconsejable trabajar con muestras de plasma en lugar de suero para evitar pérdidas de compuestos (32). La determinación clínica de compuestos endógenos que influyen potencialmente en la capacidad antioxidante (albúmina, bilirrubina, ácido úrico) se realiza con mayor frecuencia en muestras de plasma.

### **Incremento medio de la capacidad antioxidante del plasma tras el consumo de vino**

Los ensayos con voluntarios humanos muestran un incremento en el valor de la capacidad antioxidante tras el consumo de vino tinto, a pesar de existir diferencias interindividuales. Esta variabilidad en los resultados puede ser debida a diferencias en la absorción de los compuestos fenólicos del vino, relacionadas con la velocidad de absorción y la magnitud de la misma.

Estudios realizados con el método ORAC-PE e igual cantidad de vino tinto ingerida (300 mL), muestran valores de incremento medio máximo de la capacidad antioxidante del plasma similares y se alcanzan en tiempos parecidos: 16,4% a los 55 minutos de la ingesta de vino (38), 16,9% a los 60 minutos (78) o 14,4% a los 50 minutos (87). Las ligeras variaciones encontradas entre los valores pueden atribuirse a que

los grupos presentan distinta edad y sexo en cada estudio. En cambio en el método FRAP, se encuentran porcentajes de incremento más dispares: 28,6% a los 55 minutos de la ingesta de vino (38) o 5,5% a los 60 minutos (78).

En relación con otros alimentos, el vino tinto induce un incremento medio superior en los valores de capacidad antioxidante. Se ha obtenido un aumento máximo del 9% (ORAC-PE) tras el consumo de 294 g de espinacas, del 14% después del consumo de 240 g de fresas (78) y del 15% tras la ingesta de un suplemento de 100 gramos de arándanos en polvo seco (equivalente a 500-650 gramos de arándanos enteros) (79). El consumo de 500 mL de cerveza ocasionó un incremento máximo en la capacidad antioxidante del plasma muy similar al analizado para el vino tinto, aunque también hay que considerar que el volumen ingerido fue bastante superior (86).

La capacidad antioxidante del plasma medida con el método FRAP aumentó un 12,2% tras la ingesta de 294 g de espinacas, un 4,8% después del consumo de 240 g de fresas (78), un 3,5% después de ingerir 100 g de chocolate negro (80) y un 4% tras consumir 400 mL de té verde (20 g de hojas de té seco) (83).

### **Contribución de los compuestos antioxidantes a la capacidad antioxidante del plasma: compuestos fenólicos del vino y antioxidantes endógenos**

Los compuestos antioxidantes del plasma relacionados con el consumo de vino son los compuestos fenólicos que se absorben y los metabolitos originados por la flora colónica, que se reabsorben posteriormente. El organismo absorbe un porcentaje mínimo de la concentración inicial de estos compuestos y, por otra parte, una vez que alcanzan el torrente sanguíneo, sufren una dilución considerable. Tras administrar dosis considerablemente elevadas de *trans*-resveratrol (25 mg/70 kg peso), (+)-catequina (25 mg/70 kg peso) y quercetina (10 mg/70 kg peso), los porcentajes de absorción de estos compuestos fueron 16-17%, 1,2-3% y 2,9-7% de las dosis administradas respectivamente (92). Ningún compuesto fenólico excede una concentración de 1  $\mu$ M en el plasma tras el consumo de 10-100 mg del mismo (93).

Estos niveles tan bajos en el plasma humano constituyen una dificultad para su identificación y cuantificación, ya que la mayoría están por debajo de los límites de detección de las técnicas cromatográficas actuales. Sin embargo, el incremento observado en la capacidad antioxidante del plasma en los estudios indica que la proporción absorbida de estos compuestos sí es suficiente para desempeñar su papel antioxidante y presentar actividad en el organismo.

Hay autores que ofrecen las concentraciones que resultan efectivas para algunos compuestos: 0,75  $\mu$ M para (-)-epigallocatequina, 1,2  $\mu$ M para ácido gálico, 0,25-0,38  $\mu$ M para (-)-epicatequina, (+)-catequina, (-)-galato de epicatequina y (-)-galato de epigallocatequina, con respecto a la inhibición

de la oxidación de LDL al 50% (94). La ingesta diaria de 375 mL de vino tinto durante 2 semanas produjo un aumento significativo de la capacidad antioxidante del plasma medida con el método TBARS y en la concentración plasmática de compuestos fenólicos y sus metabolitos glucuronidado y metilados (95).

Por otra parte, los compuestos antioxidantes endógenos (albúmina, bilirrubina, ácido úrico, glutatión) podrían influir en la capacidad antioxidante del plasma, si modifican su concentración tras el consumo de vino (84,96).

Los métodos ORAC-PE, FRAP, TRAP, ABTS y DPPH miden la capacidad antioxidante del compartimento hidrofílico o acuoso del plasma donde se localizan los compuestos antioxidantes solubles en agua (ácido ascórbico, ácido úrico y proteínas). La actividad antioxidante de los compuestos liposolubles que se encuentran en las lipoproteínas del plasma, tales como carotenoides y tocoferoles, no influyen en las medidas realizadas con estos métodos, y han de estimarse mediante otros ensayos.

Se ha estudiado el porcentaje de contribución de los distintos compuestos endógenos a la capacidad antioxidante total del plasma determinada por los métodos de uso más frecuente en la bibliografía (97). Así, el ácido úrico (60,0% y 57,8% de contribución para FRAP y TRAP respectivamente) y la albúmina (27,8% y 28,0% de contribución para ORAC-PE y ABTS respectivamente), son los compuestos que más contribuyen a la capacidad antioxidante del plasma (Tabla 6).

TABLA 6  
Porcentajes de contribución de los compuestos antioxidantes endógenos a la capacidad antioxidante del plasma medida por los métodos ORAC-PE, FRAP, ABTS y TRAP

% Contribución	-SH (albúmina)	Acido úrico	Acido ascórbico	Carotenoi- des	Tocoferoles
ORAC-PE	27,8	7,1	1,3	0	0,7
FRAP	10,0	60,0	15,0	0	5,0
ABTS	28,0	19,3	3,1	0	1,7
TRAP	24,2	57,8	8,9	0	9,1

En otro trabajo (46), se estudió la contribución de ácido úrico, bilirrubina y albúmina a la capacidad antioxidante del plasma (FRAP), obteniendo valores de contribución del 60,5% y 10% respectivamente. La contribución de albúmina y bilirrubina es escasa y despreciable y no ha de ser tomada en cuenta en las medidas realizadas con este ensayo. Además, a nivel basal existe una relación lineal significativa entre la capacidad antioxidante del plasma (FRAP) y la concentración de ácido úrico ( $r = 0,81889$ ) (38) y entre los valores ORAC-PE del plasma y las concentraciones de albúmina ( $r = 0,81509$ ).

Por otra parte, Ghiselli et al. (32) estimaron que las proteí-

nas contribuyen en un 86% a la capacidad antioxidante del plasma (ORAC-PE). Los grupos -SH de la proteína albúmina son responsables de parte de esta capacidad antioxidante porque reaccionan con radicales peroxilo durante los primeros pasos de la reacción de oxidación, y contribuyen a la duración de la fase de retraso.

En un estudio realizado con 51 sujetos maduros pertenecientes al grupo "Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention", el análisis de regresión múltiple puso de manifiesto una correlación lineal significativa entre la capacidad antioxidante estudiada mediante el método TRAP y las concentraciones de urato y ácido ascórbico. El urato fue la contribución más alta del TRAP medido en el plasma (98). Se señaló la existencia de un porcentaje de contribución al valor TRAP no identificado, que según Metsä-Ketelä (48) podría deberse a la albúmina.

El consumo de 375 mL de vino tinto provocó un aumento significativo de la concentración de urato en suero (83). De la misma forma se observó un aumento significativo en los niveles de urato del plasma después del consumo de una dieta rica en grasas acompañada de 400 mL de vino tinto, y un aumento no significativo en los niveles de grupos -SH y  $\alpha$ -tocoferol. La ingesta de 200 mL de café (60 gramos de café tostado y molido por litro de agua) produjo un incremento estadísticamente significativo de ácido úrico en el plasma. En cambio, otros compuestos como ácido ascórbico o  $\gamma$ -tocoferol no se modificaron, y los grupos -SH tampoco mostraron un incremento significativo (81). La ingesta de una comida rica en grasas acompañada de 300 mg de un extracto de proantocianidinas del grano de la uva provocó también un aumento significativo de grupos -SH y urato (84).

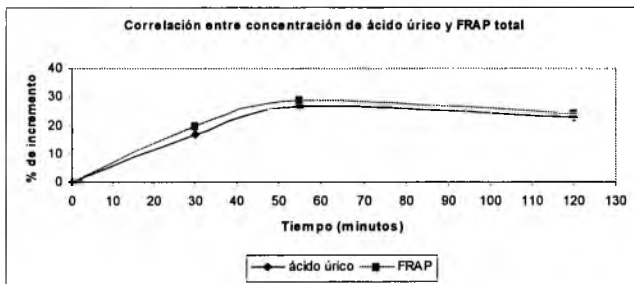
En otros trabajos se describe, por el contrario, cómo los antioxidantes endógenos no se modifican tras la ingesta de alimentos. Los niveles plasmáticos de ácido úrico no sufren cambios significativos después del consumo de té negro y verde (82), 500 mL de cerveza (86) u 80 gramos de chocolate rico en procianidinas (557 mg) (85). Tampoco se observaron cambios en los niveles de bilirrubina tras el consumo de fresas, espinacas o vino tinto (78).

En nuestros estudios, tras el consumo de 300 mL de vino tinto, se obtuvo una correlación lineal positiva muy elevada entre los valores de capacidad antioxidante medidos con el método FRAP y las concentraciones de ácido úrico. En la Figura 2 se observa que el incremento medio del valor FRAP y el incremento de la concentración de ácido úrico siguen una evolución similar (38).

La contribución del ácido úrico al valor FRAP implica que su concentración debe ser determinada y tomada en cuenta cuando se estudian los efectos del consumo de alimentos en la capacidad antioxidante del plasma medida mediante este ensayo. Si se considera que el 60% del valor FRAP del plasma se debe a la actividad antioxidante del ácido úrico, como

apuntan algunos autores (46,97), se podría considerar que el 40% del valor FRAP restante se debe a los compuestos fenólicos del vino y sus metabolitos.

**FIGURA 2**  
Cambios medios (%) en el valor FRAP y la concentración de ácido úrico después del consumo de 300 mL de vino tinto



El efecto del vino sobre este aumento del ácido úrico puede deberse a la acción del alcohol o de los compuestos fenólicos que contiene. El efecto del consumo de alcohol en la concentración de ácido úrico sérica ha sido objeto de discusión recientemente debido a que el mecanismo implicado en tal efecto no se conoce totalmente (99). El etanol induce un aumento en la concentración plasmática de uridina y purinas. La uridina es atribuible a un incremento en la degradación de bases de pirimidina y purina (100). En otros estudios, la relación entre el etanol y la concentración de ácido úrico no es tan evidente. La administración oral de etanol en sujetos sanos no incrementó la actividad de la enzima xantina oxidasa, responsable de la ruta catabólica de síntesis del ácido úrico (101). La administración intravenosa de etanol (0,25-0,35 g/kg/h) durante dos horas, no produjo cambios significativos en los niveles de urato en suero, ni tampoco en la excreción urinaria del ácido úrico (102). Una ingesta de 0,5 g etanol/kg incrementa la concentración de ácido úrico alrededor de 6,7 mg/L en bebedores habituales (>60 g etanol/día), pero no en bebedores ocasionales o no bebedores. Además, los niveles de hipoxantina y xantina en plasma incrementaron sus niveles en mayor medida en el grupo de los bebedores habituales. Parece que en estos últimos ocurre una degradación acelerada de adenina provocada por el aumento en la oxidación del etanol (103).

Por otra parte, el consumo de vino tinto produjo un aumento significativo en el nivel de ácido úrico plasmático (5,6%), sin embargo, la ingesta del mismo vino previamente dealcoholizado no produjo este incremento (83). Parece ser que el metabolismo de la molécula de etanol en el hepatocito produce un incremento en la degradación de ATP hacia los precursores de ácido úrico (nucleótido de adenina) y, por consiguiente, un aumento en la formación de ácido úrico a partir de la degradación de los nucleótidos de las purinas (83).

Además del efecto del alcohol, se ha estudiado la influencia de los polifenoles en los niveles de ácido úrico. Extractos de manzana, que contienen polifenoles de esta fruta, retrasan significativamente la oxidación *in vitro* del urato del plasma mediada por radicales peroxilo; el mecanismo propuesto para la inhibición de dicha oxidación puede ser la reducción de la especie radical de urato por ciertos polifenoles, como quercetina o (+)-catequina, regenerando, por consiguiente, urato en el plasma. Esta reacción es termodinámicamente posible (96). Por otra parte, parece que los compuestos fenólicos son capaces de interactuar con los mecanismos de secreción y reabsorción del ácido úrico aumentando el nivel de éste en el plasma (88).

A pesar de la influencia manifiesta de los compuestos antioxidantes endógenos, la capacidad antioxidante del plasma tras el consumo de vino no puede ser simplemente debida a éstos y, en particular, al ácido úrico. El ácido úrico no afecta los valores ORAC, y además su actividad es muy baja (ORAC-FL) (1,38  $\mu$ M) dando una contribución despreciable a los valores ORAC-FL del plasma. Por tanto otras moléculas, los compuestos fenólicos, además del ácido úrico son responsables del incremento observado en la capacidad antioxidante después del consumo de vino (38). Dietas que contienen alimentos con cantidades significativas de polifenoles influyen en el incremento de la capacidad antioxidante del plasma, además del efecto de los antioxidantes endógenos. En un trabajo realizado con 8 hombres sanos y jóvenes, que ingirieron una comida rica en grasas acompañada de 300 mg de extracto de proantocianidinas del grano de la uva, se constató un aumento significativo de la capacidad antioxidante del plasma medido por TRAP. El valor TRAP teórico, que se calculó a partir de las concentraciones de los antioxidantes anteriores fue menor que el valor TRAP medido en el plasma. Por ello, otros antioxidantes contribuyeron en la capacidad antioxidante del plasma después del suplemento de proantocianidinas. Cuando los sujetos consumieron la comida rica en grasas sin extracto de uva, el valor TRAP teórico coincidió con el valor TRAP medido (84).

Se podría concluir así que el vino interviene en la capacidad antioxidante del plasma pudiendo actuar de forma directa (per se), por su contenido en compuestos fenólicos, e indirecta, ya que puede inducir un aumento en los niveles plasmáticos de otros antioxidantes endógenos.

## REFERENCIAS

1. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch. Biochem. Biophys. 1990; 280: 1-8.
2. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. Am. J. Med. 1991; 91: 31S-39S.
3. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Free Radic. Res. 1996; 25: 57-74.

4. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic. Biol. Med.* 1996; 20: 707-727.
5. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess HG. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2000; 148: 187-197.
6. Diplock AT, Charleux JL, Crozier-willi G, Kok FJ, Rice-Evans C, Roberfroid M, Stahl W, Viña-Ribes J. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Br J Nutr.* 1998; 80 (1): S77-S112.
7. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J.* 1997; 324: 1-18.
8. Taylor A. Cataract: relationship between nutrition and oxidation. *J Am Coll Nutr.* 1993; 12: 138-146.
9. Gerster H.  $\beta$ -Carotene, vitamin E and vitamin C in different stages of experimental carcinogenesis. *Eur J Clin Nutr.* 1995; 49: 155-168.
10. Park YK, Park E, Kim JS, Kang MH. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damage and plasma free radical levels in healthy Koreans. *Mutat Res.* 2003; 529: 77-86.
11. Le Core L, Fustier P, Chalabi N, Bignon YJ, Bernard-Gallon D. Effects of resveratrol on the expression of a panel of genes interacting with the BRCA1 oncosuppressor in human breast cell lines. *Clin Chim Acta* 2004; 344: 115-121.
12. Jampol LM, Ferris FL. Antioxidants and zinc to prevent progression of age-related macular degeneration. *J. Am. Med. Assoc.* 2001; 286 (19): 2466-2468.
13. Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev.* 1998; 56 (11): 317-333.
14. Pannala AS, Chan TS, O'Brien P, Rice-Evans C. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast-reaction kinetics. *Biochem Biophys Res Com.* 2001; 282: 1161-1168.
15. Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med.* 1996; 20: 933-956.
16. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic. Biol Med.* 1997; 22: 749-760.
17. Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hoult JRS, Halliwell B. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: relationship to antioxidant activity and to iron reducing ability. *Biochem Pharmacol.* 1991; 42: 1673-1681.
18. Andriambelosen E, Magnier C, Haan-Archipoff G, Lobstein A, Anton R, Beretz A, Stoclet JC, Andriantsitohaina R. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. *J Nutr.* 1998; 128: 2324-2333.
19. Cook NC, Samman S. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *Nutr Biochem.* 1996; 7: 66-76.
20. Delmas D, Rebe C, Lacour S, Filomenko R, Athias A, Gambert P, Cherkaoui-Malki M, Jannin B, Dubrez-Daloz L, Latruffe N, Solary E. Resveratrol-induced apoptosis is associated with Fas redistribution in the rafts and the formation of a death inducing signaling complex in colon cancer cells. *J Biol Chem.* 2003; 278: 41482-41490.
21. Stewart JR, Artime MC, O'Brian CA. Resveratrol: A candidate nutritional substance for prostate cancer prevention. *J Nutr.* 2003; 133: 2440S-2443S.
22. Renaud S, De Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339: 1523-6.
23. Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, KatAN MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993; 342: 1007-1011.
24. Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Alcohol consumption, serum low density lipoprotein cholesterol concentration, and risk of ischaemic heart disease: six year follow up in the Copenhagen male study. *Br Med J.* 1996; 312: 736-741.
25. McElduff P, Dobson AJ. How much alcohol and how often? Population based case-control study of alcohol consumption and risk of a major coronary event. *Br Med J.* 1997; 314: 1159-1167.
26. Frankel N, Meyer AS. Review The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agric.* 2000; 80: 1925-1941.
27. Wang CC, Chu CY, Chu KO, Choy KW, Khaw KS, Rogers MS, Pang CP. Trolox-Equivalent Antioxidant capacity Assay Versus Oxygen radical Absorbance Capacity Assay in plasma. *Clin Chem.* 2004; 50 (5): 952-954.
28. Pérez DD, Leighton F, Aspee A, Aliaga C, Lissi E. A comparison of methods employed to evaluate antioxidant capabilities. *Biol. Res.* 2000; 33 (2): 71-77.
29. Schwarz K, Bertelsen G, Nissen LR, Gardner PT, Heinonen MI, Hopia A, Huynh-BA T, Lambelet P, Mcpail D, Skibsted LH, Tijburg. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *Eur Food Res Technol.* 2001; 212 (3): 319-328.
30. Arnao MB, Cano A, Acosta M. Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion. *Free Rad Res.* 1999; 31: S89-96.
31. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Locke S. Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation: The important contribution made by plasma proteins. *FEBS Lett.* 1985; 187 (1): 33-37.
32. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity is a tool to asses redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29 (11): 1106-1114.
33. Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 2002 ; 127: 183-198.
34. Cao G, Prior RL. Measurent of Oxygen Radical Absorbance Capacity in biological samples. *Meth Enzymol.* 1999; 299 (5): 50-62.
35. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 4619-4626.

36. Davalos A, Bartolome B, Suberviola J, Gomez-Cordoves C. Orac-fluorescein as a model for evaluating antioxidant activity of wines. *Pol J Food Nutr Sci.* 2003; 12 (SI 1): 133-136.
37. Davalos A, Gomez-Cordoves C, Bartolome B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC-Fluorescein) Assay. *J Agric Food Chem.* 2004; 52 (1): 48-54.
38. Fernández-Pachón MS, Villaño D, Troncoso AM, García-Parrilla MC. Antioxidant Capacity of Plasma after red wine intake in human volunteers. *J Agric Food Chem.* 2005; 53 (12): 5024-5029.
39. Valkonen M, Kuusi T. Spectrophotometric assay for total peroxy radical-trapping antioxidant potential in human serum. *J Lipid Res.* 1997; 38: 823-833.
40. Tubaro F, Ghiselli A, Papuzzi P, Maiorino M, Ursini F. Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radic Biol Med.* 1998; 24: 1228-1234.
41. Lussignoli S, Fraccaroli M, Andrioli G, Brocco G, Bellavite P. A microplate-based colorimetric assay of the total peroxy radical trapping capability of human plasma. *Anal Biochem.* 1999; 269: 38-44.
42. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol.* 1995; 28: 25-30.
43. Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric.* 1998; 76: 270-276.
44. Cano A, Hernández-Ruiz J, García-Cánovas F, Acosta M, Arnao MB. An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochem Anal.* 1998; 9: 196-202.
45. Alonso AM, Domínguez C, Guillén DA, Barroso CG. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 3112-3115.
46. Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal Biochem.* 1996; 239: 70-76.
47. Kohen R, Beit-Yannai E, Berry EM, Tirosh O. Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry. *Meth Enzymol.* 1999; 300: 285-296.
48. Metsä-Ketelä T. Luminescent assay for total peroxy radical-trapping capability of plasma. *Biolumin. Chemilumin. Proc Int Symp. 6<sup>th</sup> Meeting 1991*; 389-392.
49. Alho H, Leinonen J. Total antioxidant activity measured by chemiluminescence methods. *Meth Enzymol.* 1999; 299: 3-14.
50. Winston GW, Regoli F, Dugas AJ, Fong JH, Blanchard KA. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radic Biol Med.* 1998; 24: 480-493.
51. Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Pasdeloup N, Brissot P, Cillard P, Cillard J. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem Pharmacol.* 1993; 45 (1): 13-19.
52. Frankel EN. In search for the better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends Food Sci Technol.* 1993; 4: 220-225.
53. Villaño D, Fernández-Pachón MS, Troncoso AM, García-Parrilla MC. The antioxidant activity of wines determined by the ABTS method: influence of sample dilution and time. *Talanta* 2004; 64: 501-509.
54. Girotti S, Ferri E, Maccagnani L, Budini R, Bianchi G. Plasma antioxidant capacity determination: comparative evaluation of chemiluminescent and spectrophotometric assays. *Talanta* 2002; 56: 407-414.
55. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Hampsch-Woodill M, Huang D, Ou B, Jacob R. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC<sub>FL</sub>)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 3273-3279.
56. Aldini G, Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI. A method to measure the oxidizability of both the aqueous and lipid compartments of plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001; 31 (9): 1043-1050.
57. Alcolea JF, Cano A, Acosta M, Arnao MB. Hydrophilic and lipophilic antioxidant activities of grapes. *Nahrung* 2002; 46: 353-356.
58. Gorinstein S, Martin-Belloso O, Katrich E, Lojek A, Ciz M, Gligelmo-Miguel N, Haruenkit R, Park YS, Jung ST, Trakhtenberg S. Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. *J Nutr Biochem.* 2003; 14: 154-159.
59. Fernández-Pachón MS, Villaño D, García-Parrilla MC, Troncoso AM. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Anal Chim Acta* 2004; 513: 113-118.
60. Fogliano V, Verde V, Randazzo G, Ritieni A. Method for measuring antioxidant activity and Its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J Agric Food Chem.* 1999; 47: 1035-1040.
61. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different In Vitro assays. *J Nutr.* 2003; 133: 2812-2819.
62. Frankel EN, Waterhouse AL, Teissedre PL. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human Low-Density Lipoproteins. *J Agric Food Chem.* 1995; 43: 890-894.
63. Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, Scaccini C. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *J Agric Food Chem.* 1998; 46 (2): 361-367.
64. Cao G, Prior RL. Red wine in moderation: potential health benefits independent of alcohol. *Nutr Clin Care* 2000; 3: 76-82.
65. Vinson JA, Hontz BA. Phenol Antioxidant Index: Comparative antioxidant effectiveness of red and white Wines. *J Agric Food Chem.* 1995; 43: 401-403.
66. Sánchez-Moreno C, Jiménez-Escrig A, Saura-Calixto F. LDL oxidizability indexes in measurement of antioxidant activity in selected Spanish wines. *Nutr Res.* 2002; 22: 507-517.

67. Brennehan CA, Ebeler SE. Chromatographic separations using solid-phase extraction cartridges: Separation of wine phenolics. *J Chem Educ.* 1999; 76 (12): 1710-1711.
68. Simonetti P, Pietta P, Testolin G. Polyphenol content and total antioxidant potential of selected Italian wines. *J Agric Food Chem.* 1997; 45: 1152-1155.
69. De Beer D, Joubert E, Gelderblom WCA, Manley M. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: Free Radical Scavenging. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 902-909.
70. Arnous A, Makris DP, Kefalas P. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant Characteristics of Aged Red Wines. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 5736-5742.
71. Arnous A, Makris DP, Kefalas P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *J Food Composition Anal.* 2002; 15: 655-665.
72. Brenna OV, Pagliarini E. Multivariate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 4841-4844.
73. Burns J, Gardner PT, O'neil J, Crawford S, Morecroft I, Mcphail DB, Lister C, Matthews D, Maclean MR, Lean MEJ, Duthie GC, Crozier A. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. *J Agric Food Chem.* 2000; 48: 220-230.
74. Kerry NL, Abbey M. Red wine and fractionated phenolic compound prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. *Atherosclerosis* 1997; 135: 93-102.
75. Maxwell SRJ. Wine antioxidants and their impact on antioxidant function in vivo. *ACS Symposium Series* 1997; 661: 150-165.
76. Gardner PT, Mcphail DB, Crozier A, Duthie GG. Electron spin resonance (ESR) spectroscopic assesment of the contribution of quercetin and other flavonols to the antioxidant capacity of red wines. *J Sci. Food Agric.* 1999; 79: 1011-1014.
77. Alonso AM, Guillén DA, Barroso CG, Puertas B, García A. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and Its correlation with polyphenolic content. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 5832-5836.
78. Cao G, Russell RM, Lischner N, Prior RL. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *J Nutr.* 1998; 128: 2383-2390.
79. Kay CD, Holub BJ. The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. *Br J Nutr.* 2002; 88: 389-397.
80. Serafini M, Bugianesi R, Maiani G, Valtuena S, DE Santis S, Crozier A. Plasma antioxidants from chocolate. *Nature* 2003; 424 (6952): 1013.
81. Natella F, Nardini M, Giannetti I, Dattilo C, Scaccini C. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 6211-6216.
82. Leenen R, Roodenburg AJ, Tijburg LB, Wiseman SA. A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans. *Eur J Clin Nutr.* 2000; 54: 87-92.
83. Caccetta RAA, Burke V, Mori TA, Beilin LJ, Puddey IB, Croft KD. Red wine polyphenols, in the absence of alcohol, reduce lipid peroxidative stress in smoking subjects. *Free Radic Biol Med.* 2001; 30 (6): 636-642.
84. Natella F, Belelli F, Gentili V, Ursini F, Scaccini C. Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 7720-7725.
85. Rein D, Lotito S, Holt RR, Keen CL, Schmitz HH, Fraga CG. Epicatechin in human plasma: In vivo determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. *J Nutr.* 2000; 130: 2109S-2114S.
86. Ghiselli A, Natella F, Guidi A, Montanari L, Fantozzi P, Scaccini C. Beer increases plasma antioxidant capacity in humans. *J Nutr Biochem.* 2000; 11: 76-80.
87. Serafini M, Maiani G, Ferro-Luzi A. Alcohol-free wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J Nutr.* 1998; 128: 1003-1007.
88. Natella F, Ghiselli A, Guidi A, Ursini F, Scaccini C. Red wine mitigates the postprandial increase of LDL susceptibility to oxidation. *Free Radic. Biol Med.* 2001; 30 (9): 1036-1044.
89. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic. Biol Med.* 1999; 27 (11-12): 1173-1181.
90. Day AP, Kemp HJ, Bolton C, Hartog M, Stansbie D. Effect of concentrated red grape juice consumption on serum antioxidant capacity and low-density lipoprotein oxidation. *Ann Nutr Metab.* 1997; 41: 353-357.
91. Rea CA, Maxwell SR, Maslin DJ, Thomason HL, Thorpe GH. Anticoagulant effects of antioxidant capacity [letter; comment]. *Ann Clin Biochem.* 1996; 33 (Pt 2): 174.
92. Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ. Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clin Biochem.* 2003; 36: 79-87.
93. Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr.* 2000; 130: 2073S-2085S.
94. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 1997; 2: 152-159.
95. Tsang C, Higgins S, Duthie GG, Duthie SJ, Howie M, Mullen W, Lean MEJ, Crozier A. The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers. *Brit J Nutr.* 2005; 93: 233-240.
96. Lotito SB, Frei B. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. *Free Radic. Biol Med.* 2004; 36 (2): 201-204.
97. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys.* 2004; 430: 97-103.
98. Nyyssönen K, Porkkala-Sarataho E, Kaikkonen J, Salonen JT. Ascorbate and urate are the strongest determinants of plasma antioxidant capacity and serum lipid resistance to oxidation in Finnish men. *Atherosclerosis* 1997; 130: 223-233.
99. Iberopoulos EN, Miltiados GA, Elisaf MS. Alcohol intake, serum uric acid concentrations, and risk of gout. *Lancet* 2004; 364: 246-247.
100. Yamamoto T, Moriwaki Y, Takahashi S, Yamakita J, Tsutsumi Z, Ohata H, Hiroishi K, Nakano T, Higashino K. Effect of ethanol and fructose on plasma uridine and purine bases. *Metabolism* 1997; 46 (5): 544-547.
101. Yamamoto T, Moriwaki Y, Takahashi S, Tsutsumi Z, Yamakita J, Nasako Y, Hiroishi K, Higashino K. Determination of human

- plasma xanthine oxidase activity by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr. B* 1996; 681 (2): 395-400.
102. Faller J, Fox IH. Ethanol-induced hyperuricemia. Evidence for increased urate production by activation of adenine nucleotide turnover. *N Engl J Med.* 1982; 307 (26): 1598-1602.
  103. Nishimura T, Shimizu T, Mineo I, Kawachi M, Ono A, Nakajima H, Kuwajima M, Kono N, Matsuzawa Y. Influence of daily drinking habits on ethanol-induced hyperuricemia. *Metabolism* 1994; 43 (6): 745-748.
  104. Campos AM, Lissi EA. Total antioxidant potential of Chilean wines. *Nutrition Research* 1999; 16 (3): 385-389.
  105. Piljac J, Martinez S, Valek L, Stipcevic T, Ganic KK. A comparison of methods used to define the phenolic content and antioxidant activity of croatian wines. *Food Technology and Biotechnology* 2005; 43 (3): 271-276.
  106. Pellegrini N, Simonetti P, Gardana C, Brenna O, Brighenti F, Pietta P. Polyphenol content and total antioxidant activity of vini novelli (Young Red Wines). *J Agric Food Chem.* 2000; 48 (3): 732-735.
  107. Psarra E, Makris DP, Kallithraka S, Kefalas P. Evaluation of the antiradical and reducing properties of selected Greek white wines: correlation with polyphenolic composition. *J Sci Food Agric.* 2002; 82: 1014-1020.
  108. Girotti S, Bolelli L, Budini R, Arfelli G. Comparison of analytical methods in determining total antioxidant capacity in red wine. *Analytical Letters* 2002; 35 (4): 747-758.
  109. Höner K, Cervellati R, Neddens C. Measurements of the in vitro antioxidant activity of German white wines using a novel method. *Eur Food Res Technol.* 2002; 214: 356-360.
  110. Sánchez-Moreno C, Cao G, Ou B, Prior RL. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen Radical Absorbance Capacity comparison with nontraditional wines obtained from Highbush Blueberry. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 4889-4896.
  111. Landrault N, Poucheret P, Ravel P, Gasc F, Cros G, Teissedre PL. Antioxidant capacities and phenolic levels of french wines from different varieties and vintages. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 3341-3348.

Recibido: 17-01-2006

Aceptado: 27-04-2006

## Ácido linoléico conjugado (CLA) e sua relação com a doença cardiovascular e os fatores de risco associados

Letícia Groff Funck, Daniel Barrera-Arellano y Jane Mara Block

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CAL), CCA, UFSC, Florianópolis, Brasil  
Laboratório de Óleos e Gorduras, Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), UNICAMP, Campinas, Brasil

**RESUMO.** O termo CLA (ácido linoléico conjugado) corresponde a uma mistura de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico, sendo que, dois destes isômeros (9*c*, 11*t* e 10*t*, 12*c*) possuem atividade biológica. Esta revisão aborda aspectos relacionados ao CLA (fontes, síntese, distribuição em tecidos humanos, atividades fisiológicas), bem como sua relação com as doenças cardiovasculares. A maioria dos estudos atribui efeitos benéficos associados com o consumo de CLA na redução de fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como redução de colesterol e triacilgliceróis plasmáticos. Outras pesquisas demonstram a redução de processos ateroscleróticos. No entanto, vários estudos indicam que o CLA não apresenta efeitos benéficos ou inclusive pode apresentar efeitos negativos. Portanto e a pesar do grande número de estudos relacionados ao CLA, considera-se prematura qualquer recomendação para a ingestão de estes compostos, além dos já presentes naturalmente nos alimentos de uma dieta variada.

**Palavras chave:** CLA, doenças cardiovasculares, colesterol plasmático, triacilgliceróis, lipoproteínas.

**SUMMARY.** Conjugated linoleic acid (CLA) and its relationship with cardiovascular disease and associated risk factors. The term CLA (conjugated linoleic acid) corresponds to a mixture of positional and geometric isomers of linoleic acid, of which two (9*c*/, 11*t*/ and 10*t*/, 12*c*/) have biological activity. This review covers aspects related to CLA (sources, synthesis, distribution in human tissues, physiological activity), as well as its relationship with cardiovascular diseases. Most studies attribute the beneficial effects associated to the consumption of CLA to the reduction of risk factors for the development of cardiovascular diseases, such as the reduction of plasmatic triacylglycerols and cholesterol. Other research demonstrates the reduction of atherosclerotic processes. However, many studies indicate that CLA does not present beneficial effects or may even present negative effects. Thus, although there are a great number of studies related to CLA, we consider it premature to make any recommendation for the ingestion of these compounds, apart from those naturally present in a healthy diet.

**Key words:** CLA, cardiovascular disease, plasmatic cholesterol, triacylglycerols, lipoproteins.

### INTRODUÇÃO

O termo ácido linoléico conjugado (CLA), refere-se a uma mistura de isômeros do ácido linoléico (ácido *cis*-9, *cis*-12 octadecadienóico) (1) e foi descoberto por cientistas da Universidade de Wisconsin em Madison (USA) no final da década de 70. Este grupo de compostos têm sido objeto de um grande número de pesquisas e representa um novo e extenso campo da ciência de ácidos graxos e sua relação com a saúde humana. Entre os efeitos benéficos potenciais relatados estão efeitos na composição corporal, nas doenças cardiovasculares e no sistema imunológico (diabetes e câncer).

CLA é a denominação comum de um grupo de ácidos graxos com 18 átomos de carbono, consistindo num grupo de isômeros de posição e geométricos com duas duplas ligações conjugadas, ou seja, duplas que não são separadas por um grupo metileno, como no caso do ácido linoléico (LA), que é um dieno não-conjugado (1). A estrutura do ácido linoléico e de dois de seus isômeros conjugados pode ser observada na Figura 1.

Diferente do LA, doze diferentes isômeros de CLA são possíveis, dependendo da localização das duplas ligações e de sua isomeria geométrica (1). A distinção dos isômeros é importante uma vez que os mesmos podem apresentar diferentes atividades *in vivo* (1-3). As duplas ligações no CLA podem estar localizadas nas posições C8 e C10; C9 e C11; C10 e C12 ou C11 e C13, originando assim a designação do dieno conjugado. Cada uma das duplas ligações pode estar na configuração *cis* ou *trans* ou nas diversas combinações *cis-trans* nas moléculas (4).

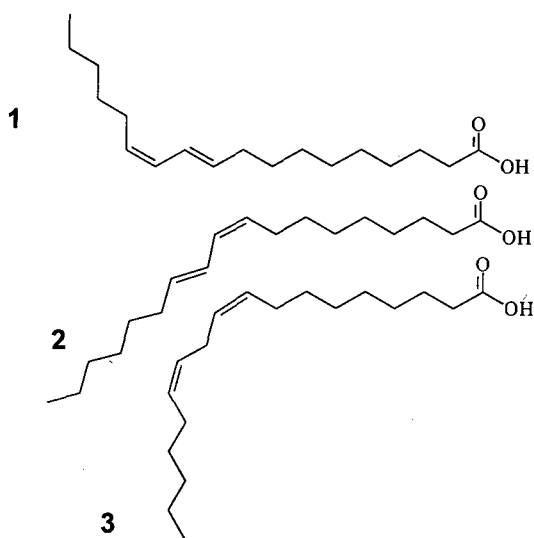
Dois dos isômeros de CLA (9*c*, 11*t* e 10*t*, 12*c*) são conhecidos por possuírem atividade biológica. Isolar cada um destes isômeros é difícil e caro, sendo que a maioria dos estudos com CLA tem sido realizada utilizando uma mistura comercialmente produzida a partir de óleos vegetais, contendo de 40% a 45% de cada isômero (1,3,4).

A presente revisão tem como objetivo apresentar e comentar pesquisas relacionadas com a influência do CLA na prevenção de doenças cardiovasculares e com os fatores de risco associados. Para tanto, foram abordados os seguintes

temas: fontes de CLA, síntese de CLA, ingestão e concentração de CLA em tecidos humanos, atividade fisiológica, relação com doenças cardiovasculares, segurança na alimentação, suplementação e limitações nos estudos com CLA.

FIGURA 1

Estruturas dos isômeros 1) CLA 10t,12c. 2) CLA 9c,11t. 3) ácido linoléico (C18:2 (9c, 12c))



### Fontes de CLA

O CLA é produzido naturalmente pelas bactérias fermentativas presentes no estômago (rúmen) de animais ruminantes e está presente em maiores concentrações em carnes, leite e seus derivados, sendo C18:2 (9c,11t) o isômero predominante (5-7).

As concentrações de CLA em produtos lácteos variam de 2,9 a 8,92 mg/g de gordura, sendo que o isômero 9c,11t representa entre 73% a 93% do total de CLA (1). Na Tabela 1 podem ser observadas as principais fontes de CLA na dieta.

Fritsche e Steinhart determinaram o teor de CLA em alimentos consumidos na Alemanha, sendo os produtos lácteos considerados a principal fonte (8). O estudo realizado por Shantha, Crum e Decker nos Estados Unidos mostrou que o teor de CLA no leite variou de 0,63% a 1,16% e em queijos variou de 0,40% a 1,70% do total de ácidos graxos. Em carnes, essa quantidade variou entre 0,11% (em animais não-ruminantes como coelhos) e 1,20% (em ruminantes como o cordeiro). Em carnes processadas como mortadelas e salsichas, a variação foi de 0,27% a 0,44%, sendo que as concentrações de CLA não parecem ser influenciadas pelas condições de processamento e fermentação (9). A concentração de CLA em peixes foi de 0,01% a 0,09%, e em óleos vegetais comestíveis (soja, oliva, girassol e algodão) e margarinas os teores foram pouco expressivos (<0,01%) (8). Chin, Liu,

Storkson, Ha e Pariza reportaram um total de 0,48; 0,55 e 0,70 g de CLA/100 g de lipídios em iogurte, leite homogêneo e leite condensado respectivamente (10).

TABELA 1  
Teor de CLA em alimentos não cozidos

Alimento	Total de CLA (mg/g de gordura)	Isômero 9c, 11t (%)
<i>Carnes</i>		
Carne bovina moída	4,3	85
Lingüiça bovina defumada	3,8	84
Carne de vitela	2,7	84
Carne de cordeiro	5,6	92
Carne de porco	0,6	82
<i>Aves domésticas</i>		
Frango	0,9	84
Carne de peru moída	2,5	76
<i>Frutos do mar</i>		
Salmão	0,3	n.d.*
Truta	0,5	n.d.*
Camarão	0,6	n.d.*
<i>Laticínios</i>		
Leite homogeneizado	5,5	92
Manteiga	4,7	88
Coalhada	4,6	90
Iogurte natural	4,8	84
Sorvete	3,6	86
Queijo Cheddar	3,6	93
Queijo Mussarela	4,9	95
Queijo Cottage	4,5	83
<i>Óleos vegetais</i>		
Algodão	0,7	44
Girassol	0,4	38
Canola	0,5	44
Milho	0,2	39

\*n.d. – não detectável.

Fonte: (10).

Concentrações de CLA foram determinadas em carne bovina crua, cozida, frita, assada, em microondas e também em carne estocada sob refrigeração (9). Os processos estudados (fritura, cozimento, assado e microondas) não produziram qualquer mudança expressiva no conteúdo de CLA (0,31 a 0,85 g/100 g de gordura). As reações de oxidação também não alteraram os teores de CLA, sugerindo que estes não são modificados durante o processamento e estocagem. Werner, Luedecke e Shultz quantificaram isômeros de CLA em três tipos de queijos Cheddar e não houve diferença significativa na concentração total de CLA, mas houve na concentração individual dos isômeros (por exemplo, 9c, 11t), provavelmente devido a diferenças nas culturas utilizadas e

nas condições de processamento dos queijos (12). Shanta, Ram, O'Leary, Hicks e Decker verificaram que iogurte desnatado feito com leite pasteurizado tem o conteúdo de CLA aumentado (5,25 mg de CLA/g de gordura) em relação ao não pasteurizado (4,40 mg CLA/g de gordura) (13).

### Síntese de CLA

A formação de CLA tem sido atribuída aos fatores: oxidação do ácido linoléico via radicais livres, aquecimento e reações enzimáticas microbianas (isomerização) envolvendo os ácidos linoléico e linolênico no rúmen de gado bovino e de outros animais ruminantes (14).

Um grande número de espécies de bactérias do rúmen (o primeiro compartimento do estômago de ruminantes) produzem CLA a partir da biohidrogenação do ácido linoléico e linolênico através de enzimas específicas (linoleato isomerases) (2,5). Estas bactérias podem ser divididas em dois grupos: bactérias do grupo A) hidrogenam, principalmente, ácidos linoléico e linolênico formando ácido 11-trans octadecenóico ou ácido vacênico (C18:1(11 trans)), além de menores quantidades de outros isômeros de posição e estereoisômeros do mesmo ácido e bactérias do grupo B) que são capazes de hidrogenar uma ampla variedade de ácidos octadecenóicos formando ácido esteárico (15).

A principal via para a formação do isômero CLA 9c,11t em leite de vaca parece ser por meio da isomerização do LA (ácido alfa-linoléico) a CLA pela bactéria gram-negativa e anaeróbica *Butyvirbio fibrisolvens*. O isômero 9c,11t pode ser absorvido ou biohidrogenado para ácido vacênico (ácido 11t-octadecenóico). Após a absorção, este ácido pode ser convertido a CLA 9c,11t pela enzima estearil-CoA desaturase (SCD) ou delta-9 desaturase (2,4). Como visto, o CLA também é formado como um intermediário da biohidrogenação do ácido linoléico (15).

Os níveis e a distribuição de isômeros de CLA em carne bovina e leite podem ser afetadas pela população microbiana no rúmen e pela alimentação do animal (4). Uma grande quantidade de ácido linoléico na dieta e um aumento na biohidrogenação são os dois principais fatores que contribuem para elevar a concentração dos compostos intermediários, como CLA e ácidos graxos *trans* monoinsaturados (15).

O ácido linoléico pode ser convertido em CLA 10t,12c através da ação da bactéria *Propionibacter* (16). O leite de vaca pode conter CLA 10t,12c, tanto quanto ácido 10t octadecenóico. Por analogia à formação do ácido 11t octadecenóico na via de biohidrogenação de CLA 9c,11t; o ácido 10t octadecenóico também pode formar CLA 10t, 12c por biohidrogenação do ácido linoléico no rúmen. Visto que mamíferos não possuem a enzima delta-12 desaturase, segue-se que CLA 10t,12c presente em tecidos de ruminantes deve provir de sua absorção pelo trato gastrointestinal (2,15).

Comercialmente os isômeros de CLA podem ser

produzidos por tratamentos térmicos a pH altos ou por hidrogenação parcial do ácido linoléico (18). O principal objetivo da síntese química é a obtenção de um produto de composição definida e com atividade biológica máxima. Assim, têm-se desenvolvido métodos para transformar o ácido linoléico em seus isômeros CLA 9c,11t e 10t,12c (2). O conteúdo total de CLA e sua distribuição isomérica são os dois parâmetros de qualidade mais importantes em produtos comerciais. Fontes comerciais como as cápsulas de CLA representam uma fonte concentrada de CLA e tem sido utilizadas para suplementar a dieta e/ou complementar as quantidades presentes nos alimentos, muito embora não existam recomendações nutricionais sobre a ingestão de CLA.

Yu, Adams e Watkins analisaram quatro produtos de CLA (cápsulas) observando diferenças significativas entre eles em relação a: conteúdo de CLA (variação de 65,1 a 77,9 mg/100mg do total de ácidos graxos), distribuição de isômeros (isômero CLA 9c, 11t variou de 24,3 a 37,7 mg/100 mg do total de ácidos graxos) e composição de ácidos graxos (ácidos palmítico, esteárico e oléico foram detectados em todas as amostras, mas o ácido linoléico não estava presente numa delas) – as quantidades de ácidos graxos não-CLA variaram consideravelmente em cada amostra (19). A diferença no conteúdo total de CLA pode ser devido ao nível de ácido linoléico nos óleos originais usados para produzir CLA (quanto menor o teor de ácido linoléico, menor será a quantidade de CLA produzida), às condições nas reações de isomerização (influenciam as concentrações de isômeros *t*, *t*-CLA e *c*, *c*-CLA) e aos outros ingredientes adicionados nos produtos, que podem influenciar a atividade biológica dos produtos de CLA. Estes outros ingredientes deveriam ser informados ao consumidor (19).

### Ingestão e concentração de CLA em tecidos humanos

A ingestão de ácido rumênico (RA = C18(2) 9c,11t) nos Estados Unidos e Alemanha é estimada em 50 a 250 mg/dia e 350 a 430 mg/dia respectivamente (20). A ingestão de CLA na população alemã foi avaliada de acordo com seus hábitos de consumo e reportou-se uma ingestão diária para mulheres de 360 mg/d e para homens de 440 mg/d (8). No Canadá, ao estudar-se um pequeno grupo de jovens (n = 22), foi estimada a ingestão média diária do isômero do CLA 9c,11t de 94,9 ± 40,6 mg/d, com variação entre 15 e 174 mg/d (21).

A concentração de CLA em leite humano e em fórmulas infantis foi determinada. As amostras (n = 14) foram coletadas entre 3 dias e 10 meses após o parto e congeladas. A concentração total de CLA variou de 2,23 a 5,43 mg/g de gordura e em 57% das amostras o isômero 9c,11t correspondeu a uma faixa de 83 a 100% (22). Não foi verificado nenhum efeito estatístico significativo entre o teor de CLA e o tempo de coleta do leite após o parto (20). A variação na quantidade total de CLA e do isômero 9c,11t em leite humano deve-se

provavelmente à variação na ingestão de CLA, já que humanos não sintetizam esta molécula (15).

Nas fórmulas infantis ( $n = 4$ ) a concentração de  $9c,11t$  variou de quantidades indetectáveis a 2,04 mg/g de gordura, enquanto que o CLA total variou de quantidades indetectáveis a 2,50 mg/g de gordura. Foram verificados altos teores do isômero  $9c,11t$  em algumas fórmulas infantis, porque estas preparações podem conter até 30% de seus lipídios totais provenientes de sebo bovino (2,6 mg de CLA/g de gordura) (22).

A maior parte do CLA detectável em tecidos humanos é proveniente da dieta, ainda que possa ser produzido por síntese endógena através da desaturação de C18:1  $11t$  (ácido vacênico) pela delta-9 desaturase (6). O CLA é incorporado em tecidos fetais e de neonatos. A ingestão de CLA durante a lactação resulta no aumento da concentração de CLA no leite materno. Foi reportada a concentração de CLA  $9c,11t$  em leite materno de aproximadamente 5,8 mg de CLA/100g de gordura em mulheres australianas e de 3,64 mg de CLA/100 g de gordura em mulheres americanas (23). A suplementação com CLA em mulheres lactantes tem mostrado redução no conteúdo de gordura no leite (20).

Em tecido adiposo humano foi verificada a presença de dois isômeros menos abundantes ( $9t,11c$  e  $9c,11c$ ), além dos isômeros de CLA  $9c,11t$  e  $9t,11t$  (24).

### Atividade fisiológica

Entre os benefícios à saúde atribuídos ao CLA destacam-se: anticarcinogênese (25,26), antiaterosclerose (27), inibição de radicais livres (28,29), alteração na composição e no metabolismo do tecido adiposo (30-34), imunomodulação (35,36), atividade antibacteriana (19,37) e antidiabéticas (18,38).

Muitos estudos têm sido realizados utilizando misturas de isômeros de CLA (Tabela 2, o que torna difícil explicar os efeitos ou mecanismos encontrados e, principalmente, a que isômero atribuir os mesmos. Diferentes isômeros apresentam atividades distintas e mecanismos de ação em tecidos e órgãos específicos, por exemplo, o isômero CLA  $9c,11t$  é associado com propriedades anticarcinogênicas e o isômero CLA  $10t,12c$  está associado com efeitos no metabolismo de lipídios e composição corpórea (2).

A maioria das pesquisas publicadas utilizam CLA sintetizado por isomerização do ácido linoléico e que contém predominantemente os isômeros CLA  $9c,11t$  (43%) e CLA  $10t,12c$  (44%). Os isômeros ativos do CLA ainda não foram totalmente identificados, mas tem-se assumido que o isômero  $9c,11t$  é a forma ativa, já que constitui 80 a 90% dos isômeros encontrados em gorduras animais (35).

## CLA E doenças cardiovasculares

### a) Estudos em animais

Estudos em animais indicam que o CLA apresenta efeitos positivos sobre os fatores de risco relacionados com doenças cardiovasculares, reduzindo o colesterol plasmático e os níveis de triacilgliceróis e melhorando a sensibilidade à insulina (4). Detalhes relacionados com os estudos realizados em animais, determinando o efeito de dietas enriquecidas com CLA no metabolismo de lipoproteínas e aterosclerose, estão apresentados na Tabela 2.

Lee, Kritchevsky e Pariza demonstraram que em coelhos o CLA reduz significativamente as concentrações de triacilgliceróis plasmáticos e os níveis de LDL-colesterol (lipoproteína de baixa densidade), porém sem alteração significativa nos níveis de HDL (lipoproteína de alta densidade) (39).

Neste mesmo estudo, os exames histológicos mostraram que a superfície da aorta envolvida com lesões ateroscleróticas foi 12% menor em coelhos suplementados com dieta aterogênica (14% de lipídios e 0,1% de colesterol) adicionada de 0,5 g de CLA/dia durante 22 semanas. Os autores esclarecem que (este valor não foi estatisticamente significativo, mas foi biologicamente relevante).

Na avaliação histológica, da deposição de lipídios e desenvolvimento de tecido conectivo nas artérias torácica e abdominal, foi observado um número menor de casos classificados como graves no grupo suplementado com CLA em relação ao grupo controle.

Embora dietas com CLA (0,1; 0,5 e 1 g /100g de ração, durante 90 dias) em coelhos machos New Zealand (brancos) tenham aumentado a concentração lipídica (colesterol total e triacilgliceróis) no plasma, quando comparada com a dieta controle, ocorreu uma substancial regressão (-31%) no grupo alimentado com 1% de CLA) na aterosclerose estabilizada no arco aórtico (provocada por dietas contendo 0,1-0,2% de colesterol). O mecanismo pelo qual CLA reduz o processo de aterosclerose ainda é incerto (40). O mesmo grupo de pesquisadores em um estudo posterior (41) com a mesma espécie de coelhos, alimentados com dieta aterogênica (com 0,2% de colesterol) adicionada de 0,05, 0,075, 0,10 ou 0,50 g de CLA/100 g de ração (42,8% do isômero  $9c,11t$  e 44,8% do isômero  $10t,12c$ ) durante 90 dias observaram que a gravidade da aterosclerose nas artérias aórtica e torácica foi reduzida com o aumento dos níveis de CLA na dieta. Na artéria aórtica, a gravidade das lesões diminuiu de 20, 31, 40 e 60% em coelhos alimentados com 0,05; 0,075; 0,10 e 0,50% de CLA, respectivamente, e na artéria torácica foi de 8, 24, 33 e 56% conforme o aumento dos níveis de CLA na dieta. Neste estudo, a gravidade da aterosclerose foi reduzida em 37,5% com a ingestão de 0,1 g de CLA/100 g de ração. Os referidos estudos indicam que os efeitos observados ocorrem com baixos níveis de ingestão de CLA, ou seja, em concentrações compatíveis às encontradas numa dieta normal.

TABELA 2  
Efeito das dietas enriquecidas com CLA no metabolismo de lipoproteínas plasmáticas e aterosclerose

Referência	Modelo animal	Detalhes da dieta	CLA (g/100g de ração)	Período de estudo (dias)	TG	C T	H DL	L D L	Aterosclerose
(40)	Coelhos	Gordura: 140 g/kg CLA (composição de isômeros não determinada) – 0,5 g/d	5	154	↓	↓	↔	↓	↓
(43)	Hamsters	Gordura: 150 g/kg (35 % da energia) Dieta hipercolesterolêmica (controle) Baixo-CLA (94% 9c, 11t; 9t, 11c; 10t, 12c) Médio-CLA (94% 9c, 11t; 9t, 11c; 10t, 12c) Alto-CLA ( 94% 9c, 11t; 9t, 11c; 10t, 12c)	-- 0,06 0,11 1,1	77	-- ↓ ↓ ↑	-- ↓ ↓ ↓	-- ↔ ↔ ↔	-- ↓ ↓ ↓	-- ↓ ↓ ↓
(44)	Hamsters machos F <sub>1</sub> B	Dieta hipercolesterolêmica (controle) Dieta hipercolesterolêmica mais 1% de CLA (p/p) (94% 9c, 11t; 9t, 11c; 10t, 12c) Dieta hipercolesterolêmica mais 1% de LA (p/p)	-- 1 --	84	-- ↔ ↓	-- ↓ ↓	-- ↔ ↔	-- ↓ ↓	-- ↓ ↔
(45)	Camundongos C57BL/6	Gordura: 150 g/kg Dieta baixa em CLA (composição de isômeros não determinada) Dieta rica em CLA (composição de isômeros não determinada)	-- 2,5 5	105	↔ ↓	↔ ↔	↔ ↑	N / A N / A N / A	↑ ↔
(46)	Suínos (fêmeas adultas)	Dieta isoenergética (controle) Dieta isoenergética contendo 1% de CLA (p/p)	-- 1	42	-- ↑	-- N/A	-- ↔	-- ↑	-- N/A
(41)	Coelhos machos brancos New Zealand	Gordura: 140 g/kg (33 % da energia) CLA (43 g 9c, 11t, 44 g 10t, 12c/100g de ácidos graxos) + 2 g de colesterol/kg de dieta. CLA (43 g 9c, 11t, 44 g 10t, 12c/100g de ácidos graxos) + 1 g de colesterol/kg de dieta. CLA (43 g 9c, 11t, 44 g 10t, 12c/100g de ácidos graxos) + 0 g de colesterol/kg de dieta.	-- 0,1 0,5 1	-- 90	-- ↔ ↔ ↑	-- ↔ ↔ ↑	-- ↔ ↔ N/A	-- N / A N / A N / A	-- ↓ ↓ ↓
(52)	Hamsters	Gordura: 131 g/kg (30 % da energia) Mistura de CLA (50 g 9c, 11t, 50 g 10t, 12c/100g de ácidos graxos) CLA 9c, 11t CLA 10t, 12c	-- 6 5-6 4-9	56 56	-- ↑ ↔ ↑	-- ↔ ↔ ↔	-- ↓ ↔ ↓	-- ↓ ↔ ↓	-- N/A N/A N/A N/A

Referência	Modelo animal	Detalhes da dieta	CLA (g/kg de dieta)	Período de estudo (d)	TG	CT	HDL	LDL	Aterosclerose
(42)	Coelhos brancos New Zealand	Dieta aterogênica com 0,2% de colesterol (controle) Dieta mais 0,05% de CLA (42,8% 9c, 11t; 44,8% 10t, 12c). Dieta mais 0,075% de CLA (42,8% 9c, 11t; 44,8% 10t, 12c). Dieta mais 0,10% de CLA (42,8% 9c, 11t; 44,8% 10t, 12c). Dieta mais 0,50% de CLA (42,8% 9c, 11t; 44,8% 10t, 12c).	0,05 0,075 0,10 0,50	90	-- ↑ ↑ ↑	-- ↑ ↔ ↑	-- ↓ ↑ ↑	-- N/A N/A N/A	-- ↓ ↓ ↓
(53)	Hamsters	Gordura: 145 g/kg Dieta com LA (controle) Mistura de CLA (43 g 9c, 11t, 44 g 10t, 12c/100g de ácidos graxos) CLA 9c, 11t	-- 10 2	90	-- ↓ ↔	-- ↓ ↔	-- ↔ ↔	-- ↓ ↔	-- N/A N/A
(50)	Ratos	Dieta controle – LA (6% de óleo de soja, 1% de óleo de algodão rico em ácido linoleico) Dieta mais mistura de CLA (0,35% de 9c, 11t e 0,35% de 10t, 12c) Dieta mais CLA 9c, 11t (0,4%) Dieta mais CLA 10t, 12c (0,4%)	-- 0,7 0,4 0,4	26	↔ ↔ ↔	↔ ↔ ↔	↔ ↔ ↔	N/A N/A N/A	N/A N/A N/A
(51)	Ratos	Dieta controle Dieta contendo 1,15% do isômero CLA 10t, 12c e 1,11% do isômero CLA 9c, 11t presentes na mistura comercial Clarinol G-80™	-- 2,26	14	-- N/A	-- ↓	-- ↓	-- N/A	-- N/A
(55)	Humanos normolipídicos	Grupo controle (sem suplementação) Grupo com suplementação (3 g/d) com misturas dos isômeros de CLA 9c, 11t e 10t, 12c, 50:50 (p/p) e 80:20 (p/p)	--	56	-- ↓ ↔	-- N/A N/A	-- N/A N/A	-- N/A N/A	-- N/A N/A
(58)	Humanos (IMC = 25-35 kg/m <sup>2</sup> )	Dieta controle Dieta com 3,4 g de CLA/d Dieta com 6,8 g de CLA/d		94	-- N/A N/A	-- ↓ ↓	-- ↓ ↓	-- ↓ ↓	-- N/A N/A
(60)	Humanos (mulheres)	Controle (óleo de girassol) Dieta com 3,9 g de CLA/dia contendo os isômeros <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 (11%) e <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 (15%)		62	↔	↔	↔	↔	N/A

**Nota:** CLA: ácido linoleico conjugado; TG: triacilgliceróis, CT: colesterol total; ↑↓: variabilidade aumenta ou diminui comparada com os valores para dieta controle; ? : nenhuma diferença significativa em relação à dieta controle; c, *cis*, t, *trans*; N/A: variável não mensurada; IMC = índice de massa corpórea; HDL = Lipoproteína de alta densidade; LDL = Lipoproteína de baixa densidade.

\* As reduções nas severidades das lesões nas artérias aórtica e torácica foram dose-dependentes.

\*\* Apesar dos resultados indicarem NDS, as concentrações de colesterol total, triacilgliceróis e fosfolipídios tenderam a ser menores em ratos alimentados com preparações contendo CLA 10t, 12c, e houve tendência a aumentar os níveis de HDL em todos os grupos alimentados com CLA.

\*\*\* Apesar das reduções (↓) serem estatisticamente significativas, não foram clinicamente significantes.

\*\*\*\* Também não houve diferenças na coagulação sanguínea ou agregação plaquetária.

Nicolosi, Rogers, Kritchevsky, Scimeca e Hunt, estudaram hamsters alimentados com dieta hipercolesterolêmica sem adição de CLA (controle), com níveis variáveis de CLA (0,06; 0,11 e 1,1 g/100 g de ração) e com ácido linoléico (1,1 g/100 g de ração) adicionados à dieta controle durante 8 semanas (42). Os autores verificaram que o colesterol total plasmático foi significativamente reduzido de 21-26% nos três grupos alimentados com CLA (não dose-dependente) em relação ao grupo controle e de 8-14% em relação ao grupo do ácido linoléico. Houve também redução significativa nas frações de VLDL-colesterol e LDL-colesterol nos grupos alimentados com CLA e nos triacilgliceróis nos grupos alimentados com 0,06 e 0,11 g de CLA/100 g de ração. Os ateromas (área média) dos três grupos suplementados com CLA foram significativamente menores do que no grupo controle.

Outro estudo com hamsters (43), alimentados por 12 semanas com uma dieta hipercolesterolêmica – controle (20% de óleo de coco, 2% de óleo de algodão e 0,12% de colesterol (p/p)) suplementadas com 1% de CLA ou 1% de ácido linoléico (LA), por peso da ração, indicou que os grupos alimentados com CLA e LA apresentaram menores níveis de colesterol total (-13% e -19%) e colesterol não-HDL (-19% e -29%) plasmáticos em relação ao que recebeu apenas a dieta hipercolesterolêmica. As concentrações plasmáticas de triacilgliceróis foram menores no grupo que recebeu LA em relação ao grupo da dieta controle (-35%) e ao grupo CLA (-38%). Os hamsters alimentados com CLA tiveram redução significativa na formação de placa gordurosa na aorta em relação ao grupo de dieta controle (-47%) e ao grupo LA (-40%).

A redução nas concentrações plasmáticas de colesterol e aterosclerose em hamsters alimentados com CLA são similares às reportadas por Nicolosi, Rogers, Kritchevsky, Scimeca e Hunt (42), mencionadas anteriormente, e aos de Lee, Kritchevsky e Pariza (39) em coelhos, indicando que o CLA previne o aumento dos níveis de colesterol e atenua a aterosclerose.

Diferentemente dos estudos citados anteriormente, Munday, Thompson e James (44) verificaram que camundongos C57BL/6 alimentados com CLA (0,25 ou 0,5 g/100 g de ração de dieta aterogênica), durante 15 semanas, exibiram maiores graus de desenvolvimento de ateromas em relação ao grupo controle (sem adição de CLA na dieta). Em animais alimentados com CLA a razão HDL:colesterol total aumentou e o conteúdo de triacilgliceróis plasmáticos diminuiu em relação ao grupo controle.

Stangl, Muller e Krichgessner estudaram os efeitos de CLA sobre hormônios (insulina, tiroxina, triiodotironina) e metabólitos (hidroxibutirato, tocoferol, proteínas, glicose, uréia, creatinina e ATP sanguíneo) e lipoproteínas em suínos (fêmeas adultas) alimentados com dietas isoenergéticas contendo 0 (controle) e 1% de CLA (por peso) durante 6

semanas (45). Suínos tratados com CLA exibiram maior concentração de insulina no soro sanguíneo (37%) em relação a dieta controle. Os demais hormônios e os metabólitos não foram afetados pela dieta com CLA, enquanto que a concentração plasmática de ácidos graxos não-esterificados reduziu 38% em relação aos suínos que receberam a dieta controle, mas esta diferença não foi significativa. O soro sanguíneo dos animais alimentados com CLA mostrou uma tendência ao aumento dos níveis de triacilgliceróis, colesterol e fosfatidilcolina em lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL), sendo que não houve diferenças entre os grupos na fração HDL. A razão LDL colesterol:HDL colesterol foi significativamente maior no grupo com adição de CLA à dieta, fato que tem sido positivamente correlacionado com aterogênese (46).

Os estudos com resultados adversos (45,46) aos demais podem ser explicados, talvez pela diferença entre a fisiologia dos animais (camundongos e suínos), já que os estudos com resultados positivos foram encontrados em coelhos e hamsters. Possíveis diferenças na ingestão de alimentos entre os grupos experimentais geralmente não são consideradas nos estudos, o que também pode ser uma interferência.

Experimentos *in vitro* mostram que o isômero 10*t*,12*c* reduz significativamente a secreção de apolipoproteína B de células Hep G2 (47). Tendo em vista que a apolipoproteína B é um componente da VLDL rica em triacilgliceróis, estes resultados sugerem que o isômero do CLA 10*t*,12*c* pode reduzir as concentrações plasmáticas de VLDL-triacilgliceróis e, ao mesmo tempo, pode inibir a síntese de ácidos graxos através da regulação da expressão do RNAm e da inibição da atividade da desaturase hepática estearoil-CoA (SCD hepática) (2,17,39). Outro estudo (48) mostrou que o isômero 10*t*,12*c*, mas não o isômero 9*c*,11*t*, foi o responsável pela inibição da atividade da SCD hepática. Sendo o fígado o órgão chave para a síntese de triacilgliceróis, a inibição da expressão e da atividade da SCD pode ser de grande importância no metabolismo de triacilgliceróis e de ácidos graxos e no mecanismo de redução da gordura corporal. O mecanismo pelo qual o isômero 10*t*,12*c* reduz a atividade da SCD parece ser bifurcado, tanto na inibição da expressão e da atividade enzimática da SCD (2).

Pesquisadores japoneses em 2003, estudaram o efeito individual dos isômeros de CLA no metabolismo de lipídios em ratos alimentados com dietas contendo LA, isômeros de CLA 9*c*,11*t* e 10*t*,12*c* adicionados isoladamente (0,8 g/100g de ração) ou uma mistura equivalente destes isômeros (0,4 g/100g de ração), durante 26 dias. As concentrações de colesterol total plasmático, triacilgliceróis e fosfolipídios mostraram-se menores em ratos alimentados com preparações de CLA contendo o isômero 10*t*,12*c*, enquanto houve uma tendência a aumentar a concentração de HDL-colesterol plasmático em todos os grupos alimentados com CLA. Os resultados sugerem

que isômeros individuais do CLA podem ter efeitos diferentes e que há uma provável interação destes no metabolismo de lipídios (49).

Um grupo de ratos alimentados com dieta controle rica em ácido esteárico mais azeite de oliva e outro com dieta teste com 30 g/kg de Clarinol G-80™, uma mistura comercial contendo 38,2% do isômero CLA 10*t*,12*c* e 36,9% do isômero CLA 9*c*,11*t* foi estudado durante 2 semanas. O CLA induziu à redução nos níveis de colesterol total plasmático, de lipoproteínas HDL e nas concentrações de fosfolipídios nas frações LDL e HDL (50).

Foi observado que uma mistura de CLA (isômeros 9*c*,11*t* e 10*t*,12*c*) e o isômero 10*t*,12*c* reduziram significativamente as concentrações de LDL- e HDL-colesterol e aumentaram as concentrações de VLDL-colesterol e triacilgliceróis plasmáticos, em hamsters. Diferentemente da maioria dos estudos realizados, os resultados desta pesquisa indicaram que o isômero 10*t*,12*c* afeta o metabolismo de lipoproteínas ao invés do isômero 9*c*,11*t* (51). Outro estudo (52) reportou que uma dieta rica em CLA 9*c*,11*t* não produz efeito significativo no metabolismo de lipoproteínas plasmáticas, porém as concentrações plasmáticas de triacilgliceróis e colesterol total foram significativamente reduzidas em hamsters alimentados com uma dieta enriquecida com uma mistura de CLA (isômeros 10*t*,12*c* e 9*c*,11*t*) em relação ao grupo controle (dieta com ácido linoléico). Estes resultados sugerem que CLA 10*t*,12*c* é o isômero ativo para os efeitos antiaterogênicos do CLA. Roche, Noone, Nugent e Gibney (2001) mostraram que uma dieta rica em CLA 9*c*,11*t* reduz significativamente as concentrações de triacilgliceróis, enquanto que uma dieta rica em CLA 10*t*,12*c* não teve efeito significativo em camundongos machos Ob/Ob hipertriacilglicerolêmicos.

### b) Estudos em humanos

De acordo com alguns autores (1,53), os efeitos observados para CLA dependem da espécie, raça e sexo dos roedores. Estas conclusões são importantes quando os dados obtidos em animais forem extrapolados para humanos.

Um aprimoramento no equilíbrio do metabolismo de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis tem sido associado com os efeitos anti-aterogênicos do CLA em humanos, estudado em vários modelos com aterogênese induzida pela dieta.

O primeiro estudo duplo-cego placebo-controlado com suplementação de CLA em humanos (indivíduos normolipidêmicos) para investigar o efeito do CLA no metabolismo de lipoproteínas foi publicado em 2001 (54). O efeito da suplementação (3 g/d), durante 8 semanas, com misturas isoméricas de CLA em diferentes proporções (50:50 ou 80:20, p/p) dos isômeros 9*c*,11*t* e 10*t*,12*c* em sujeitos normolipêmicos, resultaram na observação de que a mistura isomérica 50:50 reduziu significativamente as concentrações de triacilgliceróis (-20%), enquanto que para a mistura 80:20

não foi observado nenhum efeito. Novamente foi indicado o isômero 10*t*,12*c* como redutor dos níveis de lipídios. A concentração plasmática de triacilgliceróis tem sido identificada como um fator de risco para as doenças cardiovasculares (55) e um importante contribuinte para a aterosclerose (56).

Um estudo (57) reportou a redução nos níveis de LDL (-0,1 a -0,3 nmol/L), HDL (-0,1 a -0,2 nmol/L) e colesterol total (-0,2 a -0,4 nmol/L) em humanos com índice de massa corpórea de 25-35 kg/m<sup>2</sup> alimentados com CLA (1,7; 3,4; 5,1 ou 6,8 g/dia durante 12 semanas) e, apesar de estatisticamente significativa, a redução não foi considerada clinicamente significativa.

Estudos comparando os efeitos de dietas com 3,9 g de CLA ao dia, contendo os isômeros 9*c*,11*t* (11%) e 10*t*,12*c* (15%), utilizando óleo de girassol como controle, não indicaram diferenças nos níveis plasmáticos de lipídios ou lipoproteínas, nem quaisquer diferenças na coagulação sanguínea ou agregação plaquetária (58,59). O uso de óleo de girassol como controle é questionável porque é rico em ácido linoléico, um ácido graxo que interfere no metabolismo de lipídios e na coagulação sanguínea.

Para determinar se os isômeros de CLA apresentam efeitos benéficos relacionados às doenças cardiovasculares, os isômeros CLA 9*c*,11*t* e CLA 10*t*,12*c* foram estudados em humanos (60). De acordo com os resultados obtidos, houve inibição da função plaquetária, evidenciada pela redução da agregação e a atenuação da formação de tromboxano B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) a partir do ácido araquidônico exógeno (adicionado). Torres-Duarte e Vanderhoek (61) reportam um estudo *in vitro*, no qual incorporaram vários isômeros do CLA dentro de células endoteliais de veias umbilicais humanas (HUVECs) ou plaquetas e investigaram o efeito desta esterificação na formação de prostaciclina (PGI<sub>2</sub> – vasodilatador) e tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub> – vasoconstritor). Os resultados indicaram que o efeito de CLA na formação de prostanóides celulares em células endoteliais e plaquetas pode ser inibitório ou estimulante. O efeito obtido parece depender do isômero específico do CLA, da forma (ácido graxo livre ou esterificado) e do estado das células (em repouso ou estimuladas). Estes resultados indicam que o CLA pode ter efeitos múltiplos e complexos na homeostase vascular *in vivo*.

Um grupo de pesquisadores (62) examinou os efeitos de quatro isômeros comerciais de CLA (25 µM de 9*c*,11*t*; 9*t*,11*t*; 9*c*,11*c* e 10*t*,12*c* separadamente) na agregação plaquetária induzida por colágeno e observaram que o maior efeito foi obtido com o isômero 9*t*,11*t* e o menor com o isômero 9*c*,11*c*. Além disso, este estudo representa a primeira indicação de que o isômero CLA 9*c*,11*c*, quando esterificado em lipídios de plaquetas, estimula a atividade da fosfolipase celular, fato que pode explicar o aumento da produção de tromboxano (TXB<sub>2</sub> – metabólito inativo do pró-agregatório TXA<sub>2</sub>) em plaquetas.

Tem sido aceito que os radicais livres e a oxidação mediada por radicais têm um papel importante em muitos processos patológicos, como na carcinogênese e aterosclerose (63). A capacidade do CLA (CLA 9*c*,11*t* 35,0% e CLA 10*t*,12*c* 35,8%) na captura de radicais livres foi estudada e observou-se que o CLA (50 mM) foi muito menos efetivo que vitamina E, vitamina C e BHT (28). Ao mesmo tempo, o CLA em concentrações de 5-40 mg/mL foi mais efetivo que o LA na ligação com radicais DPPH (radical 2,2-difenil 1-picrylhidrazil). Esta informação é consistente apenas para o isômero CLA 10*t*, 12*c*, mas não para o isômero CLA 9*c*,11*t* (63). Os isômeros 9*c*,11*t* e 10*t*,12*c* reagem diretamente ligando radicais DPPH, porém, o isômero CLA 10*t*,12*c* (2,5-80 mg/mL) mostrou maior velocidade de reação e o CLA 9*c*,11*t* ligou mais radicais DPPH no estado de equilíbrio (29). Relações dose-efeito e tempos similares foram observadas para ambos isômeros e sinergismo de efeito nas reações com radicais DPPH.

Estes resultados sustentam a conclusão de que os isômeros individuais diferem em suas ações biológicas e indicam que a interação entre os isômeros pode contribuir para seus efeitos benéficos. Estudos adicionais são necessários para verificar a inibição de radicais livres pelo CLA em diferentes sistemas e condições fisiológicas, assim como determinar se existe qualquer ligação entre a propriedade anti-radical e seus efeitos biológicos, incluindo anticarcinogênese e antiaterosclerose.

A hipertensão e a obesidade são estados patológicos comuns e associados de forma independente com o aumento de risco de doenças cardiovasculares. No entanto, estudos epidemiológicos têm demonstrado uma associação entre o índice de massa corpórea e a pressão sanguínea. Além disso, há evidências que sugerem que obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento da hipertensão em humanos (65,66).

O efeito dos isômeros do CLA foi avaliado no desenvolvimento de hipertensão em ratos OLETF (*Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rats*), que possuem hiperfagia e tornam-se obesos, desenvolvendo hiperlipidemia, diabetes e hipertensão (67). Os ratos foram separados em 3 grupos (6 ratos cada) e alimentados durante 3 semanas com dieta semi-sintética acrescida de 5% de óleo de milho e 0,5% de óleo de algodão (grupo controle); ou com 5% de óleo de milho e 0,5% do isômero CLA 9*c*,11*t* (grupo CLA 9*c*,11*t*) ou com 5% de óleo de milho e 0,5% do isômero CLA 10*t*,12*c* (grupo CLA 10*t*,12*c*) – teores em g/100 g de dieta (%). Os resultados obtidos neste estudo representaram a primeira evidência de que o isômero CLA 10*t*,12*c* pode suprimir o desenvolvimento da hipertensão em ratos OLETF. Houve um aumento de peso e de pressão sistólica sanguínea durante o início da obesidade nestes ratos, mas no grupo CLA 10*t*,12*c* o aumento da pressão sanguínea e o tecido adiposo branco abdominal foram significativamente reduzidos quando comparados com os outros dois grupos, após 3 semanas. Além disso, a relativa

expressão no RNAm de angiotensinogênio e de leptina (adipocitoquinas) foram suprimidos com CLA 10*t*,12*c* no tecido adiposo. Concluiu-se que o isômero CLA 10*t*,12*c* suprime o desenvolvimento de hipertensão durante o início da obesidade em ratos OLETF e que o efeito antihipertensivo do CLA 10*t*,12*c* deve-se em parte à redução na secreção de adipocitoquinas hipertensivas no tecido adiposo abdominal.

Os mesmos autores (68) avaliaram os efeitos de dietas com CLA (indicado como um sensibilizador da insulina) na adiponectina plasmática, na insulina plasmática e na pressão sanguínea de ratos *Zucker Diabetic Fatty* (ZDF). No início da obesidade a pressão sanguínea geralmente aumenta em ratos ZDF, mas o CLA preveniu este aumento. Após 8 semanas, a glicose e insulina plasmáticas também foram atenuadas pela dieta com CLA. O CLA aumentou a concentração de adiponectina plasmática (hormônio secretado por adipócitos que acentua a sensibilidade à insulina), sendo este aumento atribuído ao aumento da expressão do RNAm no tecido adiposo branco. Acredita-se que a hiperinsulinemia e/ou a resistência à insulina têm papéis-chaves na hipertensão relacionada com a obesidade. A redução (-65%) da insulina plasmática na dieta de CLA em ratos ZDF comparada com o controle, sugere o aumento da resistência à insulina. Os autores ponderaram que o aumento da adiponectina no plasma alivia a hiperinsulinemia e previne o desenvolvimento de hipertensão, o que foi induzido pela presença de CLA na dieta. Muito embora os autores apontem o aumento da resistência à insulina como fator de prevenção da hipertensão, esta resistência pode ser considerado um efeito negativo em termos gerais.

Os estudos parecem indicar que o camundongo (AKR/J machos, C57BL/6J fêmea) é o modelo animal mais suscetível ao CLA (7,37).

#### Segurança na alimentação e suplementação com CLA

Apesar dos numerosos efeitos benéficos à saúde atribuídos ao CLA, há uma minoria de relatos de possíveis efeitos adversos, principalmente em ratos e devidos ao isômero 10*t*,12*c*. Sugere-se que os efeitos negativos em humanos são devidos ao aumento nos produtos da oxidação lipídica (isoprostanos), mais em modelos animais tem-se identificado efeitos pro-carcinogênicos (colon e próstata) e de aumento na produção de prostaglandinas atribuídos ao CLA 10*t*,12*c*. Estas suspeitas de efeitos adversos, requerem primeiro maiores estudos no sentido de comprovar definitivamente estes resultados, assim como mais pesquisa e uma avaliação crítica sobre os efeitos anti-câncer e anti-prostaglandina do CLA (69).

Uma avaliação toxicológica da dieta com CLA foi realizada em ratos machos Fischer 344 de 9 meses. Quarenta ratos foram divididos em 2 grupos e alimentados da seguinte forma: controle (dieta basal) e CLA (dieta basal adicionada de 1,5% de CLA (p/p) – níveis substancialmente maiores que o

estimado no consumo humano normal). De acordo com os resultados obtidos, a administração contínua (36 semanas) de uma mistura de isômeros de CLA, compostos predominantemente pelos isômeros 9*c*,11*t*, 9*t*,11*c* e 10*t*,12*c*, não apresentou qualquer indicação de toxicidade (70). Embora haja necessidade de outras medidas, como exames oftalmológicos e clínicos (sangue, urina, etc.), a avaliação toxicológica do CLA neste estudo cumpriu com um número de testes recomendados pelo FDA para um estudo de toxicidade sub-crônica apesar de apresentar algumas limitações, como uma única dose estudada, apenas um sexo, nenhum estudo clínico e exame histopatológico limitado.

Um estudo realizado com suplementação de CLA (1 g/100g de ração durante 4 dias a 8 meses) em camundongos resultou na redução da massa corpórea por apoptose de adipócitos, causando resistência à insulina e hepatomegalia acentuada, característica de lipodistrofia (71). Outros estudos têm reportado efeitos similares com a suplementação de CLA e aumento do peso do fígado e baço em ratos (30,31) e resistência à insulina (31).

O produto Clarinol™G80, contendo isômeros do CLA 9*c*,11*t* e 10*t*,12*c* na razão 1:1, foi estudado com objetivo de verificar a segurança de seu uso como um ingrediente em alimentos (72). Foram realizados estudos de toxicidade subcrônica oral em ratos durante 90 dias e de genotoxicidade *in vitro*. O produto mostrou-se não mutagênico em ambos os testes, mas produziu hipertrofia hepatocelular em fêmeas de ratos que ingeriram altas doses (15% (g de Clarinol™G80/g de dieta) - equivalente a 12% de CLA). Este resultado pode ocorrer em função de uma adaptação à alimentação com altos níveis do produto, porém foi reversível com a retirada do material em teste.

Apesar dos estudos toxicológicos reportados, ainda é prematuro afirmar que o CLA não apresenta efeitos tóxicos.

#### Limitações nos estudos com CLA

Em geral, os estudos com CLA que envolvem humanos são realizados sem uma dieta estrita, o que pode prejudicar a análise dos resultados porque outras variáveis podem estar envolvidas (dieta, níveis de atividade física) e nem sempre estas são controladas. Em outros casos, inquéritos alimentares foram usados, porém, estes envolvem erros na precisão dos registros e baixo nível de confiança dos instrumentos utilizados para analisá-los. O efeito placebo também pode influenciar nos resultados do estudo e deve ser considerado na discussão dos mesmos (18).

A dosagem de CLA e o tempo de duração dos estudos em modelos animais e humanos são muito variados. Dosagens de CLA utilizadas em estudos animais excedem extremamente as dosagens usadas em estudos com humanos. Estas variáveis dificultam comparar os resultados de diferentes estudos, tanto como extrapolar os resultados para seres humanos.

Estudos não são suficientemente claros em indicar os efeitos dos ácidos graxos conjugados de origem animal (ruminantes) ou industrial sobre o risco de doenças coronárias (73). Desta forma, mais pesquisas são necessárias para que estes suplementos sejam amplamente consumidos pela população. Suplementos de CLA podem ser mais efetivos em combinação com dietas de baixo teor lipídico, atividade física e em indivíduos com sobrepeso, o que contribuiria para a prevenção de doenças cardiovasculares.

## CONCLUSÃO

Embora seja evidente que o CLA exerce efeitos benéficos à saúde em animais na melhora do metabolismo plasmático de lipoproteínas e na prevenção de aterosclerose, não há informações suficientes sobre seus efeitos em humanos, tornando difícil prever os efeitos da suplementação com CLA em longo prazo. Além disso, os estudos com CLA em humanos são difíceis de interpretar porque utilizam diferentes parâmetros de medição e há variação nas dosagens, duração da administração e características individuais dos objetos de estudo (idade, grau de obesidade, padrões de dieta, nível de atividade física). A suplementação com isômeros de CLA pode apresentar benefícios ou riscos à saúde humana, portanto mais estudos controlados, usando isômeros de CLA, precisam ser realizados para determinar sua segurança e eficácia, antes de serem recomendados.

## REFERÊNCIAS

1. Kelly GS. Conjugated linoleic acid (CLA): a review. *Alt Med Rev* 2001; 6(4):367-382.
2. Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res* 2001; 40:283-98.
3. Raloff J. The good *trans* fat. *Sci News* 2001; 159(9):136-8.
4. Roche HM, Noone E, Nugent A, Gibney MJ. Conjugated linoleic acid: a novel therapeutic nutrient? *Nutr Res Rev* 2001; 14:173-87.
5. Pariza MW. Conjugated linoleic acid, a newly recognized nutrient. *Chem Ind* 1997; 16(12):464-9.
6. Larqué E, Zamora S, Gil A. Dietary *trans* fatty acids in early life: a review. *Early Hum Dev* 2001; 65:S31-S41.
7. Evans ME, Brown JM, McIntosh MK. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J Nutr Biochem* 2002; 13:508-16.
8. Fritsche J, Steinhart H. Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Z Lebensm Unters Forsch A* 1998; 206:77-82.
9. Shantha NC, Crum AD, Decker EA. Evaluation of conjugated linoleic acid concentrations in cooked beef. *J Agric Food Chem* 1994; 42:1757-60.
10. Chin SF, Liu W, Storkson JM, Ha YL, Pariza MW. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J Food Compost Anal* 1992; 5:185-97.

11. Chin SF, Liu W, Albright K, Pariza MW. Tissue-levels of *cis*-9, *trans*-11 conjugated dienoic isomer of linoleic-acid (CLA) in rats fed linoleic-acid (LA). *FASEB J* 1992; 6(4):A.1396.
12. Werner SA, Luedecke LO, Shultz T. Determination of conjugated linoleic acid content and isomer distribution in three Cheddar-type cheeses: effects of cheese cultures, processing and ageing. *J Agric Food Chem* 1992; 40:1817-21.
13. Shantha NC, Ram LN, O'Leary J, Hicks CL, Decker EA. Conjugated linoleic acid concentration in dairy products as affected by processing and storage. *J Food Sci* 1995; 60:695-7.
14. Há YL, Grimm NK, Pariza MW. Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: identification and quantification in natural and processed cheeses. *J Agric Food Chem* 1989; 37:75-81.
15. Lawson RE, Moss AR, Givens DI. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. *Nutr Res Rev* 2001; 14:153-72.
16. Verhulst A, Janssen G, Parmentier G, Eyssen H. Isomerization of polyunsaturated long-chain fatty-acids by propionibacteria. *Syst Appl Microbiol* 1987; 9:12-5.
17. Park Y, Storkson JM, Ntambi JM, Cook ME, Sih CJ, Pariza MW. Inhibition of hepatic stearoyl-CoA desaturase activity by *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid and its derivatives. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1486:285-92.
18. Rainer L, Heiss CJ. Conjugated linoleic acid: health implications and effects on body composition. *J Am Diet Assoc* 2004; 104:963-8.
19. Yu L, Adams D, Watkins BA. Comparison of commercial supplements containing conjugated linoleic acid. *J Food Compos Anal* 2003; 16:419-28.
20. Masters N, McGuire MA, McGuire MK. Conjugated linoleic acid supplementation and milk fat content in humans. *FASEB J* 1999; 13:A697.
22. Ens JG, Ma DWL, Cole KS, Field CJ, Clandinin MT. An assessment of *c9,11* linoleic acid intake in a small group of young Canadians. *Nutr Res* 2001; 21:955-60.
23. McGuire MK, Park Y, Behre RA, Harrison LY, Shultz TD, McGuire MA. Conjugated linoleic acid concentrations of human milk and infant formula. *Nutr Res* 1997; 17(8):1277-83.
24. Jensen RG, Lammi-Keefe DJ. Current status of research on the composition of bovine and human milk lipids. In: Huang YS, Sinclair AJ. *Lipids in infant nutrition*. Champaign, IL: AOCS Press, 1998. p.169-91.
25. Fritsche J, Mossoba MM, Yurawecz MP, Roach JAG, Sehat N, Ku Y, et al. Conjugated linoleic acid (CLA) isomers in human adipose tissue. *Z Lebensm Unters Forsch A* 1997; 205:415-8.
26. Há YL, Grimm NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 1987; 8:1881-7.
27. Ip C, Briggs SP, Haegele AD, Thompson HJ, Storkson J, Scimeca JA. The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis* 1996; 17:1045-50.
28. Kritchevsky D, Tepper SA, Wright S, Czarnecki SK, Wilson TA, Nicolosi RJ. Conjugated linoleic acid isomer effects in atherosclerosis: Growth and regression of lesions. *Lipids* 2004; 39(7):611-16.
29. Yu L. Free radical scavenging properties of conjugated linoleic acids. *J Agric Food Chem* 2001; 49:3452-6.
30. Yu L, Adams D, Gabel M. Conjugated linoleic acid isomers differ in their free radical scavenging properties. *J Agric Food Chem* 2002; 50:4135-40.
31. West DB, DeLany JP, Camet PM, Blohm F, Truett A.A, Scimeca J. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am J Physiol* 1998; 275:R667-72.
32. DeLany JP, Blohm F, Truett AA, Scimeca JA, West DB. Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. *Am J Physiol* 1999; 276:R1172-9.
33. Ostrowska F, Muralitharam M, Cross RF, Bauman DE, Dunshea FR. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J Nutr* 1999; 129:2037-42.
34. Stangl GI. Conjugated linoleic acid exhibit a strong fat-to-lean partitioning effect, reduce serum VLDL lipids and redistribute tissue lipids in food-restricted rats. *J Nutr* 2000; 130:1140-6.
35. Mougios V, Matsakas A, Petridou A, Ring S, Sagredos A, Melissopoulou A, et al. Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *J Nutr Biochem* 2001; 12:585-94.
36. Cook ME, Pariza M. The role of conjugated linoleic acid (CLA) in health. *Int Dairy J* 1998; 8:459-62.
37. Miller CC, Park Y, Pariza MW, Cook ME. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 198:1107-12.
38. Whigham LD, Cook ME, Atkinson RL. Conjugated linoleic acid: implications for human health. *Pharm Res* 2000; 42(6):503-10.
39. Houseknecht KL, Heuvel JPV, Moya-Camarena SY, Portocarrero CP, Peck LW, Nickel KP, et al. Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker Diabetic Fatty *fa/fa* rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 244:678-82.
40. Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 1994; 108:19-25.
41. Kritchevsky D, Tepper SA, Wright S, Tso P, Czarnecki SK. Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *J Am Coll Nutr* 2000; 19:472S-7S.
42. Kritchevsky D, Tepper SA, Wright S, Czarnecki SK. Influence of graded levels of conjugated linoleic acid (CLA) on experimental atherosclerosis in rabbits. *Nutr Res* 2002; 22:1275-9.
43. Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JA, Huth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 1997; 22:266-77.
44. Wilson TA, Nicolosi RJ, Chrysam M, Kritchevsky D. Conjugated linoleic acid reduces early aortic atherosclerosis greater than linoleic acid in hypercholesterolemic hamsters. *Nutr Res* 2000; 20(12):1795-1805.
45. Munday JS, Thompson KG, James KA. Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model. *Br J Nutr* 1999; 81:251-5.

46. Stangl GI, Müller H, Kirchgessner M. Conjugated linoleic acid effects on circulating hormones, metabolites and lipoproteins, and its proportion in fasting serum and erythrocyte membranes of swine. *Eur J Nutr* 1999; 38:271-7.
47. Lippi U, Capelletti P, Signori D, Burelli C. Clinical chemical indexes and severity of coronary atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1983; 130:283-9.
48. Yotosumoto H, Hara E, Naka S, Adolf RO, Emken EA, Yanagita T. 10*trans*, 12*cis*-linoleic acid reduces apolipoprotein B secretion on HepG2 cells. *Food Res Intern* 1999; 31:403-9.
49. Lee KN, Pariza MW, Ntambi JM. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 248(3):817-21.
50. Akahoshi A, Koba K, Ohkura-Kaku S, Kaneda N, Goto C, Sano H, et al. Metabolic effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA) isomers in rats. *Nutr Res* 2003; 23:1691-701.
51. Giudetti AM, Beynen AC, Lemmens AG, Gnoni GV, Geelen MJH. Hepatic lipid and carbohydrate metabolism in rats fed a commercial mixture of conjugated linoleic acids (Clarinol G-80™). *Eur J Nutr*. 2005; 44:33-9.
52. De Deckere EAM, Van Amelsvoort JMM, Rudrum M, Lin Y. Effects of different conjugated linoleic acid isomers on lipid variables in hamsters. *FASEB J* 1999; 13:LB207.
53. Gavino VC, Gavino G, LeBlanc M-J, Tuchweber B. Na isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid effects body weight gain and plasma lipids in hamsters. *J Nutr* 2000; 130:27-9.
54. Moya-Camarena SY, Belury MA. Species differences in the metabolism and regulation of gene expression by conjugated linoleic acid. *Nutr Rev* 1999; 57:336-40.
55. Noone E, Nugent AP, Roche HM, Gibney MJ. Conjugated linoleic acid – the effect of supplementation on plasma lipid metabolism. *Proc Nutr Soc* 2001; 60:46A.
56. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sack FM, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *J Am Med Assoc* 1996; 276:882-8.
57. Roche HM, Gibney MJ. The impact of postprandial lipaemia in accelerating atherothrombosis. *J Cardiovasc Risk* 2000; 7:317-24.
58. Blankson H, Stakkestad JA, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J Nutr* 2000; 130:2943-8.
59. Benito P, Nelson GJ, Kelley DS, Bartolini G, Schmidt PC, Simon V. The effect of conjugated linoleic acid on platelet function, platelet fatty acid composition, and blood coagulation in humans. *Lipids* 2001; 36(3):221-7.
60. Benito P, Nelson GJ, Kelley DS, Bartolini G, Schmidt PC, Simon V. The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. *Lipids* 2001; 36(3):229-36.
61. Truitt A, McNeill G, Vanderhoek JY. Antiplatelet effects of conjugated linoleic acid isomers. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1438:239-46.
62. Torres-Duarte AP, Vanderhoek JY. Conjugated linoleic acid exhibits stimulatory and inhibitory effects on prostanoid production in human endothelial cells and platelets. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1640:69-76.
63. Al-Madaney MM, Kramer JKG, Deng Z, Vanderhoek JY. Effects of lipid-esterified conjugated linoleic acid isomers on platelet function: evidence for stimulation of platelet phospholipase activity. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1635:75-82.
64. Vandenberg JJM, Cook NE, Tribble DL. Reinvestigation of the antioxidant properties of conjugated linoleic acid. *Lipids* 1995; 30(7):599-605.
65. Leung YH, Liu RH. *Trans*-10, *cis*-12-conjugated linoleic acid isomer exhibits stronger oxyradical scavenging capacity than *cis*-9, *trans*-11-conjugated linoleic acid isomer. *J Agric Food Chem* 2000; 48:5469-75.
66. Redon J. Hypertension in obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001; 11(5):344-53.
67. Montan JP, Antic V, Yang Z, Dulloo A. Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triangle. *Int J Obes* 2002; 26:S28-S38.
68. Nagao K, Inoue N, Wang Y, Hirata J, Shimada Y, Nagao T, et al. The 10*trans*,12*cis* isomer of conjugated linoleic acid suppress the development of hypertension in Otsuka Long-Evans Todushima fatty rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 306:134-8.
69. Nagao K, Inoue N, Wang Y, Yanagita T. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (*fa/fa*) rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310:562-6.
70. Wahle KWJ, Heys SD, Rotondo D. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog Lipid Res* 2004; 43(6):553-87.
71. Scimeca JA. Toxicological evaluation of dietary conjugated linoleic acid in male Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol* 1998; 36:391-5.
72. Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Tanemura K, Kim H-J, Tange T, Okuyama H, et al. Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes* 2000; 49(9):1534-42.
73. O'Hagan S, Menzel AA subchronic 90-day oral rat toxicity study and in vitro genotoxicity studies with a conjugated linoleic acid product. *Food Chem Toxicol* 2003; 41:1749-60.
74. Mensink RP. Metabolic and health effects of isomeric fatty acids. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16(1):27-30.

Recibido: 17-01-2006

Aceptado: 30-05-2006

## Vitamina B<sub>12</sub> y folato en adultos mayores urbanos no institucionalizados

Abraham Ramírez Pereda, Bertha I. Pacheco, Humberto Astiazarán-García, Julián Esparza-Romero y Heliodoro Alemán-Mateo

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

**RESUMEN.** Las deficiencias de vitamina B<sub>12</sub> y folato constituyen las mayores determinantes nutricionales de hiperhomocisteinemia y esta última a su vez, es un factor independiente de riesgo cardiovascular. En México existe poca información respecto al estado de nutrición de vitamina B<sub>12</sub> y niveles séricos de folato en los adultos mayores. Se evaluó el estado de nutrición de vitamina B<sub>12</sub> y niveles séricos de folato en adultos mayores urbanos no institucionalizados. El diseño del estudio fue transversal con una muestra no probabilística de 100 voluntarios =60 años de ambos sexos. Se determinaron las concentraciones séricas de vitamina B<sub>12</sub> y folato, así como indicadores bioquímicos y antropométricos. De acuerdo al estado de sérico de las vitaminas evaluadas, el 30% presentó deficiencia de vitamina B<sub>12</sub>, 52% un estado adecuado y 18% niveles elevados. Ningún presentó deficiencia de folato; sin embargo, una alta proporción (62%) mostró niveles elevados. Los hombres mostraron niveles significativamente menores de vitamina B<sub>12</sub>, reflejándose también en una mayor prevalencia de deficiencia. Se concluye que la deficiencia de vitamina B<sub>12</sub> fue alta en la muestra estudiada, no siendo así para el folato. La deficiencia de vitamina B<sub>12</sub> podría ser un problema de salud pública importante en este grupo etario a nivel nacional debido a causas no dietarias. Se recomienda realizar estudios representativos sobre el estado de nutrición de vitamina B<sub>12</sub> y explorar causas y consecuencias de la deficiencia tanto nutricionales como las no nutricionales o dietarias. Debido a la naturaleza del estudio y el tamaño de la muestra los resultados deberán ser vistos con precaución al momento de hacer generalizaciones.

**Palabras clave:** Folato, deficiencia de vitamina B<sub>12</sub>, cobalamina, adultos mayores.

### INTRODUCCION

La vitamina B<sub>12</sub> (vit-B<sub>12</sub>) y el ácido fólico son dos micronutrientes importantes para la nutrición humana. La cianocobalamina o vit-B<sub>12</sub> es esencial para la síntesis de hemoglobina y maduración de células, particularmente sanguíneas, así como para mantener un buen estado del sistema nervioso (1). Por su parte, el ácido fólico también

**SUMMARY.** Vitamin B<sub>12</sub> and folate in non-institutionalized urban older people. Vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiencies are the main nutritional determinants of hyperhomocysteinemia, which is an independent risk factor for cardiovascular diseases. There is scarce information about nutritional status on vitamin B<sub>12</sub> and serum levels of folate in Mexican older people. The objective was to evaluate the nutritional status of vitamin B<sub>12</sub> and folic acid concentration in non-institutionalized, urban elderly men and women subjects. One hundred volunteers over 60 years were included in this cross-sectional study. Serum levels of vitamin B<sub>12</sub> and folate were measured. In addition some biochemical and anthropometric indicators were also evaluated. Considering serum values of vitamin, 30% had vitamin B<sub>12</sub> deficiency, 52% normal status and 18% with high levels. None subjects had folic acid deficiency, by the contrary, a high proportion (62%) showed elevated levels in serum. There was an effect of sex on vitamin B<sub>12</sub> status. Elderly men showed significantly lower levels of vitamin B<sub>12</sub>, and it was according with significant higher prevalence of vitamin B<sub>12</sub> deficiency in this group as compared with the women group. The high proportion of vitamin B<sub>12</sub> deficiency found in this study underline a possible public health problem and guarantee further survey-studies about vitamin B<sub>12</sub> status and to explore causes and consequences of the deficiency. Finally, due the sample size and the design of the study, the results must be seen with caution and not try to generalize.

**Key words:** Folate, vitamin B<sub>12</sub> deficiency, cobalamin, older people.

participa en la diferenciación de las células sanguíneas y es un componente de las enzimas necesarias para la formación de glóbulos rojos. Así mismo, previene defectos de nacimiento en el cerebro y tubo neural (2).

Recientemente se ha puesto un mayor interés en la vit-B<sub>12</sub> debido a las diversas formas de manifestaciones subclínicas y a la alta prevalencia de deficiencia entre la población geriátrica. Se ha reportado que bajos niveles de vit-B<sub>12</sub> y folato son factores de riesgo independiente de demencia y parecen estar implicados en la fisiopatología del Alzheimer, así como factores de riesgo cardiovascular vía hiperhomocisteinemia (3-5). Con respecto a la deficiencia de vit-B<sub>12</sub>, en países

La presente investigación se realizó con el apoyo de CONACYT (J37891-M) y del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

desarrollados se han reportado prevalencias de alrededor del 30 al 40% en adultos mayores (6). Algunos investigadores han reportado que la deficiencia es mayor en hombres (7,8). En México, la prevalencia de esta deficiencia es alrededor de 19-41% en adultos y en niños (9) y no se cuenta con la información en el grupo etario de adultos mayores a pesar ser una población susceptible de riesgo de deficiencia.

Se ha reportado que bajos niveles plasmáticos de vit-B<sub>12</sub> en adultos mayores puede deberse a una baja ingestión (1). Sin embargo, algunos estudios realizados en países desarrollados muestran que la ingestión dietaria excede las recomendaciones diarias aceptadas (10). No obstante, se reconoce que a pesar de la suficiente cantidad de vit-B<sub>12</sub> en la dieta, puede haber riesgo de deficiencia a causa de problemas de absorción a nivel del aparato digestivo (11) asociados a la edad. Por ejemplo, en el estómago se puede presentar aclorhidria y algunas patologías como la anemia perniciosa, las cuales interfieren o agravan la absorción de vit-B<sub>12</sub> (8). La anemia perniciosa es una enfermedad caracterizada por una atrofia gástrica severa con aclorhidria, ausencia o disminución del factor intrínseco y es considerada como una causa clásica de deficiencia de vitamina B<sub>12</sub>. Sin embargo, la prevalencia reportada para adultos mayores es menor del 1% (12).

Recientemente, la mala absorción de cobalamina unida a los alimentos se ha sugerido como una causa importante de deficiencia (1) y esta puede ser ocasionada tanto por la gastritis atrófica como por la no atrófica asociadas a *Helicobacter pylori* (13,14). Se piensa que existen otras causas de deficiencia de vit-B<sub>12</sub> como sobrecrecimiento bacteriano en intestino delgado (11), uso de medicamentos (1) y algunas enfermedades (11). No obstante, estas últimas tres causas y la anemia perniciosa no afectan de manera importante el estado de nutrición de vit-B<sub>12</sub>.

En países emergentes el consumo de vit-B<sub>12</sub> puede ser inadecuado debido a los altos costos de los alimentos portadores. No siendo así para el caso de ácido fólico debido a la fortificación, generalmente reglamentada de las harinas y cereales con la finalidad de incrementar el consumo de esta vitamina en mujeres embarazadas y prevenir los defectos del tubo neural al nacimiento (15). En México, desde 1997 se implementó el proceso de enriquecimiento de harinas con ácido fólico y otras vitaminas del complejo B, así como zinc y hierro. Lo cual podría reflejarse en niveles adecuados de folato tanto en suero como en eritrocitos. Actualmente, en México existe poca información respecto al estado de nutrición de la vit-B<sub>12</sub> y folato en el grupo de adultos mayores. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el estado de nutrición de la vit-B<sub>12</sub> y niveles séricos de folato en un grupo de adultos mayores urbanos no institucionalizados. De manera secundaria, se planteó evaluar el efecto del sexo sobre el estado de nutrición de dichas vitaminas.

## METODOS

En estudio transversal no probabilístico se incluyeron 100 adultos mayores de 60 años saludables, no institucionalizados y con independencia física. Los voluntarios se contactaron en lugares de reuniones, al visitar hogares, en centros comerciales y por recomendación de los mismos voluntarios. Durante el primer contacto, se les preguntó su estado de salud, los sujetos refirieron no tener enfermedad coronaria, hipertensión, diabetes tipo 2, artritis y pérdida de peso reciente, así como no utilizar suplementos vitamínicos. Para comprobar su estado de salud se realizó un examen médico general, análisis general de orina, perfil de lípidos y la prueba oral de tolerancia a la glucosa. Adicionalmente, no consumían medicamentos que interfirieran con el transporte y utilización de vit-B<sub>12</sub> y el folato. Tampoco tenían antecedentes de causas especiales de mal absorción intestinal y vegetarianismo. Los voluntarios firmaron el formato de consentimiento aprobado por el Comité de Ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.). El estudio se realizó en la ciudad de Hermosillo, Sonora, México, durante los meses de Septiembre-Diciembre del 2003 y Febrero-Mayo del 2004.

A cada sujeto en condiciones de ayuno se le tomó una muestra de sangre de 10 mL para las diferentes determinaciones entre ellas la cuantificación de vit-B<sub>12</sub>, folato, hemoglobina y hematocrito. Las muestras se obtuvieron por punción venosa con agujas estériles vacutainer (Becton Dickson de 21G x 38 mm) ayudados por un torniquete y limpiando el área previamente con una torunda con alcohol. La sangre se depositó en tubos estériles (BD Vacutainer) con y sin anticoagulante y cubiertos con papel aluminio. Los tubos se homogenizaron manualmente durante cinco segundos. Una vez obtenida la muestra de sangre, se centrifugó a 5000 Xg por 10 minutos a 4°C, en una centrifuga marca IEC Centra GP-8R, en una habitación con luz roja para evitar la fotólisis de las vitaminas durante el proceso de separación del suero del paquete globular. Los sobrenadantes se colocaron en tubos de vidrio Wheaton de 4 mL de capacidad, se etiquetaron y se refrigeraron a -70 grados centígrados para su posterior análisis.

La determinación simultánea de vit-B<sub>12</sub> y ácido fólico en suero se realizó por radioensayo (-Solid Phase No Boil Dualconunt- Diagnostic products corp. DPC. USA). La concentración de ambas vitaminas fue obtenida a partir del número de cuentas por minuto en un contador gamma (Iso-Data, IL USA), calculándola a partir de estándares conocidos. Se consideraron valores normales entre 150 y 700 pmol/L (200-950 pg/mL) para vit-B<sub>12</sub> y de 3 a 17 ng/mL (7-39 nmol/L) para ácido fólico (valores recomendados por el fabricante). Los valores inferiores y superiores a los valores normales se consideraron como deficiencia y exceso, respectivamente. La hemoglobina en sangre venosa se determinó en ayuno

por el hemoglobinómetro (HemoCue AB, Angelholm, Suecia). Se consideraron los valores de hemoglobina de >13.8 g/dL y >12.1 g/dL en hombre y en mujeres, respectivamente como normales.

Con el fin de evaluar el estado general de nutrición de los voluntarios se midió el peso, la talla y se calculó índice de masa corporal (IMC, kg/m<sup>2</sup>). El peso se tomó con una balanza electrónica digital de 0 a 150 ± 0.05 kg de capacidad (ADN FV-150 K, Japón) y la talla con un estadiómetro Holtain (Holtain Limited, Dyfed, Britain). El peso y la talla se midieron de acuerdo a la técnica de Durnin (16). Para la clasificación de bajo peso, normal, sobrepeso y obesidad se consideraron los puntos de corte para adultos de <18.5, 18.5-24.9, =25-29.9 y >30 kg/m<sup>2</sup>, respectivamente (17). Se utilizaron estos puntos de corte debido a que no hay en la actualidad un consenso sobre los puntos de corte de IMC para la población de >60 años.

El análisis de los datos se realizó mediante el programa estadístico NCSS 2001. Para evaluar el efecto del sexo sobre las variables de interés se utilizó una prueba t para dos muestras independientes, para aquellas variables de comportamiento normal y la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para las variables no distribuidas normalmente. Los valores se reportan como media ± desviación estándar y como medianas (95% intervalo de confianza), respectivamente. Para analizar las diferencias en proporciones de la deficiencia de vitamina B<sub>12</sub> por sexo se utilizó una prueba de ji cuadrada ( $\chi^2$ ). La significancia estadística se consideró a una  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Se presentan resultados de 100 sujetos independientes mayores de 60 años del Noroeste de México. La edad y las características antropométricas, así como los valores promedios de vitaminas séricas se presentan en la Tabla 1. Considerando los valores de IMC se encontró que un voluntario presentó bajo peso (IMC <18.5), 28 estuvieron dentro del rango normal (IMC entre 18.5-24.9), 50 presentaron sobrepeso (IMC =25-29.9) y 21 obesidad (IMC >30). El valor promedio de hemoglobina se encontró dentro del rango normal, sin embargo a nivel individual 5 hombres y una mujer presentaron una hemoglobina por debajo de los puntos de corte. Con respecto a los niveles séricos de la vit-B<sub>12</sub>, 30% presentó valores considerados como deficiencia, 52% presentó un estado adecuado y 18% niveles elevados. Los adultos mayores con deficiencia de vit-B<sub>12</sub> tenían un IMC en el rango de 24-35.7 kg/m<sup>2</sup>. La prevalencia de deficiencia de vit-B<sub>12</sub> fue significativamente mayor en hombres ( $p < 0.05$ ) (Figura 1). Para el folato, el 38% presentó valores normales y 62% presentó valores considerados como exceso. Al comparar las medianas de la vit-B<sub>12</sub> entre los sujetos se encontró un efecto del sexo (Tabla 1), los hombres presentaron niveles significativamente menores que las mujeres, no siendo así para el folato. Este mismo comportamiento se observó para los sujetos en el rango normal de vitamina B<sub>12</sub> (Tabla 2).

TABLA 1  
Edad, parámetros antropométricos y bioquímicos de adultos mayores †

	Sexo		Total n=100
	Mujeres n=50	Hombres n=50	
Edad, años	68.1 ± 6.0	67.3 ± 5.6	67.7 ± 5.8
Peso, kg	65.6 ± 12.2	77.8 ± 12.3*	71.4 ± 13.8
Talla, cm	155.1 ± 5.6	169.5 ± 6.7*	162.3 ± 9.4
IMC, kg/m <sup>2</sup>	26.9 ± 4.6	26.9 ± 3.1	26.9 ± 3.9
Hemoglobina (g/dL)	13.7 ± 1.2	14.6 ± 1.3*	14.2 ± 1.3
Vitamina B <sub>12</sub> , pmol/L ‡	292.1 (217.8, 377.4)	169.8 (140.4, 207.1)*	217.8 (180.3, 250.7)
Folato sérico, ng/mL ‡	20.0 (15.0, 27.2)	19.5 (17.8, 23.5)	19.8 (17.3, 22.5)

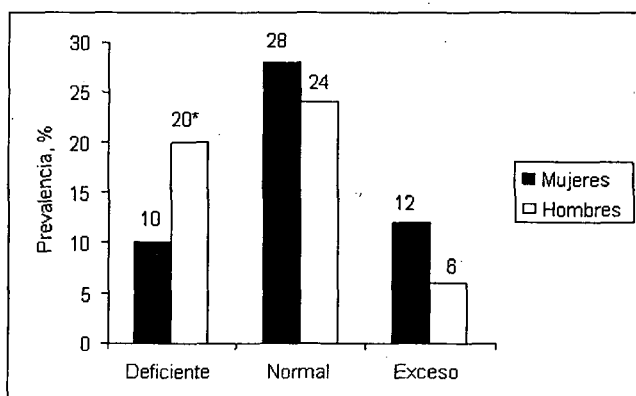
†Media ± Desviación estándar. ‡Mediana y rangos para variables de comportamiento no normal. IMC= Índice de masa corporal. \* $p < 0.05$ .

TABLA 2  
Valores séricos de vitamina B<sub>12</sub> y folato en adultos mayores (n=100)

	Mujeres mediana (ICI, ICS)	Hombres mediana (ICI, ICS)	Total mediana (ICI, ICS)
Vitamina B <sub>12</sub>			
Deficiente (<150 pmol/L)	123.0 (78.8, 142.3)	117.1 (96.3, 133.0)	117.1 (97.8, 132.9)
Normal (150-700 pmol/L)	270.0 (217.8, 331.6)	216.7 (171.5, 250.7)*	235.1 (205.0, 256.9)
Elevado (> 700 pmol/L)	8.0x10 <sup>4</sup> (1.4x10 <sup>3</sup> , 6.5x10 <sup>5</sup> )	9.8x10 <sup>3</sup> (7.7x10 <sup>2</sup> , 2.1x10 <sup>5</sup> )	8.0x10 <sup>3</sup> (2.0x10 <sup>3</sup> , 65.x10 <sup>4</sup> )
Folato			
Deficiente (< 3 ng/mL)	—	—	—
Normal (3-17 ng/mL)	12.6 (9.5, 13.8)	13.5 (10.1, 14.7)	12.8 (11.5, 13.8)
Elevado (> 17 ng/mL)	30.1 (22.5, 37.7)	25.1 (20.2, 30.6)	28.4 (22.8, 32.2)

Los resultados se presentan como medianas (intervalo de confianza inferior, intervalo de confianza superior). \*Diferencia significativa por sexo ( $p < 0.05$ ) utilizando una prueba no paramétrica para muestras independientes (Mann-Whitney). ICI, ICS = intervalos de confianza inferior y superior respectivamente.

FIGURA 1  
Estado de nutrición de vitamina B<sub>12</sub> en hombres y mujeres.  
\* $p < 0.05$



## DISCUSION

En este estudio se encontró que el 30% de los adultos mayores presentaron deficiencia de vit-B<sub>12</sub>, al utilizar el punto de corte de <150 pmol/L para su diagnóstico y el cual ha sido propuesto por algunos investigadores (18-20). Es importante señalar que en este trabajo se planteó evaluar el estado de nutrición de vit-B<sub>12</sub> en una muestra pequeña, no representativa, por lo que los resultados deberán ser vistos con precaución al momento de hacer generalizaciones. Sin embargo, la alta proporción de deficiencia encontrada, es similar a la prevalencia reportada en estudios nacionales de otros países (6,21,22).

Estos resultados señalan que en México la deficiencia de vit-B<sub>12</sub> puede ser un problema de salud pública importante en los adultos mayores. No obstante, una proporción considerable

(18%) presentó niveles elevados (rango 950 a 230,893.03 pmol/L) de esta vitamina. Con respecto al exceso, los voluntarios no presentaron evidencias clínicas de alguna enfermedad hepática o mieloproliferativa o errores inherentes a la determinación sérica que pudieran asociarse con valores elevados. Por ello, es de suponerse que las altas concentraciones pudieran ser debidas a la administración de hidroxocobalamina, debido a que con la ingestión dietaria, no se alcanzan los niveles farmacológicos encontrados. Con respecto a la administración de hidroxocobalamina, es importante mencionar que durante la entrevista y el examen médico, se les preguntó si habían tomado vit-B<sub>12</sub> o inyectado hidroxocobalamina y los voluntarios dijeron que no. Al observar los resultados, los voluntarios y familiares se contactaron nuevamente para preguntarles al respecto y recordaron que efectivamente si se habían inyectado o tomado algún multivitamínico meses previos al estudio. Se ha reportado que los niveles elevados de esta vitamina se han asociado con mayor mortalidad en adultos mayores (23,24).

Los voluntarios incluidos en el estudio tenían un estado de nutrición por IMC de normal a obesidad, no siendo así para el caso del estado de los micronutrientes. Por un lado, 30 voluntarios presentaron deficiencia y 18 tenían exceso de vit-B<sub>12</sub> en suero, lo cual podría señalar una mala nutrición asociada a otras causas no dietarias como la mala absorción de cobalamina unida a los alimentos y el uso o abuso de suplementos nutricionales. Independientemente de las causas, una de las implicaciones en materia de nutrición y salud de encontrar deficiencia de vit-B<sub>12</sub> es el posible riesgo cardiovascular vía hiperhomocisteinemia. Se reconoce que esta última es un factor independiente de riesgo cardiovascular (25). Así mismo, el estudio Framingham encontró que más de dos tercios de los casos con niveles elevados de homocisteína se asociaron con un estado inadecuado de vit-

B<sub>12</sub> (26). Considerando a quienes presentaron deficiencia, un 30% podría estar en riesgo de presentar hiperhomocisteinemia y por consiguiente, riesgo de enfermedad cardiovascular. Así mismo estos adultos podrían estar en riesgo de desarrollar anemia megaloblástica debido a la falta de vit-B<sub>12</sub>. En un estudio con adultos mayores de Buenos Aires Argentina se encontró hiperhomocisteinemia en un 69.8%, así como deficiencia de B<sub>12</sub> y folato sérico (27).

Otra implicación es que el consumo de alimentos fortificados con vit-B<sub>12</sub>, no pudieran impactar favorablemente a los sujetos con deficiencia de esta vitamina debido los problemas de mala absorción que se acentúan con el envejecimiento. Se reconoce que la mala absorción de vit-B<sub>12</sub> unida a los alimentos es una de las principales causas de deficiencia. Este síndrome se caracteriza por la inhabilidad para liberar la vit-B<sub>12</sub> de las proteínas dietarias y mientras que la absorción de vit-B<sub>12</sub> libre, permanece normal (28).

Con relación al efecto del sexo sobre las concentraciones y prevalencia de deficiencia de vit-B<sub>12</sub> se reconoce que las mujeres son más susceptibles de presentar deficiencia debido a la anemia perniciosa por la falta del factor intrínseco, no obstante los hombres de este estudio presentaron valores significativamente menores que las mujeres. Estos resultados son similares a los reportados por Carmel y colaboradores (29). Lo anterior sugiere que la deficiencia en hombres podría estar relacionada con otras causas de deficiencia de vit-B<sub>12</sub> (29) como podría ser una ingestión insuficiente o por infección de *Helicobacter pylori*. Se reconoce que esta última es mas frecuente en hombres que en mujeres.

Se ha reportado que del 20% al 50% de adultos mayores tiene gastritis crónica atrófica asociada a *Helicobacter pylori* (30). Dadas las limitaciones metodológicas en el diseño del estudio y la alta proporción de adultos mayores con deficiencia de vit-B<sub>12</sub>, se podría suponer que la alta prevalencia de esta deficiencia pudiera deberse a una malabsorción de cobalamina unida a los alimentos, en donde la gastritis crónica asociada a *H. pylori* podría ser una contribuyente importante. La característica principal de esta enfermedad es la reducción de la secreción de ácido clorhídrico y pepsinógeno.

En relación al folato no se encontró ningún adulto mayor con deficiencia, por el contrario una proporción importante (62%) presentó niveles elevados, lo que señala que posiblemente la concentración elevada de folato en plasma se deba a cambios recientes en el consumo de alimentos fortificados con ácido fólico o por el consumo de suplementos vitamínicos. En México, la Secretaria de Salud inició un programa para promover la adición de nutrimentos a las harinas de trigo y maíz (alimentos de mayor consumo a nivel nacional) que se procesan industrialmente. Se recomendó la adición de 2 mg/kg y 0.5 mg/kg de ácido fólico para las harinas de trigo y maíz, respectivamente (31). En Estados Unidos se ha demostrado una mejora en los niveles séricos de folato

después de la política de fortificación de granos y cereales (32). Es importante puntualizar que para deficiencia de folato se debe de utilizar los niveles eritrocitarios, los cuales indican las reservas corporales. No obstante, al haber una mejora en los niveles de folato también existe una mejora en los niveles eritrocitarios (29). Considerando esto último y los valores séricos de folato encontrados suponemos los voluntarios realmente no presentaban deficiencia de folato.

## CONCLUSIONES

La proporción de adultos mayores con deficiencia de vit-B<sub>12</sub> fue alta en ambos sexos. No siendo así para el ácido fólico. Los hombres presentaron niveles séricos más bajos que las mujeres. Considerando los efectos reportados de la deficiencia de vit-B<sub>12</sub> y la alta proporción encontrada en este trabajo, se sugiere realizar más estudios dirigidos a evaluar el estado de nutrición de vit-B<sub>12</sub> e investigar las causas de la deficiencia tanto nutricionales como no nutricionales o dietarias. De manera adicional, seria importante investigar los riesgos asociados con la deficiencia en la población creciente de la tercera edad de México y otros países de América Latina. Con respecto al folato, una alta proporción presentó niveles elevado de esta vitamina en suero, por lo que se recomienda explorar el estado de nutrición del ácido fólico a través de la evaluación de niveles eritrocitarios y séricos, así como evaluar el impacto de la fortificación de harinas y cereales en México.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo de CONACYT (J37891-M) para el proyecto: Estudio de la composición corporal en el adulto mayor, con el modelo de cuatro compartimientos basado en densitometría (pletismografía y absorciometría dual de rayos X) y deuterio, del cual se derivó el presente trabajo de investigación. Asimismo, al Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. A los voluntarios y a sus familiares, así como también al MC Rene Urquidez, MC Raquel Huerta Huerta, MC Flavia A. Pérez, QFB Diana Mendoza y al Médico Francisco Navarrete por el apoyo técnico brindado.

## REFERENCIAS

1. Wolters M, Ströhle A, Hahn A. Cobalamin: a critical vitamin in the elderly. *Prev Med* 2004; 39:1256-66.
2. Smulders Y, Stehouwer CD. Folate metabolism and cardiovascular disease. *Semin Vasc Med* 2005; 5(2):87-97.
3. Verhoef, P. y De Groot L. Dietary determinants of plasma homocysteine concentrations. *Semin Vasc Med* 2005;5:110-4.
4. Wilmink AB, Welch AA, Quick CR, Burns PJ, Hubbard CS, Bradbury AW *et al.* Dietary folate and vitamin B<sub>6</sub> are independent predictors of peripheral arterial occlusive disease. *J Vasc Surg* 2004;39:513-516.

5. Aronow WS, Wilbert S. Homocysteine. The association with atherosclerotic vascular disease in older persons. *Geriatrics* 2003;58:22-28.
6. Clarke R, Grimley J, Schneede J, Nexo E, Bates C, Fletcher A *et al.* Vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency in later life. *Age Ageing* 2004;33:34-41.
7. Clarke R, Refsum H, Birks J, Grimley J, Johnston C, Sherliker P, *et al.* Screening for vitamin B-12 and folate deficiency in older persons. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1241-1247.
8. Russell RM. The aging process as a modifier of metabolism. *Am J Clin Nutr* 2000;72:529-532.
9. Allen LH, Rosado JL, Casterline JE, Martinez H, Lopez P, Muñoz E, Black AK. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency and malabsorption are highly prevalent in rural Mexican communities. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1013-1019.
10. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board V. Dietary reference intakes for thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B<sub>6</sub>, folate, vitamin B<sub>12</sub>, pantothenic acid, biotin, and choline. A report of the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Others B vitamins, and Choline and Sub-committee on Upper Reference Levels of Nutrients. Washington, DC: National Academy Press; 1998.
11. Dharmarajan TS, Adiga GU, Norkus EP. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency. Recognizing subtle symptoms in older adults. *Geriatrics* 2003;58:30-38.
12. Stabler SP, Allen RH. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr* 2004; 24:299-326.
13. Green TJ, Venn BJ, Skeaff CM, Williams SM. Serum vitamin B<sub>12</sub> concentrations and atrophic gastritis in older New Zealanders. *Eur J Clin Nutr* 2005;59:205-210.
14. Gumurdulu Y, Serin E, Ozer B, Kayaselcuk F, Kul K, Pata C, Guclu M, Gur G, Boyacioglu S. Predictors of vitamin B12 deficiency: age and *Helicobacter pylori* load of antral mucosa. *Turk J Gastroenterol.* 2003;14:44-9.
15. Food and Drug Administration. 1996. Food standards: amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid, final rule. *Fed. Regist.* 61: 8781-8797.
16. Durnin JVGA. Anthropometric methods for assessing nutritional status. In: Horowitz A, Macfadyen DM, Munro H, Scrimshaw NS, Steen B and Williams TF, eds. *Nutrition in the Elderly.* Oxford University Press 1989:15-32.
17. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic of obesity. Report of the WHO Consultation of Obesity. Geneva, 3-5 June 1997.
18. Andres E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, Noblet-Dick M, Maloisel F, Schlienger JL, Blickle JF. Vitamin B<sub>12</sub> (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ* 2004;171:251-259.
19. de Jong N, Green TJ, Skeaff CM, Gibson RS, McKenzie JE, Ferguson EL. Vitamin B<sub>12</sub> and folate status of older New Zealand women. *Asia Pac J Clin Nutr* 2003;12:85-91.
20. Hermann W, Obeid R, Schorr H, Geisel J. Functional vitamin B<sub>12</sub> deficiency and determination of holotranscobalamin in populations at risk. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1478-1488.
21. Figlin E, Chetrit A, Shahar A, Shpilberg O, Zivelin A, Rosenberg N, *et al.* High prevalences of vitamin B<sub>12</sub> and folic acid deficiency in elderly subjects in Israel. *Br J Haematol* 2003;123:696-701.
22. Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PWF, Stabler SP, Allen RH. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *Am J Clin Nutr* 1994;60:2-11.
23. Ermens AA, Vlasvled LT, Lindemans J. Significance of elevated cobalamin (vitamin B12) levels in blood. *Clin Biochem* 2003;36:585-90.
24. Salles N, Hermann F, Sakbani K, Rapin CH, Sieber C. High vitamin B12 level: a strong predictor of mortality in elderly inpatients. *J Am Geriatr Soc* 2005;53:917-8.
25. Coffey M, Crowder GK, Cheek DJ. Reducing coronary artery disease by decreasing homocysteine levels. *Crit Care Nurse* 2003; 23(1):25-30.
26. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. Relationship between plasma homocysteine and vitamin status in the Framingham study population. Impact of folic acid fortification. *Public Health Rev.* 2000; 28(1-4):117-45.
27. Janson JJ, Galarza CR, Murua A, Quintana I, Przygoda PA, Waisman G, *et al.* Prevalence of hyperhomocysteinemia in an elderly population. *Am J Hypertens* 2002;15:394-7.
28. Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu Rev Med* 2000; 51:357-75.
29. Carmel R, Green R, Jacobsen DW, Rasmussen 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;70:904-10.
30. Baik HW y Russell RM. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in the elderly. *Ann Rev Nutr* 1999; 19:357-377.
31. Jorge L, Rosado JL, Camacho-Solís R, Bourges H. Adición de vitaminas y minerales a harinas de maíz y de trigo en México. *Salud Publica Mex* 1999;41:130-137.
32. Dietrich M, Brown CJ, Block G. The effect of folate fortification of cereal-grain products on blood folate status, dietary folate intake, and dietary folate sources among adult non-supplement users in the United States. *J Am Coll Nutr* 2005;24:266-74.

Recibido:06-03-2006

Aceptado: 02-06-2006

## Indice de Masa Corporal al comienzo del embarazo en un grupo de gestantes venezolanas de bajo estrato socioeconómico y su relación con la antropometría de sus recién nacidos

Armando Sánchez Jaeger, Sara Irene Del Real Vargas, Liseti Solano Rodríguez, Evelyn Peña Perdomo y María Adela Barón

Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela

**RESUMEN.** Para evaluar la relación entre el índice de masa corporal (IMC) materno al comienzo del embarazo y la antropometría del recién nacido (RN), se estudiaron 105 binomios (madre-recién nacidos) en una Maternidad pública de Valencia, Venezuela (1998-2002). Se registró el peso y talla en mujeres adultas que acudieron al primer control prenatal entre las semanas 10 y 15 de gestación y su IMC se caracterizó a través de la referencia de Atalah (Bajo peso, Normalidad y Sobrepeso). Sus hijos (RN a término) fueron evaluados calculando su edad gestacional por el método de Capurro y se registró su peso, talla y circunferencia cefálica, con caracterización nutricional a través de una referencia venezolana. Se consideró RN "pequeño para edad gestacional" (PEG) aquel con peso al nacer  $\leq$  percentil 10 y "grande para edad gestacional" (GEG) aquel con peso  $\geq$  percentil 90. Para las comparaciones de grupo se utilizó el análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba Post Hoc de Tukey. Se observó un 41,9% de madres en "Bajo peso" y un 13,4% de RNPEG. Hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) al comparar los valores de peso y de talla del RN según IMC materno "Bajo peso" con "Normalidad" y "Sobrepeso". Se evidenció una elevada prevalencia de déficit nutricional materno desde el inicio del embarazo, así como una relación entre el IMC materno y la antropometría de sus recién nacidos.

**Palabras clave:** Índice de masa corporal materno, antropometría neonatal.

**SUMMARY.** Body Mass Index in a group of Venezuelan pregnant women and its relationship with the newborns' anthropometry. To assess the relationship between maternal body mass index (BMI) at early gestation and the newborns' anthropometry, 105 mother-infant dyads from a public Maternity Hospital in Valencia Venezuela, were studied during 1998-2000. Weight and height of adult women between 10 and 15 weeks of gestation were used to calculate BMI according to Atalah's reference (Low weight, Normal, Over weight). Term newborns were assessed using gestational age calculated according to the Capurro method. Their weight, height, and head circumference were recorded, and were characterized using a Venezuelan reference. Newborns whose birth weight (BW) was  $\leq$  10th percentile were considered "small for gestational age" (SGA), and those with BW  $\geq$  90th percentile as "large for gestational age" (LGA). One-way ANOVA and Tukey's Post Hoc test were used for group comparisons. There were 41.9% of "low weight" mothers, and 13.4% of SGA newborns. There were differences in the newborns' weight and height according to "Low weight" maternal BMI with "Normal" and "Over weight" maternal BMI ( $p < 0.05$ ). A high prevalence of nutritional deficit was observed from the beginning of the gestational period, as well as a relationship between maternal BMI and the newborn's anthropometry.

**Key words:** Maternal body mass index, anthropometry of newborn

### INTRODUCCION

La antropometría materna tomada antes y durante la gestación tiene una estrecha relación con el crecimiento fetal y el peso del recién nacido (1,2). De los indicadores antropométricos maternos que han mostrado asociación positiva con el peso al nacer, tenemos el peso pregestacional, la estatura, la ganancia de peso, la circunferencia media del brazo, los cambios en los pliegues subcutáneos y el índice de masa corporal (IMC) (3,4). El IMC ( $\text{peso}/\text{talla}^2$ ), ha sido recomendado por la OMS como un indicador básico para evaluar el estado nutricional durante la gestación (5). A pesar de estar influenciado por factores étnicos y genéticos, es un

adecuado marcador de la adiposidad y del balance de energía durante el embarazo.

La relación entre el IMC durante el embarazo y la antropometría del recién nacido ha sido evaluada en diversas poblaciones latinoamericanas (6-9). Se ha reportado que esta asociación podría estar mediada por la disponibilidad materna de energía y nutrientes, así como por el peso y volumen placentario (10).

El peso al nacer se ha descrito como un importante indicador de salud fetal y está fuertemente asociado a la supervivencia en la época neonatal. Las alteraciones nutricionales en el recién nacido se han asociado a incrementos en la morbilidad perinatal, a un lento potencial de crecimiento y a enfermedades crónicas no transmisibles en la adultez, lo cual representa desventajas para su salud y productividad futura (11,12). En Venezuela, a pesar de la

creciente tendencia en las alteraciones nutricionales del recién nacido (13), existe poca información que describa el efecto del estado nutricional materno sobre el peso y la talla al nacer, de allí que el objetivo principal del presente estudio fue realizar la evaluación antropométrica del binomio madre-recién nacido y estimar la relación entre el IMC al inicio del embarazo en un grupo de gestantes adultas venezolanas en pobreza y la antropometría de sus recién nacidos.

## METODOLOGIA

El diseño de la investigación fue observacional, prospectivo, tipo cohorte. La población estuvo conformada por todas las gestantes que asistieron a su primer control prenatal entre la semana 10 y 15 de gestación en la Maternidad pública "Dr. Armando Arcay" de la ciudad de Valencia, Venezuela (1998-2002). En dicha Maternidad se ofrece atención desde el inicio del embarazo a todas las gestantes con o sin riesgo, quienes pertenecen en su mayoría a estratos empobrecidos de la ciudad de Valencia.

La muestra estuvo formada por todas aquellas madres que iniciaron tempranamente su control prenatal y que aceptaron formar parte del estudio "Evaluación nutricional integral de la gestante y su recién nacido", llevado a cabo por el Centro de Investigaciones en Nutrición de la Universidad de Carabobo y que cumplieran con los siguientes criterios de inclusión: embarazo simple, ausencia de cifras elevadas de tensión arterial, diabetes, enfermedad renal o cualquier causa que las caracterizara como de alto riesgo. Adicionalmente todas debían tener su evaluación nutricional longitudinal hasta el postparto. En relación a los recién nacidos se incluyeron en la muestra aquellos entre 38 y 42 semanas de gestación, evaluados en las primeras 24 horas del nacimiento, ubicados en el retén fisiológico o en el cuarto de la madre y quienes no presentaron complicaciones, edemas ni céfalo-hematomas.

La evaluación nutricional en el primer trimestre fue realizada en 540 gestantes: 325 adultas (=19 años) y 215 adolescentes. Para el presente estudio se excluyeron las madres adolescentes. Acudieron a la evaluación nutricional del segundo trimestre 168 gestantes adultas (51% de la muestra inicial). En el tercer trimestre se evaluaron 144 gestantes y 138 llegaron al postparto. Finalmente, 105 binomios madre-recién nacidos cumplieron con todos los criterios de selección, constituyéndose en la muestra final de este estudio.

### Evaluación materna

La toma de las variables antropométricas fue realizada por personal entrenado y estandarizado. El peso materno se tomó en una balanza de pie marca "Health o Meter" con la gestante descalza y con bata ligera. La balanza se calibró previa pesada y se registró el peso en kilogramos. La toma de la estatura se realizó mediante el uso de una cinta métrica adosada a la pared,

mediante la técnica de la plomada (14). La gestante se midió sin zapatos, con los talones juntos, glúteos y espalda pegados a la pared y con la cabeza en el plano de Frankfort. Se colocó sobre la cabeza una escuadra de madera, colocando uno de los catetos contra la pared y el otro en contacto con la cabeza. La estatura se registró en centímetros.

La caracterización nutricional materna se realizó a través del IMC utilizando la referencia de Atalah, la cual contempla valores desde la semana 10 de gestación (15). Se consideraron tres grupos: gestantes en "Bajo peso", en "Normalidad" y en "Sobrepeso". Para la evaluación socioeconómica se utilizó el método Graffar-Méndez Castellano, modificado para Venezuela (16).

### Evaluación del recién nacido

Para el cálculo de la edad gestacional se utilizó el método clínico neurológico de Capurro (17), realizado por personal entrenado y estandarizado.

Se determinó el peso con el niño desnudo en una balanza pediátrica calibrada marca Detecto, registrando su valor en gramos. La estatura al nacer se midió en posición decúbito supino, utilizando un infantómetro, registrándose la medida en centímetros. La circunferencia cefálica se midió utilizando una cinta métrica que se pasó de izquierda a derecha en el punto máximo de la cabeza, por arriba del arco supraciliar y por detrás al nivel de la protuberancia occipital externa, registrando su valor en centímetros.

Con los datos de las variables antropométricas se construyeron los siguientes indicadores: Peso para edad gestacional, Talla para edad gestacional, Circunferencia cefálica para edad gestacional e Índice ponderal (peso/talla<sup>3</sup> x 100). Utilizando el indicador Peso para edad gestacional, se consideró "pequeño para edad gestacional" (PEG) a todo aquel recién nacido con un peso igual o menor al percentil 10, "adecuado para edad gestacional" (AEG) a aquellos con un peso mayor al percentil 10 y menor al percentil 90 y "grande para edad gestacional" (GEG) a todo recién nacido con un peso igual o mayor al percentil 90. Para las variables antropométricas del recién nacido, se utilizaron los valores de referencia de Henríquez, que incluyen distribuciones percentilares para peso, talla, circunferencia cefálica, del brazo e índice ponderal en recién nacidos venezolanos según semanas de gestación y género (18).

### Análisis de la información

El análisis de los datos se realizó usando el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 11. Se revisaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Se calcularon estadísticos descriptivos básicos; media, desviación estándar, frecuencias absolutas y relativas.

Para las comparaciones de la antropometría del recién nacido según el IMC al comienzo de la gestación se utilizó el

análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba Post Hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Un 33,3% ( $n=35$ ) de madres eran solteras y sin soporte de pareja. Solo el 66,7% ( $n=70$ ) terminó la educación básica. Un 82,9% de los binomios ( $n=87$ ) se encontraba en pobreza relativa (Estrato IV) y 17,1% ( $n=18$ ) en pobreza crítica o estrato social V.

En la Tabla 1, se presentan los estadísticos descriptivos de las variables maternas: semana de gestación, edad, peso, estatura e IMC del primer control prenatal. La caracterización nutricional materna según el IMC reportó un 41,9% ( $n=44$ ) de madres en "Bajo peso", un 43,8% ( $n=46$ ) en "Normalidad" y un 14,3% ( $n=15$ ) en "Sobrepeso" (Tabla 2).

TABLA 1

Semana de gestación, edad y variables antropométricas maternas

Variables maternas	Media	D.E.	Mín - Max
Semana de gestación	12,1	1,2	10,0-15,0
Edad (años)	22,3	5,5	19,0-40,0
Peso (kg)	55,1	10,0	37,5-92,7
Talla (cm)	158,0	5,6	145,0-175,0
Índice de Masa Corporal ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	22,0	3,5	16,6-34,5

TABLA 2

Caracterización del IMC materno al inicio de la gestación

IMC materno (n - %)	Media	D.E.	Mín - Max
Bajo peso (44 - 41,9)	18,9	1,0	16,6-20,3
Normalidad (46 - 43,8)	22,8	1,3	20,4-25,4
Sobrepeso (15 - 14,3)	28,7	2,2	25,8-34,5

La información del recién nacido: edad gestacional, peso, estatura, circunferencia cefálica e índice ponderal se presenta en la Tabla 3. Los recién nacidos varones presentaron valores antropométricos más altos que las niñas, con diferencias significativas en la circunferencia cefálica. Con relación a la caracterización nutricional según el indicador peso para edad gestacional, se encontró un 84,8% de RNAEG, un 1,9% clasificó como GEG y el 13,4% restante como PEG.

TABLA 3

Edad gestacional y variables antropométricas en los recién nacidos

Variable antropométrica	Media	D.E.	Mín - Max
Edad gestacional (semanas)	39,2	0,9	38,0-42,0
Peso al nacer (g)	2958,6	358,6	1700,0-3900,0
Talla al nacer (cm)	48,9	1,8	44,3-54,0
Circunferencia Cefálica (cm)	33,5	1,1	30,5-35,8
Índice Ponderal (Peso/talla <sup>3</sup> x100)	2,4	0,2	1,9-3,1

A mayor IMC materno, mayor fue el peso y la talla de los recién nacidos. Las diferencias significativas para ambas variables al nacer según el IMC materno se presentaron entre las madres en "Bajo peso" con el grupo en "Normalidad" y en "Sobrepeso" ( $p < 0,05$ ) (Tabla 4). La circunferencia cefálica osciló desde 33,4 cm. en los hijos de madres "Bajo peso", hasta 34,1 cm. en los hijos de madres "Sobrepeso", sin diferencias significativas entre los grupos.

TABLA 4

Peso (g) y Talla (cm) de los recién nacidos según IMC materno

	Media	D.E.
Peso al nacer (*)		
IMC (Bajo peso) <sup>a</sup>	2828,9	280,8
IMC (Normalidad) <sup>b</sup>	3007,4	388,4
IMC (Sobrepeso) <sup>b</sup>	3189,7	332,0
Talla al nacer (**)		
IMC (Bajo peso) <sup>a</sup>	48,0	1,2
IMC (Normalidad) <sup>b</sup>	49,5	2,1
IMC (Sobrepeso) <sup>b</sup>	50,1	1,2

ANOVA: \*  $p = 0,001$ ; \*\*  $p = 0,000$

a,b,c: Superíndices diferentes indican diferencias significativas (Tukey  $< 0,05$ )

## DISCUSION

La utilidad de la antropometría para predecir resultados en el embarazo está ampliamente aceptada. Su sencillez, viabilidad y aplicabilidad desde el nivel primario de atención en salud, le permite continuar siendo uno de los métodos más utilizados en la evaluación del estado nutricional tanto en la madre como en el recién nacido (19). El peso pregestacional o el tomado al inicio de la gestación, es el primer elemento a incluir en la evaluación nutricional y es de utilidad para realizar las recomendaciones dietéticas, así como para iniciar intervenciones nutricionales desde etapas tempranas. Cuando éste se relaciona con la estatura, a través del índice de masa

corporal, proporciona información sobre el nivel de reservas energéticas y sobre los componentes de la masa corporal total. Así mismo se ha descrito que el IMC tiene una alta correlación con la grasa corporal y parece estar muy relacionado con los niveles de consumo de alimentos (20,21).

El IMC del presente estudio ( $22 \text{ kg/m}^2$ ), al ser comparado con datos latinoamericanos se ubicó por debajo del reportado en Argentina por Bolzán ( $23,9 \text{ kg/m}^2$ ), en 1908 gestantes adultas evaluadas en el Municipio La Costa (22) y del reportado por Grandi ( $24,4 \text{ kg/m}^2$ ) en 9613 gestantes del Hospital Materno Infantil Ramón Sardá de Buenos Aires (8). Igualmente fue menor al reportado por Lagos en 9735 gestantes chilenas evaluadas al inicio de la gestación en la Maternidad del Hospital de la ciudad de Temuco ( $25,2 \text{ kg/m}^2$ ) (9). Esta situación podría atribuirse a la variabilidad biológica existente entre las distintas poblaciones, por ejemplo, en Chile (9) el valor promedio del IMC al inicio de la gestación fue muy cercano al punto de corte que caracteriza al sobrepeso y es una expresión de la acelerada transición epidemiológica reportada en dicha población (23).

El "Bajo peso" materno en el presente estudio (41,9%) fue mayor al reportado en Caracas por Rached (16,6%), en 314 gestantes adultas, en pobreza relativa (Estrato social IV), evaluadas al inicio de la gestación entre 1998 y el año 2002 (24). Esto podría deberse a las condiciones socioeconómicas de ambas muestras: el presente estudio estuvo conformado por madres tanto en pobreza relativa (Estrato social IV) como en pobreza crítica (Estrato social V), unido a un bajo nivel de escolaridad. El grupo evaluado por Rached, se encontraba en su totalidad en pobreza relativa (Estrato social IV), lo que traduce un nivel de privación menor al del grupo evaluado en el presente estudio.

El porcentaje de madres en "Bajo peso", también fue mayor al encontrado en Argentina por Bolzán (25%), en las gestantes del Municipio La Costa, donde se utilizó como punto de corte  $< -1$  desviación estándar para la caracterización del IMC (22) y mayor al reportado en Buenos Aires por Grandi (9,68%), en 9613 gestantes en quienes se utilizó al Instituto de Medicina como referencia para el IMC preconcepcional (8). Para la clasificación nutricional a través del IMC, se han publicado diversos valores de referencia. La referencia de Frisancho aplica criterios de clasificación determinados en percentiles según grupos de edad, mientras que el Instituto de Medicina de los Estados Unidos, la FAO/OMS y la referencia de Atalah recomiendan valores puntuales para dicho indicador, demostrando de esta manera la influencia que pudieran tener los criterios de clasificación y sus puntos de corte en el diagnóstico nutricional antropométrico (24).

En relación a las variables del recién nacido, el peso al nacer en el presente estudio (2958g) se ubicó alrededor del percentil 50 de la referencia venezolana utilizada para su clasificación (18) pero resultó menor a lo referido en Argentina

por Bolzán (3283g) (22) y Grandi (3375g) (8) y al reportado por Lagos en recién nacidos chilenos (3560g) (9). La talla al nacer del presente estudio (48,9cm) se ubicó igualmente dentro del valor de referencia utilizado para su clasificación (18) y por debajo de lo reportado por Bolzán (50,4cm) en los recién nacidos del Municipio La Costa de Argentina (22).

El porcentaje de recién nacidos PEG (13,4%) fue mayor al encontrado en Argentina por Grandi (6,3%) (8) y por Bolzán (10,6%) (22), en quienes también se utilizaron referencias locales en su clasificación. Esta situación podría atribuirse tanto a las características biológicas de la población de neonatos como al efecto de la antropometría materna sobre el producto. En las gestantes argentinas y chilenas, el peso materno al inicio de la gestación, así como su IMC presentaron valores más altos que los reportados en el presente estudio.

Al relacionar a las variables antropométricas del recién nacido y los diferentes grupos maternos caracterizados según el índice de masa corporal, se observó que a mayor IMC, mayor era el peso y la estatura del recién nacido. Esto concuerda con los trabajos realizados en la zona sur del continente, en Argentina se presentaron diferencias en el peso, talla y la circunferencia cefálica al nacer según la distribución del IMC materno entre las semanas 32 y 40 de gestación (22) y en Chile se encontró una correlación positiva entre el IMC materno durante el primer trimestre de gestación y el peso promedio de nacimiento (9). Biológicamente el IMC ha sido considerado como una expresión del crecimiento del producto y de los ajustes fisiológicos que experimenta la madre tales como la expansión del volumen sanguíneo, la acumulación de tejido graso y la presión diastólica materna (25).

Entre los mecanismos de asociación para un bajo IMC materno y las alteraciones nutricionales en el recién nacido se han descrito en primer lugar la escasa disponibilidad de energía materna. En ausencia del sustrato necesario para el adecuado crecimiento fetal, ocurre una limitación en la transferencia de nutrientes de la circulación materna a la fetal. Igualmente se han descrito asociaciones entre las alteraciones en las concentraciones séricas de leptina y bajos niveles en el IMC materno (26,27). Otros mecanismos implicados consideran que la desnutrición materna estaría asociada significativamente con una disminución tanto en el peso como en el volumen de la placenta, la cual tiene un rol fundamental en la transferencia de nutrientes y oxígeno al feto (28).

El presente estudio pone de manifiesto la elevada prevalencia de malnutrición por déficit al inicio de la gestación en un grupo de madres en pobreza de la región central de Venezuela, así como la presencia de relación entre el peso y talla al nacer con el IMC materno. Esto ratifica la importancia en el uso del IMC al inicio de la gestación, con el fin de identificar precozmente algún tipo de riesgo materno modificable y lograr la adecuada prevención de alteraciones nutricionales en el recién nacido.

## REFERENCIAS

1. Ehrenberg H, Dierker L, Milluzzi C, Mercer B. Low maternal weight, failure to thrive in pregnancy and adverse pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189 (6):1726-30.
2. Cedergren M. Maternal morbid obesity and the risk of adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 2004;103(2):219-24.
3. Shapiro C, Sufija V, Bush J. Effect of maternal weight gain on infant birth weight. *J Perinat Med* 2000;28(6):428-31.
4. Guihard-Costa A, Paapiernik E, Kolb S. Maternal predictor of subcutaneous fat in the term newborn. *Acta Paediatr* 2004;93(3):346-9.
5. World Health Organization (WHO). Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry. WHO Technical Report Series 854. Geneva. WHO. 1995.
6. Neel N, Alvarez J. Factores de riesgo de malnutrición fetal en un grupo de madres y neonatos guatemaltecos. *Bol Oficina Sanit Panam* 1991;25(2):152-164.
7. Bolzan A, Guimarey L, Norry M. Height, weight and body mass index differences between adolescent and adult mothers during pregnancy and fetal growth. *Acta Med Auxol* 1999;31:9-13.
8. Grandi C. Relación entre la antropometría materna y la ganancia de peso gestacional con el peso de nacimiento, y riesgos de peso bajo al nacer, pequeño para la edad gestacional y prematuridad en una población urbana de Buenos Aires. *Arch Latinoamer Nutr* 2003;53(4):369-375.
9. Lagos R, Espinoza R, Orellana J. Estado nutricional materno inicial y peso promedio de sus recién nacidos a término. *Rev Chil Nutr* 2003;31(1): 52-57.
10. Kinare A, Natekar A, Chinchwadkar M, Yajnik C, Coyaji K, Fall C, Howe D. Low midpregnancy placental volume in rural Indian women: A cause for low birth weight. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(2):443-8.
11. González-Barranco J, Rios-Torres J. Early malnutrition and metabolic abnormalities later in life. *Nutr Rev* 2004;62:S134-140.
12. Huxley R, Owen C, Whincup P, Cook D. Birth weight and subsequent cholesterol levels: exploration of the "fetal origins" hypothesis. *JAMA* 2004;292(22):275-65.
13. Instituto Nacional de Nutrición (I.N.N.). Boletín Informativo. Sistema de Vigilancia Alimentaria y Nutricional (SISVAN), Caracas; 2001-2002.
14. Hernández R. Manual de Antropometría Nutricional. Técnicas-Instrumentos. Laboratorio de Evaluación Nutricional. Universidad Simón Bolívar, Caracas 1997.
15. Atalah E, Castillo C, Castro R. Propuesta de un nuevo estándar de evaluación nutricional en embarazadas. *Rev Med Chil* 1997;125:1429-36.
16. Méndez Castellano H, de Méndez M. Sociedad y Estratificación. Método Graffar-Méndez Castellano; 1994.
17. Capurro H, Konicherk S, Fonseca S. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 1978;93(1):120-122.
18. Henríquez G. Evaluación nutricional del recién nacido. En: Henríquez Pérez, Landaeta-Jiménez M, Dini Golding E, editores. Nutrición en Pediatría. Centro de Atención Nutricional Infantil Antimano. Caracas: CANIA; 1999. p. 63-73.
19. Krasovec K, Anderson M. Background Issues. In: Krasovec K and Anderson M editors. Maternal Nutrition and Pregnancy Outcomes. Anthropometric Assessment. Pan American Health Organization. Washington, D.C. Scientific Publication N° 529. 1991:161-72.
20. Adair L. Peso para la talla e índice de masa corporal en mujeres no embarazadas. En: Nutrición materna y productos del embarazo. Evaluación antropométrica. OPS y OMS. Washington, D.C. Publicación Científica 529. 1991:205-16.
21. F.A.O. Body Mass Index. A measure of chronic energy deficiency in adults. N° 56. 1994:43-50.
22. Bolzán A, Guimarey L. Relación entre el índice de masa corporal durante la gestación en embarazadas adolescentes y adultas, indicadores de crecimiento fetal y retardo de crecimiento intrauterino. La Costa, Argentina. *Arch Latinoamer Nutr* 2001;51(2):145-150.
23. Albala C, Vio F, Kain J. Obesity, an undersolved challenge in Chile. *Rev Med Chile* 1998;126(8):1001-9.
24. Rached I, Henriquez G, Azuaje A. Efectividad del índice de masa corporal en el diagnóstico nutricional de gestantes. *Arch Latinoamer Nutr* 2005;55(1):42-46.
25. Laor A, Stevenson D, Shemer J, Galer R, Seidman D. Size at birth, maternal nutritional status in pregnancy and blood pressure at age 17. *BMJ* 1997;315:449-453
26. Mantzoros C. Role of leptin in reproduction. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 2000;900:174-183.
27. Lepercq J, Guerre-Millo M, Anche J, Auzac M, Hauguel S. Leptin: a potential marker of placental insufficiency. *Gynecol Obstet Invest* 2003;55(3):151-5.
28. King J. Physiology of pregnancy and nutrient metabolism. *Am J Clin Nutr* 2000;71 (Suppl):121S-25S.

Recibido: 21-11-2005

Aceptado: 05-05-2006

## Efeito de um novo produto fermentado de soja, enriquecido com isoflavonas e cálcio, sobre o tecido ósseo de ratas

Raquel Bedani, Elizeu Antonio Rossi, José Salvador Lepera, Charles Chenwei Wang, Graciela Font de Valdez

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, SP, Brasil.  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil

**RESUMO.** O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da ingestão de um produto a base de soja, fermentado com *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus jugurti*, enriquecido com isoflavonas e cálcio sobre o peso corpóreo e sobre o tecido ósseo de ratas maduras ovariectomizadas. Os animais foram divididos em 5 grupos: pseudo-ovariectomizados, ovariectomizados, ovariectomizados que ingeriram produto fermentado de soja enriquecido com isoflavonas e cálcio, ovariectomizados que ingeriram produto fermentado de soja enriquecido com cálcio e ovariectomizados que ingeriram produto não fermentado enriquecido com cálcio. Tíbias e fêmures foram utilizados para análise do comprimento ósseo; ensaio mecânico de flexão de três pontos; densidade óssea (princípio de Arquimedes); conteúdo mineral ósseo; conteúdo de cálcio ósseo e medida das larguras das trabéculas. A ingestão do produto fermentado de soja enriquecido com isoflavonas e cálcio apesar de não ter exercido efeitos nos parâmetros como comprimento, densidade, conteúdo mineral, conteúdo de cálcio e carga máxima suportada, foi capaz de evitar o aumento de peso corpóreo causado pela ovariectomia, além de ter demonstrado uma tendência à proteção das trabéculas, prevenindo a redução da largura das mesmas ocasionada pela castração.

**Palavras chave:** Produto fermentado de soja; isoflavonas; cálcio, tecido ósseo.

**SUMMARY.** Effect of a novel soy fermented product enriched with isoflavones and calcium on bone tissue of rats. The objective was to evaluate the effect of soy fermented product intake on the corporal weight and bone tissue of ovariectomized mature rats. This product was fermented with *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus jugurti* and enriched with isoflavones and calcium. The animals were divided in 5 groups: sham-ovariectomized; ovariectomized; ovariectomized treated with soy fermented product enriched with isoflavones and calcium; ovariectomized treated with soy fermented product enriched with calcium and ovariectomized treated with non-fermented product enriched only with calcium. In order to evaluate the effect of the tested product on bone tissue (femur and tibia), the following parameters were analyzed: length; mechanical assay of three points; density (Archimedes principle); mineral content; calcium content; measure of the trabecular widths. The corporal weight of group treated with soy fermented product containing isoflavones and calcium showed no statistical difference from sham-ovariectomized group and trabecular widths tended to have larger than ovariectomized group. However, there was no significant difference to the other evaluated parameters in result of the diverse treatments. Thus, soy fermented product enriched with isoflavones and calcium inhibited the increasing of corporal weight caused by ovariectomy and revealed a tendency to trabecular protection after castration.

**Key words:** Soy fermented product; isoflavones; calcium; bone tissue.

### INTRODUÇÃO

A menopausa está associada ao aumento da incidência de várias doenças crônicas como a obesidade, doenças cardiovasculares e osteoporose (1). A prevalência dessas doenças em idosos são, principalmente, decorrentes de alterações no metabolismo lipídico e mudanças na composição corporal que inclui a diminuição de massa óssea (1).

Suplementos de cálcio são prescritos para mulheres na pós-menopausa com massa óssea reduzida e ou histórico de fratura, em associação à Terapia de Reposição Hormonal (TRH). Estudos sugerem que o alto consumo de cálcio aumenta o efeito protetor da TRH nos ossos (2,3). Embora a TRH diminua o risco de desenvolver osteoporose, ela aumenta o risco para os cânceres de endométrio, ovário e mama (4). Como forma de evitar os efeitos adversos decorrentes da administração de

estrogênios, os fitoestrógenos em especial, as isoflavonas, têm sido propostos como alternativa segura para diminuir a perda de massa óssea que ocorre com a menopausa. As isoflavonas são encontradas principalmente na soja e apresentam estrutura e função similares ao 17  $\beta$ -estradiol (5).

Estudos usando roedores ovariectomizados mostram que as isoflavonas, isoladas ou associadas à proteína de soja, reduzem a perda de massa óssea que ocorre após a ovariectomia (6,7). Em humanos, alguns estudos mostram que as isoflavonas atenuam a perda óssea que ocorre durante e depois da menopausa (8-10). Há evidências epidemiológicas e clínicas apontando para uma relação positiva entre o consumo de isoflavonas e a densidade mineral óssea.

Diversos estudos mostram que o sistema imune possui um papel importante no remodelamento ósseo, particularmente em relação à influência das citocinas na regulação autócrina e

parácrina da atividade das células ósseas (11,12).

Considerando que o produto a base de soja fermentado com *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus jugurti* apresenta significativa capacidade de estimulação de vários parâmetros imunológicos (13), o presente estudo teve por objetivo avaliar a ação deste produto, quando enriquecido com isoflavonas e cálcio, sobre o desenvolvimento do peso corpóreo e sobre o tecido ósseo de ratas maduras ovariectomizadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Constituído por amostras de produto a base de soja fermentado com *E. faecium* CRL 183 e *L. jugurti* 416 e enriquecido com isoflavonas e cálcio.

### Obtenção das amostras

O produto fermentado de soja, popularmente denominado de “iogurte” de soja, foi obtido a partir do extrato aquoso (“leite” de soja), processado pela Unidade de Desenvolvimento e Produção de Derivados de Soja – UNISOJA, instalada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, segundo a metodologia descrita por Rossi et al. (14) A partir desse produto, o enriquecimento com isoflavonas foi feito utilizando-se um produto comercial constituído de 43,8% de isoflavonas, sendo 14,6% de genisteína; 5,4% de genistina; 8,6% de daidzeína; 12% de daidzina; 2,4% de glicetina e 0,8% de gliciteína (Isoflavin®, Galena Química e Farmacêutica Ltda, Brasil). O isoflavin, dissolvido em sorbitol (Synth, Brasil), foi adicionado em quantidade suficiente para fornecer uma concentração de 0,7 mg de isoflavonas/mL de produto fermentado de soja, similar à concentração média de isoflavonas verificada no grão de soja *in natura*. Foi também processado um produto não fermentado, de composição idêntica ao do fermentado, apenas sem os microrganismos, e, portanto, acidificado com ácido láctico até pH 4,3. O enriquecimento com cálcio foi 0,6 mg de cálcio elementar/mL de produto fermentado e não fermentado, utilizando-se o citrato tribásico de cálcio (Montedison Farmacêutica, Brasil), segundo metodologia descrita por Umbelino et al (15).

### Animais e protocolo experimental

Foram utilizadas 45 ratas da raça Wistar, com 12 semanas de idade, nulíparas, peso inicial aproximado de 250 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos (Todos os procedimentos quanto ao manuseio dos animais estão de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA). Os animais foram mantidos sob fotoperíodo controlado (10 horas claro/14 horas escuro), em temperatura entre 20°C a 24°C, alimentados *ad libitum* com ração comercial para ratos, marca Purina, contendo

23% de proteína; 46% de carboidrato; 11% de lipídeos; 5% de fibras e 10% de cinzas. As ratas foram divididas, aleatoriamente, em 5 grupos (n=9). O primeiro grupo foi constituído de animais pseudo-ovariectomizados (grupo I), cujos ovários foram manuseados, porém não removidos, e os outros 4 grupos foram ovariectomizados, segundo o modelo proposto por Kalu (16). A ovariectomia bilateral foi realizada segundo metodologia descrita por Zarrow et al. (17) Todas as cirurgias foram realizadas na 12ª semana de vida dos animais.

Dentre os grupos que sofreram a ovariectomia, o grupo II foi constituído de ratas alimentadas apenas com ração comercial; o grupo III, além da ração, recebeu uma dose 4mL/kg de peso corpóreo por dia de produto fermentado de soja enriquecido com isoflavonas e cálcio; o grupo IV constituiu-se de indivíduos alimentados com ração padrão e 4mL/kg de peso corpóreo por dia de produto fermentado de soja enriquecido com cálcio; o grupo V, com animais alimentados com ração padrão e 4mL/kg de peso corpóreo por dia de produto não fermentado, acidificado com ácido láctico até pH 4,3 e enriquecido com cálcio. Durante o período de experimentação (3 meses), os animais foram submetidos à avaliação semanal do peso corpóreo.

Após 3 meses de tratamento, os animais foram sacrificados com a utilização de câmara de gás carbônico, sendo, em seguida, retirados os fêmures e tíbias esquerdos e direitos. Os ossos foram mantidos em solução salina a 0,9% na temperatura de -20°C até o momento da análise.

### Comprimento ósseo

Os comprimentos ósseos da tíbia e fêmur esquerdos foram medidos em milímetros, com precisão de 0,01, por meio de um paquímetro (Mitutoyo, Japão).

### Ensaio mecânico de flexão de três pontos

Foi realizado o teste biomecânico (flexão óssea) nas tíbias direitas. Os ensaios mecânicos foram realizados em dinamômetro (Instron, modelo 4444, E.U.A.), em temperatura ambiente, segundo Peng et al. (18).

### Densidade óssea

As tíbias esquerdas, após hidratação (19), foram pesadas imersas em água à temperatura ambiente, suspensas individualmente por um fio de cobre e determinado o peso imerso (Pi). Em seguida, as tíbias foram enxutas e pesadas no ar para a determinação do peso ósseo (P).

Com os valores obtidos de peso ósseo imerso e peso ósseo foi possível calcular o volume ósseo (V) e a densidade óssea (d) segundo o Princípio de Arquimedes (20).

$$V = P - P_i / d \text{ água} \quad (\text{em cm}^3) \quad d = P / V \quad (\text{em g/cm}^3)$$

### Conteúdo mineral ósseo (CMO)

Foi calculado segundo Kenney et al. (21), pelas fórmulas:  $CMO = 100 \times (Pm/P)$  (amostra integral) e  $CMO = 100 \times (Pm/Ps)$  (amostra seca).

Para tanto, as tíbias esquerdas foram secas ( $100^{\circ}C/24h$ ), sendo obtido o peso da amostra desidratada (Ps). Todas as medidas foram realizadas em balança analítica com sensibilidade de 0,0001 (Boeco, Alemanha).

Após secagem, as amostras foram calcinadas ( $600^{\circ}C/24h$ ) para obtenção da matriz óssea mineral (Pm). As cinzas de cada tíbia foram pesadas individualmente em balança analítica com sensibilidade de 0,0001 (Boeco, Alemanha).

### Conteúdo de cálcio ósseo

Cerca de 50 mg das cinzas resultantes de cada fêmur direito foram dispersas em 2 mL de ácido clorídrico concentrado (E. Merck PA, 32%,  $d = 1,19$ , Alemanha) e quantitativamente transferidas para balão volumétrico de 100 mL, ajustando-se o volume com água deionizada. Uma alíquota de 2 mL da amostra diluída na razão de 1:10 foi misturada a 6 mL de cloreto de lantânio 0,2% (Vetec, Brasil), homogeneizada e analisada em espectrofotômetro de absorção atômica (Perkin Elmer 3110, E.U.A.).

### Análise de superfície óssea trabecular por microscopia eletrônica de varredura

Foi analisada, por microscopia eletrônica de varredura, a porção média distal das amostras do fêmur esquerdo.

As amostras foram tratadas para serem observadas ao microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM – T330A, Japão).

Foi utilizado o aumento de 50 vezes da amostra para a caracterização da região dos côndilos femorais. Observou-se qualitativamente a conectividade entre as trabéculas e as alterações da arquitetura trabecular (22).

Após a captação, as micrografias eletrônicas foram transferidas para o programa de análise digital Image-Pro Plus (versão 4.0). Foi possível selecionar trabéculas e efetuar a medida de suas larguras, a fim de comparar os diferentes grupos experimentais (22).

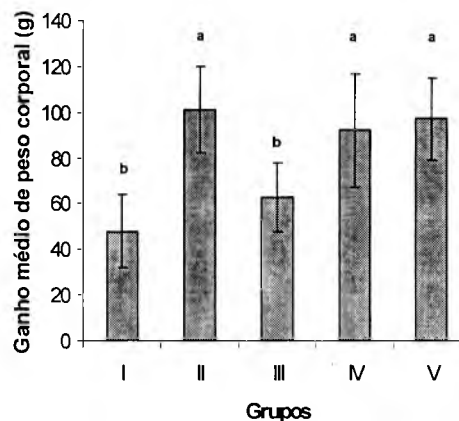
### Análise estatística dos dados

Todos os resultados representaram médias dos valores individuais relativos aos animais pertencentes a cada grupo, as quais foram submetidas à análise de variância e ao teste de médias de Tukey para a comparação entre grupos utilizando o software Jandel Sigma Stat (Jandel Corporation, San Rafael, CA, E.U.A.). Diferenças significativas foram assumidas quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Na Figura 1 estão apresentados os valores do ganho médio de peso corporal dos animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais.

FIGURA 1  
Ganho médio de peso corporal (g) dos diferentes grupos experimentais (N=45)



Colunas com letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ )

I – Grupo de animais pseudo-ovariectomizados

II – Grupo de animais ovariectomizados

III – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto fermentado suplementados com isoflavonas e cálcio

IV – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto fermentado suplementados com cálcio

V – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto não fermentado suplementado com cálcio

Embora os animais dos diferentes grupos de estudo não tenham diferido entre si quanto ao peso inicial e quanto ao consumo de ração ao longo do experimento, ao se comparar o ganho de peso dos animais do grupo I e II constata-se claramente que a ovariectomia provocou um aumento significativo no peso corpóreo, aumento esse que não pôde ser evitado nos animais do grupo IV e V, demonstrando que os tratamentos que esses grupos receberam não foram eficazes no sentido de impedir tal aumento. Por outro lado, o tratamento do grupo III (ingestão do produto fermentado enriquecido com isoflavonas e cálcio) foi capaz de manter o peso dos animais sem diferença significativa daqueles pertencentes ao grupo I, os quais não sofreram ovariectomia. Esse resultado pode ser atribuído à presença das isoflavonas, uma vez que os tratamentos do grupo III e IV diferem apenas quanto à presença desses fitoestrógenos.

Na Tabela 1, pode-se observar que todos os parâmetros ósseos não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ) em relação aos diferentes grupos experimentais. A partir desses resultados, constata-se que nem a ovariectomia, nem a ingestão dos

produtos a base de soja foram capazes de provocar alterações nos parâmetros em questão, tanto das tíbias quanto dos fêmures, sugerindo que, nas condições de estudo, não foram

adequados para se observar os efeitos da ovariectomia e dos diferentes tratamentos pelos quais as ratas foram submetidas.

TABELA 1  
Parâmetros ósseos relativos aos diferentes grupos experimentais (N=45)

Parâmetros	I	II	Grupos III	IV	V
Comprimento (mm)					
Tíbia	38,88 ± 0,78 <sup>a</sup>	38,36 ± 0,91 <sup>a</sup>	39,79 ± 0,34 <sup>a</sup>	38,76 ± 1,05 <sup>a</sup>	38,77 ± 0,83 <sup>a</sup>
Fêmur	36,27 ± 1,27 <sup>a</sup>	36,51 ± 1,18 <sup>a</sup>	36,25 ± 0,43 <sup>a</sup>	35,90 ± 1,00 <sup>a</sup>	35,91 ± 1,04 <sup>a</sup>
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	1,55 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,60 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,57 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,59 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,65 ± 0,11 <sup>a</sup>
Conteúdo mineral (%) (amostra integral)	67,06 ± 1,37 <sup>a</sup>	65,48 ± 1,32 <sup>a</sup>	68,21 ± 2,99 <sup>a</sup>	66,64 ± 1,19 <sup>a</sup>	67,33 ± 2,35 <sup>a</sup>
Conteúdo mineral (%) (amostra seca)	48,85 ± 3,11 <sup>a</sup>	44,30 ± 1,88 <sup>a</sup>	45,88 ± 2,83 <sup>a</sup>	46,49 ± 2,33 <sup>a</sup>	44,27 ± 2,73 <sup>a</sup>
Conteúdo de cálcio (mg/g de cinzas)	380 ± 10,00 <sup>a</sup>	380 ± 10,00 <sup>a</sup>	370 ± 0,00 <sup>a</sup>	380 ± 10,00 <sup>a</sup>	380 ± 10,00 <sup>a</sup>

Valores com letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (p<0,05)

I – Grupo de animais pseudo-ovariectomizados

II – Grupo de animais ovariectomizados

III – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto fermentado suplementados com isoflavonas e cálcio

IV – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto fermentado suplementados com cálcio

V – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto não fermentado suplementado com cálcio

Ainda em relação ao conteúdo mineral, observa-se na tabela I que o grupo II apresenta valores absolutos mais baixos, podendo ser um indicativo de tendência de redução dos valores desse parâmetro; tendência essa que provavelmente poderia ter sido confirmada estatisticamente caso o tempo de experimentação tivesse sido maior.

De acordo com a Figura 2, pode-se perceber que os cinco grupos experimentais não diferiram entre si (p>0,05) com relação à carga máxima suportada até o momento de ruptura da tíbia, mostrando que nem a ovariectomia, nem o consumo do produto fermentado foram capazes de provocar alterações na resistência óssea à fratura.

Numa primeira análise qualitativa, as amostras dos animais pseudo-ovariectomizados (grupo I) apresentaram predominância de estruturas trabeculares interconectadas (Figura 3a). Verificou-se, no grupo II (Figura 3b), que a ovariectomia provocou diminuição do volume tecidual na porção média entre os côndilos femorais, com alterações da arquitetura óssea trabecular ocorrendo maior espaçamento entre as trabéculas. As trabéculas mais largas foram substituídas por trabéculas mais finas, que apresentaram perda de conectividade com outras trabéculas vizinhas. No entanto, o grupo de animais que recebeu produto fermentado de soja enriquecido com isoflavonas e cálcio (grupo III) (Figura 3c) mostrou-se com menos escavações entre as trabéculas, além de

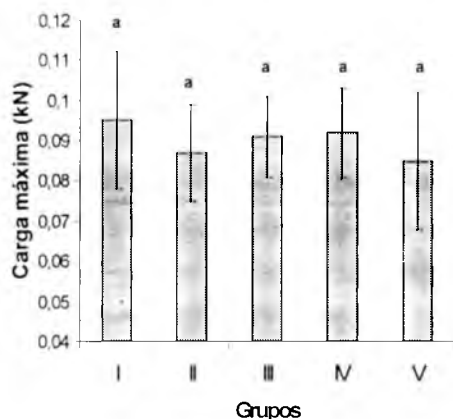
apresentarem trabéculas aparentemente mais grossas do que aquelas encontradas no grupo II (Figura 3b). Portanto, apenas através da análise qualitativa das micrografias eletrônicas de varredura dos animais pode-se sugerir que a ingestão do produto fermentado enriquecido com isoflavonas e cálcio (grupo III) permitiu que as interconectividades trabeculares fossem mantidas em condições semelhantes àquelas observadas para o grupo I (pseudo-ovariectomizado) e em condições melhores àquelas verificadas para o grupo II, IV e V.

O afinamento das trabéculas observado na análise qualitativa das micrografias eletrônicas (Figura 3b) para o grupo ovariectomizado (grupo II) pôde ser também verificado pela medida da largura das trabéculas (Figura 4).

Vale destacar que não foi realizado tratamento estatístico desse parâmetro pelo fato das trabéculas terem sido determinadas aleatoriamente e pelo número reduzido de amostras utilizadas na análise. É importante ressaltar que com a realização da criofatura não foi possível obter o mesmo corte, na mesma região óssea. No entanto, ao analisar os valores médios obtidos para a largura das trabéculas nota-se uma tendência de diminuição das mesmas no grupo de animais ovariectomizados (grupo II). Todavia, os fêmures dos animais que receberam o produto fermentado de soja enriquecido com isoflavonas e cálcio (grupo III) e os animais pseudo-ovariectomizados (grupo I) apresentaram uma tendência a larguras trabeculares maiores.

FIGURA 2

Carga máxima suportada (kN) até o momento de ruptura das tíbias direitas dos diferentes grupos experimentais (N=45)

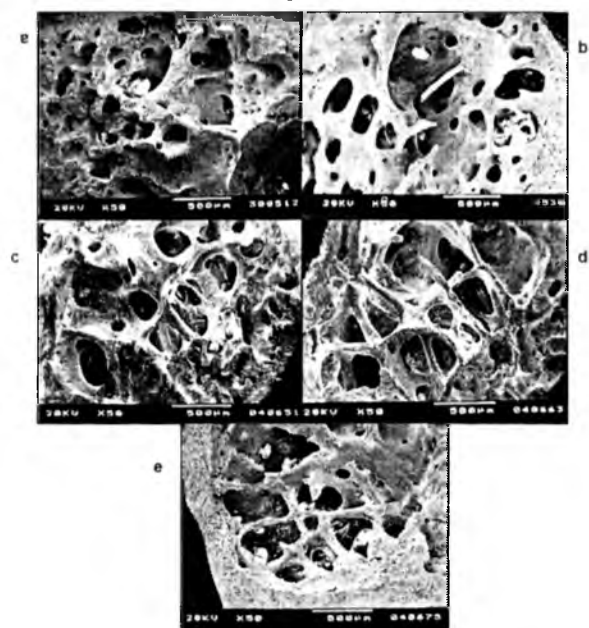


Colunas com letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

I – Grupo de animais pseudo-ovariectomizados. II – Grupo de animais ovariectomizados. III – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto fermentado suplementados com isoflavonas e cálcio. IV – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto fermentado suplementados com cálcio. V – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto não fermentado suplementado com cálcio.

FIGURA 3

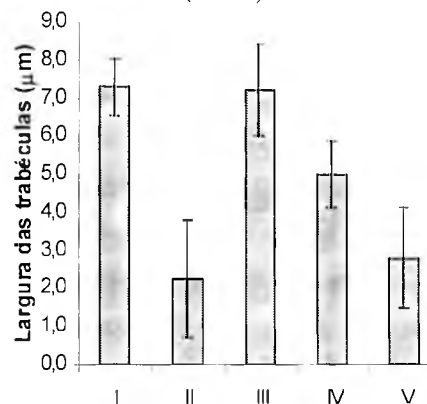
Micrografias eletrônicas de varredura (aumento 50 vezes) do fêmur esquerdo (N=20)



a) grupo de animais pseudo-ovariectomizados. b) grupo de animais ovariectomizados. c) grupo de animais ovariectomizados que ingeriu produto fermentado de soja enriquecido com isoflavonas e cálcio. d) grupo de animais ovariectomizados que ingeriu produto fermentado de soja enriquecido com cálcio. e) grupo de animais ovariectomizados que ingeriu produto não fermentado de soja.

FIGURA 4

Largura média das trabéculas ( $\mu\text{m}$ ) da porção média distal dos fêmures esquerdos dos diferentes grupos experimentais (N=20)



I – Grupo de animais pseudo-ovariectomizados. II – Grupo de animais ovariectomizados. III – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto fermentado suplementados com isoflavonas e cálcio. IV – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto fermentado suplementados com cálcio. V – Grupo de animais OVX que ingeriram o produto não fermentado suplementado com cálcio.

## DISCUSSÃO

Estudos mostram que o aumento de peso corpóreo pode estar relacionado à ovariectomia. De acordo com Arjmandi et al. (6) e Danielsen et al. (23), o ganho médio de peso corpóreo é maior em ratas ovariectomizadas, mesmo quando o consumo é similar ao de ratas intactas. Thompson et al. (24), num estudo a longo prazo com ratas, relataram um peso corporal maior em animais após 12 meses de ovariectomia e verificou também que o aumento da massa corporal foi devido inteiramente a um aumento no acúmulo de tecido adiposo, sem o aumento da massa de outros tecidos corporais.

O aumento de peso observado em ratas maduras também ocorre em mulheres no período pós-menopáusicas como consequência da falta de estrogênio (25). Trabalhos realizados com humanos têm demonstrado que as isoflavonas podem se apresentar como uma alternativa para o controle do metabolismo lipídico e da obesidade (8).

Arjmandi et al. (6), Deyhim et al. (26) e Breitman et al. (27), todos usando o modelo da rata madura, mas com diferentes períodos experimentais (35 dias, 40 dias e 2 meses, respectivamente) também não verificaram efeito da ovariectomia sobre o comprimento ósseo de fêmures. Entretanto, para tíbias, Deyhim et al. (26) verificaram um aumento no comprimento ósseo das ratas ovariectomizadas em relação ao grupo pseudo-ovariectomizado.

Em se tratando de conteúdo de cálcio ósseo, resultados semelhantes aos encontrados em nosso trabalho também foram encontrados por Deyhim et al. (26) e Arjmandi et al. (6). Eles

estudaram ratas ovariectomizadas com 3 meses de idade e submetidas a um período de experimentação de 40 e 30 dias, respectivamente. Por outro lado, Picherit et al. (28) mostraram uma relação linear positiva entre o conteúdo mineral do fêmur e o seu conteúdo de cálcio. Vale ressaltar que esse estudo teve duração de 3 meses, e que as ratas só foram ovariectomizadas com 12 meses de idade. Em vista disso, fica claro que esses animais sofreram, por um período maior, a ação dos agentes causadores de osteopenia. Portanto, uma possível explicação para a não detecção de alterações no conteúdo mineral e conteúdo de cálcio em nosso estudo pode estar relacionada ao tempo de experimentação.

O aumento do peso corporal médio das ratas ovariectomizadas (grupo II) pode ter contribuído para a não verificação de alterações no conteúdo mineral e conteúdo de cálcio ósseo se comparado ao grupo de animais pseudo-ovariectomizados (grupo I). O ganho de peso corpóreo protege as ratas do desenvolvimento da osteopenia após ovariectomia (29), entretanto essa proteção é restrita a ossos longos (30). Vale ressaltar que os ossos utilizados para a realização de todos os parâmetros estudados foram ossos longos, particularmente tíbias e fêmures. Portanto, em nosso trabalho, o aumento do peso corporal das ratas causado pela ovariectomia pode ter proporcionado uma proteção contra a perda óssea, principalmente da porção mineral das tíbias e fêmures.

Resultados semelhantes foram verificados por Breitman et al. (27) em fêmures de ratas ovariectomizadas e pseudo-ovariectomizadas com 3 meses de idade, com um tempo de experimento de 2 meses. Todavia, quando este teste (flexão de três pontos) foi realizado em vértebras lombares (L5), a carga máxima suportada do grupo pseudo-ovariectomizado foi estatisticamente maior do que a do grupo ovariectomizado. Esses resultados sugerem que a diáfise da tíbia não é o sítio esquelético mais adequado para se verificar alterações na carga máxima suportada, pelo menos para um período de experimentação de 3 meses, podendo ser essa uma possível explicação para os resultados observados em nosso estudo.

É sabido que, as proporções de osso trabecular e cortical diferem nas regiões do fêmur e tíbia, enquanto que nas vértebras elas são mais homogêneas (27). Essas diferenças também podem explicar porque a carga máxima suportada pela tíbia e fêmur, observada nos estudos anteriormente citados, não foi afetada pela ovariectomia, ao contrário do que ocorreu nas vértebras lombares que tiveram sua carga máxima reduzida após a cirurgia. A relação superfície/volume do osso trabecular é substancialmente maior que a do osso cortical. Essa relação provavelmente explica o maior envolvimento do osso trabecular na osteoporose.

Shen & Wronski (31) verificaram que a osteopenia trabecular e cortical associada com um alto *turnover* ósseo (velocidade de remodelagem óssea) ocorre no fêmur proximal de ratas ovariectomizadas com 3 meses de idade, sendo que a

perda de osso trabecular ocorre nesse sítio esquelético nos primeiros 30 dias pós-ovariectomia, mas permanece relativamente moderada nos primeiros 90 dias antes de se tornar mais pronunciada no período subsequente. De acordo com os autores, a osteopenia cortical do fêmur proximal não foi observada antes do primeiro ano de pós-ovariectomia.

A partir desses resultados pode-se sugerir que o produto fermentado enriquecido com isoflavonas e cálcio apresentou uma tendência à proteção das trabéculas, prevenindo a redução da largura ocasionada pela ovariectomia.

Estudos realizados em mulheres na pós-menopausa e perimenopausa verificaram que o consumo de isoflavonas pode atenuar a perda de massa óssea que ocorre nesses períodos (8,9). Nessa linha, Chiechi et al. (32) compararam o efeito de uma dieta rica em soja e da Terapia de Reposição Hormonal sobre os principais biomarcadores de *turnover* ósseo e densidade mineral óssea em mulheres na pós-menopausa. Os autores sugeriram que o consumo de produtos de soja podem ser efetivos na redução do risco de osteoporose.

Deyhim et al. (27), utilizando doses de isoflavonas semelhantes às empregadas em nosso trabalho, concluíram que baixas doses podem não ser capazes de exercer efeito de proteção óssea aparente, pelo menos com relação ao modelo de osteoporose utilizado (Modelo de ovariectomia da rata madura). No entanto, Picherit et al. (29) observaram que o consumo de daidzeína por ratas ovariectomizadas com 12 meses de idade e submetidas a um período de experimentação de 90 dias resultou na preservação da área da porção trabecular na região da metáfise distal do fêmur, quando comparada ao grupo ovariectomizado. Vale ressaltar que além das ratas utilizadas nesse estudo serem mais velhas, a dose de isoflavonas, no caso a daidzeína, usada foi muito maior do que aquela utilizada em nosso experimento.

## CONCLUSÕES

O produto fermentado de soja enriquecido com isoflavonas e cálcio foi capaz de evitar o aumento de peso corpóreo causado pela ovariectomia, além de apresentar uma tendência à proteção da estrutura trabecular, prevenindo a redução da largura das mesmas ocasionada pela castração. Entretanto, o referido produto não foi capaz de provocar alterações nos parâmetros: comprimento ósseo, densidade óssea, conteúdo mineral, conteúdo de cálcio ósseo e carga máxima suportada.

Os resultados observados neste trabalho fornecem embasamento para estudos futuros, os quais deverão estar centrados no efeito do produto fermentado enriquecido com isoflavonas e cálcio sobre sítios esqueléticos ricos em osso trabecular, como por exemplo, vértebras lombares. Além disso, é recomendável que períodos maiores de experimentação, doses mais elevadas de isoflavonas e outros parâmetros como densitometria óssea sejam considerados.

## AGRADECIMENTOS

A Capes pela bolsa concedida e ao Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCar pelo apoio na avaliação de determinados parâmetros.

## REFERÊNCIAS

- Jensen LB, Vestegaard P, Hermann AP, Gram J, Eiken P, Abrahamsen B, et al. Hormone replacement therapy dissociates fat mass and bone mass, and tends to reduce weight gain in early postmenopausal women: A randomized controlled 5-year clinical trial of the Danish Osteoporosis Prevention Study. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 333-342.
- Nieves JW, Komar L, Cosman F, Lindsay R. Calcium potentiates the effect of estrogen and calcitonin on bone mass: review and analysis. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 18-24.
- Recker RR, Davies KM, Dowd RM, Heaney RP. The effect of low dose continuous estrogen and progesterone with calcium and vitamin D on bone in elderly women. *Ann Int Med* 1999; 130: 897-904.
- Zumoff, B. Does postmenopausal estrogen administration increase the risk of breast cancer? Contributions of animal, biochemical and clinical investigative studies to resolution of the controversy. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217: 30-37.
- Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, Van Der Saag PT, et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 1998; 139: 4252-4563.
- Arjmandi HB, Birnbaum R, Goyal NV, Getlinger MJ, Juma S, Alekel L, et al. Bone-sparing effect of soy protein in ovarian hormone-deficient rats is related to its isoflavone content. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1364S-1368S.
- Picherit C, Chanteranne B, Bennetau-Pelissero C, Davicco MJ, Lebecque P, Barlet JP, et al. Dose-dependent bone-sparing effects dietary isoflavones in the ovariectomized rat. *Br J Nutr* 2001; 85: 307-316.
- Potter SM, Baum JA, Teng H, Stilman RJ, Shay NF, Erdman JW. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1375S-1379S.
- Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, Hanson KB, Stewart JW, Toda T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 844-852.
- Morabito N, Crissafulli A, Vergara C, Gaudio A, Lasco A, Frisina N, et al. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 1904-1912.
- Wallach S, Avioli LV, Feinblatt JD. Cytokines and bone metabolism. *Calcif Tissue Int* 1993; 53: 293-296.
- Roodman GD. Role of cytokines in the regulation of bone resorption. *Calcif Tissue Int* 1993; 53: 94S-98S.
- Carlos IZ, Rossi EA, Vendramini RC, Machado CO, Cyrillo RNS, Perrazo FF, et al. Avaliação do potencial alergênico de um novo produto fermentado de soja. *Rev Ciên Farm São Paulo* 2000; 21: 103-113.
- Rossi EA, Vendramini RC, Carlos IZ, Oliveira MG, Valdez GF. Efeito de um novo produto fermentado de soja sobre os lípides séricos de homens adultos normocolesterolêmicos. *Arch Latinoam Nutr* 2003; 53: 47-51.
- Umbelino DC, Cardello HMAB, Rossi EA. Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do "iogurte" de soja. *Arch Latinoam Nutr* 2001; 51: 199-203.
- Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 1991; 15: 175-192.
- Zarrow MX, Yochim JM, McCarthy JL, Sanborn, RC. *Experimental endocrinology: a sourcebook of basic techniques*. New York: Academic Press; 1964. p. 39-40.
- Peng Z, Tuukkanen J, Zhang H, Jämsä T, Väänänen HK. The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. *Bone* 1994; 15: 523-532.
- Donahue HJ, Mazzeo RS, Horvath SM. Endurance training and bone loss in calcium-deficient and ovariectomized rats. *Metabolism* 1998; 37: 741-744.
- Mosekilde L. Normal age-related changes in bone mass, structure and strength – consequences of the remodeling process. *Dan Med Bull* 1991; 1: 175-192.
- Kenney MA, McCoy H, Williams L. Effects of magnesium deficiency on strength, mass, and composition of rat femur. *Calcif Tissue Int* 1994; 54: 44-49.
- Zhou H, Chemecky R, Davies, JE. Deposition of cement at reversal lines in rat femoral bone. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 367-374.
- Danielsen CC, Mosekilde L, Svenstrup B. Cortical bone mass, composition, and mechanical properties in female rats in relation to age, log-term ovariectomy, and estrogen substitution. *Calcif Tissue Int* 1993; 52: 26-33.
- Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke, HZ. FDA guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone* 1995; 17: 125S-133S.
- Wing RR, Matthews KA. Weight gain at time of menopause. *Arch Int Med* 1991; 151: 97-102.
- Deyhim F, Stoecker BJ, Bruswitz GH, Arjmandi BH. The effects of estrogen depletion and isoflavones on bone metabolism in rats. *Nutr Res* 2003; 23: 123-130.
- Breitman PL, Fonseca D, Cheung AM, Ward WE. Isoflavones with supplemental calcium provide greater protection against the loss of bone mass and strength after ovariectomy compared to isoflavones alone. *Bone* 2003; 33: 597-605.
- Picherit C, Coxam MV, Bennetau-Pelissero C, Kati-Coulibaly S, Davicco MJ, Lebecque P, et al. Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Nutr* 2000; 130: 1675-1681.
- Roudebush RE, Magee DE, Benslay DN, Bendele AM, Bryant HU. Effect of weight manipulation on bone loss due to ovariectomy and the protective effects of estrogen in the rat. *Calcif Tissue Int* 1993; 53: 61-64.
- Wronski TJ, Schenck PA, Clintron M, Walsh CC. Effect of body weight on osteopenia in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 1987; 40: 155-159.
- Shen MLY, Wronski TJ. Time course of femoral neck osteopenia in ovariectomized rats. *Bone* 1997; 20: 55-61.
- Chiechi LM, Secreto G, D'Amore M, Fanelli M, Venturelli E, Cantatore F, Valério T, Laselva G, Loizzi P. Efficacy of soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial. *Maturitas* 2002; 42: 295-300.

Recibido: 29-12-2005

Aceptado: 26-06-2006

## Contribuição da semiologia para o diagnóstico nutricional de pacientes hospitalizados

*Marcia Naim Nehme, Maria Eugenia Vieira Martins, Vanessa Lourenço Chaia y Eliane Moreira Vaz*

Universidade Estácio de Sá – Rio de Janeiro, Brasil. Universidade Federal do Rio de Janeiro – Rio de Janeiro, Brasil

**RESUMO.** Devido a alta prevalência da desnutrição hospitalar e conhecendo sua repercussão sobre o aumento da morbi-mortalidade de pacientes hospitalizados, faz-se necessária a sua detecção precoce. A semiologia nutricional é uma ferramenta de baixo custo e fácil aplicação, podendo contribuir para o diagnóstico nutricional desses pacientes. Este trabalho pretendeu verificar o grau de sensibilidade e especificidade de parâmetros da semiologia, quando comparados a parâmetros objetivos (antropometria e exames laboratoriais) e analisar o grau de concordância entre três examinadores (A, B, C) na utilização de parâmetros da semiologia nutricional. Foram avaliados 90 pacientes de uma instituição hospitalar federal, por meio da antropometria, exames laboratoriais e exame físico. O grau de concordância foi determinado pela estatística Kappa e a sensibilidade e especificidade pela comparação do exame físico com parâmetros objetivos. Os examinadores A e C apresentaram a melhor concordância para o exame de edema. A sensibilidade dos exames de atrofia de musculatura e perda de tecido adiposo foi baixa. A melhor sensibilidade foi alcançada quando compararam-se valores de hemoglobina e palidez da mucosa conjuntiva e a maior especificidade no confronto entre albumina e proteínas totais com presença de edema (100%). Concluiu-se que os resultados para concordância entre examinadores foram satisfatórios, porém, são necessários maior sistematização das técnicas, treinamento intensivo dos avaliadores e padronização dos resultados para tornar a semiologia mais eficaz na avaliação do estado nutricional de pacientes hospitalizados.

**Palavras-chave:** Desnutrição hospitalar, diagnóstico nutricional, semiologia nutricional.

### INTRODUÇÃO

Várias publicações científicas em todo o mundo dedicaram-se a estudar a prevalência e o impacto da desnutrição no ambiente hospitalar (1-4). No Brasil destaca-se o Inquérito Brasileiro de Avaliação Nutricional Hospitalar – IBRANUTRI, realizado em 1996, que encontrou uma taxa de 48,1% de pacientes desnutridos (5). Estudos mais recentes caracterizam a desnutrição como condição ainda prevalente nos hospitais brasileiros (6).

Em pacientes hospitalizados a desnutrição associa-se com mau resultado cirúrgico, taxa aumentada de infecção,

**RESUMEN.** Contribución de la semiología para el diagnóstico nutricional de pacientes hospitalizados. La gran prevalencia de desnutrición hospitalaria y su repercusión en el aumento de la morbi-mortalidad de pacientes ingresados, hace necesaria su detección precoz. La semiología nutricional es una herramienta de bajo costo y fácil aplicación, contribuyendo al diagnóstico nutricional de estos pacientes. El presente estudio tuvo como objetivo verificar el grado de sensibilidad y especificidad de parámetros de semiología, comparados con parámetros objetivos (antropometría y pruebas bioquímicas), y analizar el grado de concordancia entre tres examinadores (A, B, C) en la utilización de parámetros de semiología nutricional. Noventa pacientes ingresados en un hospital federal fueron evaluados por medio de antropometría, pruebas bioquímicas, y examen físico. El grado de concordancia fue determinado por la estadística Kappa y la sensibilidad y especificidad por la comparación del examen físico con parámetros objetivos. Los examinadores A y C tuvieron la mejor concordancia para la verificación de la presencia de edema. La sensibilidad de los exámenes de atrofia de la musculatura y pérdida de tejido adiposo fue baja. La mejor sensibilidad fue lograda cuando se compararon los valores de hemoglobina y palidez de la mucosa de conjuntiva y la mejor especificidad cuando se confrontaron los valores de albúmina, proteínas totales con presencia de edema (100%). Se concluye que los resultados para concordancia entre examinadores fueron satisfactorios. Sin embargo, es necesaria una mayor sistematización de las técnicas, entrenamiento intensivo de los evaluadores y estandarización de los resultados para hacer de la semiología un parámetro más eficaz de evaluación del estado nutricional de pacientes hospitalizados.

**Palabras clave:** Desnutrición hospitalaria, diagnóstico nutricional, semiología nutricional.

internação hospitalar prolongada, feridas de difícil cicatrização, readmissão hospitalar freqüente e risco aumentado de morte. A influência do estado nutricional sobre a evolução clínica de pacientes hospitalizados torna clara a importância da realização do diagnóstico nutricional precoce, para permitir a correção da desnutrição e favorecer a recuperação do paciente. Um diagnóstico nutricional metuculoso torna o planejamento de apoio nutricional mais efetivo (7-12).

Nenhum método de avaliação nutricional pode ser considerado como padrão-ouro. Todos apresentam limitações como o fato de serem influenciados por fatores independentes

do estado nutricional (2). Para um diagnóstico nutricional mais preciso e confiável, recomenda-se a utilização de vários indicadores associados (9), embora seja possível inicialmente detectar o risco de desnutrição utilizando parâmetros clínicos simples (13,14).

Independentemente dos parâmetros utilizados na determinação do diagnóstico nutricional, é essencial que se verifique as alterações dos diferentes compartimentos corporais (massa magra, tecido adiposo, proteínas viscerais), bem como as alterações na competência imunológica (15,16).

A albumina é utilizada como marcador de proteína visceral e indicador do estado nutricional. A dosagem de albumina é um índice muito utilizado na prática clínica por constituir-se como prognóstico bastante confiável para o surgimento de complicações e mortalidade (8,17,18).

Dentre os parâmetros subjetivos de avaliação nutricional, pode-se destacar o exame físico, que engloba a inspeção, a palpação, a percussão, ausculta, olfato, e a utilização de instrumentos e aparelhos como otoscópio, oftalmoscópio, entre outros (7). É um momento de identificação de sinais que podem levar a sintomas não informados pelo paciente e assim, ir esculpindo o diagnóstico clínico (19).

Hammond (20,21) afirma que por meio do exame físico é possível verificar imediatamente se o paciente está acima ou abaixo do peso; se apresenta perda de gordura e/ou músculo, especialmente nas temporas e na face; se é capaz de preparar sua alimentação sozinho, se necessita de ajuda para se alimentar, se deve se alimentar pela via oral ou depende de um método alternativo para sua nutrição.

O desuso muscular é um dos principais fatores responsáveis, na prática clínica, pela atrofia do grupamento muscular imobilizado (22). A presença da atrofia bitemporal indica que o paciente parou de mastigar ou deixou de usar esse mecanismo como fonte principal de ingestão alimentar podendo levá-lo a desnutrição e a imunocompetência. A partir do momento que esta atrofia se intensifica, passa a ser acompanhada da perda da bola gordurosa de Bichart, que reflete uma redução prolongada da reserva calórica (8).

A perda visível da musculatura do pinçamento do polegar não está relacionada com a doença, mas ocorre progressivamente à medida que as atividades diárias são reduzidas, principalmente pela apatia associada a desnutrição ou simplesmente pelo desuso (22). Esta atrofia demonstra menor força de apreensão e conseqüentemente menor competência para ingerir alimentos (8).

No exame físico, a anemia pode ser verificada por meio da coloração da pele, inclusive a das regiões palmoplantares e das mucosas, principalmente conjuntival, sendo a presença de palidez indicação de anemia (8).

A pesquisa do edema deve ser iniciada pelos tornozelos, porém, se o paciente persiste a maior parte do tempo acamado, o local a ser examinado deverá ser a região lombo-sacral ou

onde houver maior declive (8).

O objetivo deste trabalho foi verificar o grau de sensibilidade e especificidade de diferentes parâmetros utilizados na semiologia, quando comparados a antropometria e aos exames laboratoriais para o diagnóstico do estado nutricional de pacientes hospitalizados, e analisar o grau de concordância entre examinadores na utilização dos parâmetros empregados na semiologia nutricional.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Pacientes:** Trata-se de um estudo de corte transversal, onde foram avaliados 90 pacientes adultos internados em um hospital do governo federal. Os critérios de amostragem foram: pacientes deambulantes, que possuíam em seu prontuário hemograma e/ou dosagem de proteínas totais e albumina, num período de até cinco dias anteriores a avaliação.

### Métodos

**Parâmetros objetivos:** Foi aplicado um protocolo de avaliação do estado nutricional contendo parâmetros objetivos e da semiologia nutricional. Tal protocolo era composto por dados de identificação, antropométricos (peso, estatura, índice de massa corporal, circunferência do braço, dobra cutânea tricipital e circunferência muscular do braço) e hemograma (linfocitometria, hematócrito, hemoglobina, albumina sérica e proteínas totais).

Os dados de identificação e os resultados dos exames hematológicos foram coletados diretamente dos prontuários dos pacientes e transcritos para o protocolo criado.

Os valores observados no hemograma foram comparados com os valores de referência da Unidade Hospitalar: hematócrito (37,7%-53,7%), hemoglobina (12,2-18,1g/dL), albumina (>3,5 g/dL) e proteínas totais (6,0-8,5g/dL).

Os resultados da linfocitometria e de albumina sérica foram comparados com os valores de referência preconizados por Blackburn et al. (23). A linfocitometria foi classificada em: adequado (>2000/mm<sup>3</sup>), depleção leve (1200-2000/mm<sup>3</sup>), depleção moderada (800-1199/mm<sup>3</sup>) e depleção grave (<800/mm<sup>3</sup>), enquanto os valores de albumina sérica foram classificados em: inadequado (albumina <3,5g/dL) e adequado (albumina >3,5g/dL).

A avaliação antropométrica foi realizada por um único investigador devidamente treinado. Os pacientes foram pesados em balança digital Plenna® com precisão de 0,1kg e capacidade máxima de 150kg e a estatura foi aferida com estadiômetro Altorexata®, com graduação de 0,1cm. Os resultados encontrados para o índice de massa corporal (IMC) foram classificados em adequado quando maiores que 18,5kg/m<sup>2</sup>. Para mensuração da dobra cutânea tricipital foi utilizado o adipômetro tipo Lange®.

Os resultados obtidos para circunferência do braço (CB), circunferência muscular do braço (CMB) e dobra cutânea tripectral (DCT) foram comparados aos valores de referência do National Health and Nutrition Examination Survey, demonstrados em tabelas de percentis por Frisancho (24), utilizando-se o percentil 50. Pacientes com percentual de adequação superior a 90% foram classificados como adequados.

**Semiologia nutricional:** No exame físico foram observadas atrofia das musculaturas temporais e de pinçamento do polegar; perda da bola gordurosa de Bichart; palidez palmar e das conjuntivas oculares; edema; anasarca e ascite.

Quanto ao exame físico, todos os pacientes foram analisados no mesmo dia, pelos três observadores, sem tomar conhecimento dos resultados dos demais investigadores, assim como das avaliações objetivas.

Após os exames das atrofia muscular (temporal e pinçador), os pacientes foram classificados em atrofia presente ou ausente, da mesma forma para avaliação da perda da bola gordurosa de Bichart.

Tanto na avaliação da palidez das conjuntivas, como na verificação da palidez palmar, os pacientes foram classificados em presença ou ausência de palidez.

A presença de edema e anasarca foi determinada por meio da compressão firme do polegar ou do indicador e observação de depressão ou fôvia nos membros inferiores, superiores e corpo dos pacientes. Para análise da presença de ascite considerou-se a observação e palpação do abdômen, segundo Porto (7).

**Análise estatística:** Para a avaliação do grau de concordância entre os examinadores foi criada uma planilha com o auxílio do programa Microsoft Excel 2000®, contendo os parâmetros do exame físico e os resultados observados pelos três pesquisadores. Após esta primeira etapa, foi avaliada a prevalência dos resultados encontrados.

O grau de concordância observado entre os examinadores no exame físico foi verificado por meio da estatística Kappa adotando a classificação:  $\kappa < 0,4$  = concordância leve;  $0,4-0,8$  = concordância moderada;  $0,8-1,0$  = concordância forte;  $\kappa = 1,0$  = concordância perfeita (25).

Toda a amostra do estudo foi caracterizada por meio do cálculo de frequências, médias e desvio padrão. Em seguida, foram comparadas estatisticamente as possíveis diferenças entre os sexos feminino e masculino, utilizando-se o teste *t-student*. O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ .

Foram analisadas a sensibilidade e especificidade do exame físico, comparado aos parâmetros objetivos de avaliação do estado nutricional.

## RESULTADOS

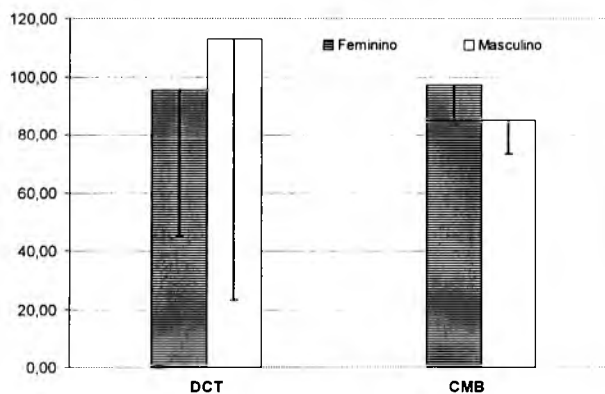
Dos 90 pacientes avaliados, 54,4% eram do sexo masculino. A faixa etária média da população estudada foi de  $41,7 \pm 13,8$  anos e o tempo médio de internação foi de  $11,7 \pm 11,4$  dias. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas quando estes foram comparados por gênero, com exceção da circunferência muscular do braço (CMB).

Quanto à avaliação antropométrica, os valores médios encontrados foram: peso  $62,4 \pm 18,2$  kg; estatura  $1,60 \pm 0,1$  m; índice de massa corporal  $23,8 \pm 6,3$  kg/m<sup>2</sup>. O índice de massa corporal (IMC) para a população em geral demonstrou que 86,7% dos pacientes apresentavam IMC superior a 18,5 kg/m<sup>2</sup>.

A dobra cutânea tripectral (DCT) revelou que 50% da população avaliada apresentou algum grau de comprometimento da reserva corporal de tecido adiposo. Para circunferência muscular do braço (CMB) a média do percentual de adequação observada demonstrou preservação da massa muscular somática. Entretanto, a distribuição percentual indicou que menos da metade da população apresentava algum comprometimento da mesma, sendo que a maioria desses pacientes apresentou depleção leve deste compartimento corporal. As adequações médias da DCT e da CMB podem ser visualizadas na Figura 1.

FIGURA 1

Adequação da população, segundo dobra cutânea tripectral e circunferência muscular do braço. Rio de Janeiro, 2003



DCT = dobra cutânea tripectral; CMB = circunferência muscular do braço.

\*  $p < 0,05$ .

Não foram observadas diferenças significativas quando os resultados dos exames hematológicos e bioquímicos foram comparados entre os sexos. Do total de pacientes avaliados, 89 possuíam resultados de exames hematológicos.

Apenas 26 dos 90 pacientes possuíam resultados referentes à albumina sérica e proteínas totais. Na análise da albumina

sérica, uma grande parte da população estudada apresentou valores abaixo do índice de normalidade (Tabela 1).

**TABELA 1**  
Exames hematológicos e bioquímicos segundo sexo, Rio de Janeiro, 2003

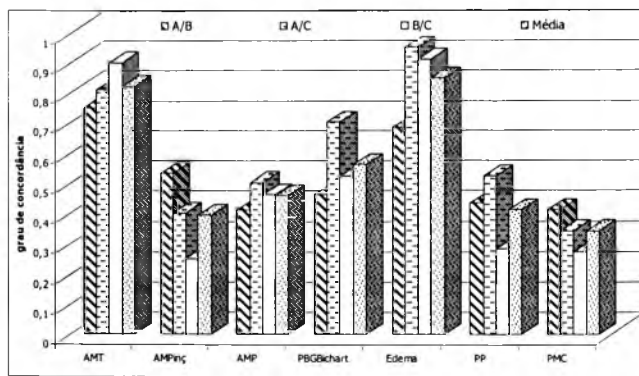
Sexo	Ht (%) n = 89	Hg (g/dL) n = 89	Linf (mm <sup>3</sup> ) n = 89	Ptns Totais (g/dL) n = 26	Alb (g/dL) n = 26
Geral	33,3±8,4	11,2 ±2,5	1.639,5±916,7	6,7 ±1,1	3,1 ±0,6
F	33,24 ±7,32	11,02 ±2,43	1.775,02 ±848,80	6,65 ±1,28	2,95 ±0,82
M	33,94 ±7,87	11,40 ±2,57	1.537,75±957,43	6,82 ±1,06	3,19 ±0,50

Ht = hematócrito; Hg = hemoglobina; Linf = linfocitometria; Ptns Totais = proteínas totais; Alb = albumina; F = feminino; M = masculino. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos nos parâmetros avaliados.

Na avaliação da musculatura temporal foi observado que 25,6% dos pacientes apresentavam atrofia. Para o músculo do pinçador verificou-se 85,6% de preservação da musculatura. Na avaliação da bola gordurosa de Bichart encontrou-se 17,8% dos pacientes com perda de tecido adiposo. Ao avaliar a presença de edema, 12,2% dos pacientes apresentavam algum grau de edema. Para avaliação da palidez palmar, 63,3% dos pacientes apresentavam esta alteração. E finalmente, na avaliação da mucosa conjuntiva, 68,9% dos pacientes apresentavam palidez.

No exame físico, a concordância entre os examinadores variou de leve a forte. O melhor resultado para a concordância foi obtido entre os avaliadores A e C no exame de edema (Figura 2).

**FIGURA 2**  
Concordância entre examinadores A, B e C para os parâmetros avaliados no exame físico resultado e média, Rio de Janeiro, 2003

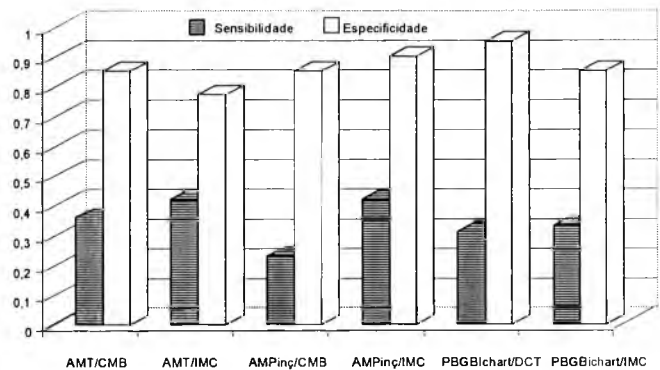


AMT= atrofia da musculatura do temporal; AMPinç =atrofia da musculatura do pinçador; PBGBichart = perda da bola gordurosa de Bichart; PP = palidez palmar; PMC = palidez da mucosa conjuntiva.

Os exames de atrofia da musculatura temporal e de edema obtiveram os maiores resultados (concordância forte). Para a atrofia da musculatura temporal o melhor valor de Kappa encontrado foi entre os avaliadores B e C. A atrofia da bola gordurosa de Bichart alcançou uma média de concordância moderada. Entretanto, os exames de atrofia da musculatura do pinçador e palidez da mucosa conjuntiva apresentaram os valores mais baixos, demonstrando concordância leve (Figura 2).

A comparação entre a antropometria e o exame físico para determinar perda de tecido muscular e adiposo demonstrou uma baixa sensibilidade e alta especificidade (Figura 3).

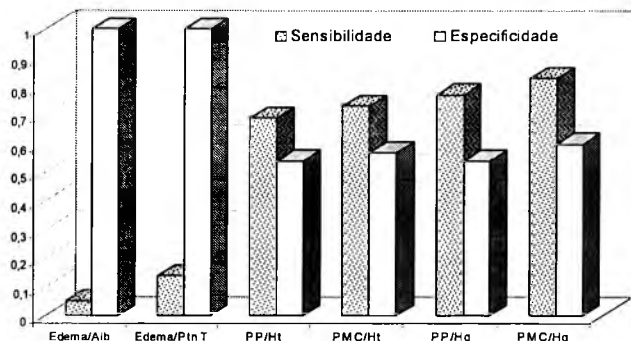
**FIGURA 3**  
Sensibilidade e especificidade dos exames físicos comparados a antropometria. Rio de Janeiro, 2003



AMT = atrofia do músculo temporal; CMB = circunferência muscular do braço; IMC = índice de massa corporal; AMPinç = atrofia do músculo do pinçador; PBGBichart = perda da bola gordurosa de bichart; DCT = dobra cutânea triptal.

A comparação entre o diagnóstico laboratorial e o exame físico para determinar presença de anemia demonstrou um melhor equilíbrio entre os valores de sensibilidade e especificidade. No presente estudo, os valores de sensibilidade para palidez da mucosa conjuntiva foram maiores que para palidez palmar. Encontrou-se, ainda, os menores valores de especificidade na correlação entre hematócrito e hemoglobina com palidez palmar. A comparação entre o diagnóstico laboratorial e o exame físico para determinar presença de edema demonstrou baixa sensibilidade e alta especificidade (Figura 4).

**FIGURA 4**  
Sensibilidade e especificidade dos exames físicos comparados aos laboratoriais. Rio de Janeiro, 2003



Alb = albumina; Ptn T = proteínas totais; PP = palidez palmar; Ht = hematócrito; Hg = hemoglobina; PMC = palidez da mucosa conjuntiva.

## DISCUSSÃO

A desnutrição em pacientes hospitalizados é um fato bem demonstrado na literatura, com os percentuais variando de 20 a 78,9% nas diferentes pesquisas realizadas na última década (3,4,14,26,27).

No presente estudo, o baixo percentual de desnutrição observado, segundo o parâmetro IMC pode justificar-se em função dos critérios amostrais de inclusão adotados, uma vez que só foram avaliados pacientes deambulantes e que possuísem exames laboratoriais recentes, além de excluir a população idosa que apresenta uma alta prevalência de desnutrição (14,28,29). Por outro lado, Kyle *et al.* (30), afirmaram em seu estudo que o IMC parece inadequado para determinar a perda de gordura corporal, especialmente entre as mulheres.

Para a dobra cutânea triциptal (DCT) o alto valor do desvio padrão observado demonstra uma grande heterogeneidade da amostra. Esses resultados assemelham-se aos encontrados por Sena *et al.* (9) que observaram que 31,5% dos pacientes apresentavam-se desnutridos, porém 77,2% possuíam perda de tecido adiposo verificada pelas medidas de DCT e dobra cutânea subescapular.

Segundo Khursheed (31), muitos estudos comprovaram que 20% a 30% dos indivíduos saudáveis podem ser considerados desnutridos fundamentados na CMB, devido à ausência de fatores de correção para idade, estado de hidratação e atividade física.

Como pode ser observado neste estudo, grande parte dos pacientes apresentaram valores de hematócrito reduzidos. Entretanto, os valores encontrados para hemoglobina mostraram que pouco mais da metade da população apresentou-se abaixo do índice de normalidade. Segundo

Waitzberg & Ferrini (32), valores de hematócrito não devem ser utilizados como parâmetro nutricional devido à alteração na presença de perdas ou transfusões sanguíneas e estados de diluição sérica.

Os valores para linfocitometria encontrados nos pacientes avaliados mostraram que mais da metade da população estava com valores inferiores a normalidade. Tal fato indica que essa população, provavelmente, encontrava-se com reserva imunológica baixa. Olmos *et al.* (14), detectaram uma média de linfocitometria de 1.287,5/mm<sup>3</sup> contra 1.639,5/mm<sup>3</sup> observada neste estudo. Porém, estes autores avaliaram somente pacientes idosos.

As alterações observadas neste trabalho para os valores referentes a albumina sérica foram comprovadas em estudos realizados como o de Sena *et al.* (9), que encontraram apenas 31,6% com valores acima de 3,5g/dL. Outro estudo afirma que essa diminuição parece indicar início de um processo de catabolismo (17).

O melhor resultado observado para a concordância entre os avaliadores A e C na pesquisa de edema demonstra, possivelmente, uma maior experiência clínica dos avaliadores neste parâmetro, que poderia ser explicada pelas seções de treinamento. Por outro lado, destaca-se ainda que a perda de gordura e músculo é facilmente detectada nas têmporas e face, o mesmo não sendo observado para alterações da musculatura do pinçador e palidez da mucosa da conjuntiva. Hammond (21), afirma que os profissionais da área médica e de enfermagem estão mais familiarizados com as técnicas do exame físico na avaliação clínica do paciente que os profissionais de nutrição.

É importante lembrar que o domínio das técnicas do exame físico requer anos de experiência e que o estudo da literatura clínica e a observação de vídeos de avaliação nutricional devem ser o primeiro passo para adquirir a prática necessária. Cursos e participação em *rounds* com um especialista irão proporcionar aos examinadores independência e confiança em seus julgamentos (20,21).

Quando os resultados são analisados ao comparar a antropometria e o exame físico encontrou-se uma baixa sensibilidade e alta especificidade, o que significa que o referido método não é capaz de prever com acurácia os indivíduos que realmente apresentam a característica em questão (verdadeiro-positivos), porém, é capaz de determinar os verdadeiro-negativos, ou seja, aqueles que realmente não apresentam a característica estudada.

Levando-se em consideração as limitações dos métodos antropométricos empregados no diagnóstico de certeza (30,31,33), questiona-se a utilização destes para comparação com o exame físico. Segundo Detsky (34), as técnicas de isótopos marcados e análise da ativação de nêutrons *in vivo* são consideradas padrão-ouro na determinação dos diferentes compartimentos corporais. Porém, os referidos métodos não

são uma realidade nas instituições de saúde brasileiras, ao contrário da antropometria que é comum na prática clínica, de fácil aplicação, baixo custo e permite a obtenção de parâmetros objetivos.

No presente estudo, os valores de sensibilidade para palidez da mucosa conjuntiva foram maiores que para palidez palmar. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Spinelli *et al.* (35), sugerindo que a pigmentação da palma da mão dificulta a observação do examinador.

Spinelli *et al.* (35), encontraram baixos valores de sensibilidade para palidez da mucosa conjuntiva em relação ao padrão diagnóstico de hemoglobina (0,29 a 0,55) e seus resultados para especificidade foram considerados bons (0,65 a 0,92). Ao contrário dos nossos resultados que demonstraram uma sensibilidade de 0,83 e especificidade de 0,60.

A avaliação do exame físico para a presença de edema foi prejudicada pelo escasso número de exames bioquímicos presentes nos prontuários dos pacientes. Apenas 26 dosagens de albumina sérica e de proteínas totais para os 90 pacientes avaliados. Os resultados de sensibilidade para ambos os parâmetros foram os mais baixos. Talvez esses resultados possam ser explicados pelo ponto de corte adotado (albumina < 3,5g/dL e proteínas totais < 6 g/dL), pois segundo Duarte & Castellani (8), o edema pode ser provocado por valores de proteínas totais menores que 5,0g/dL ou de albumina menores que 2,5g/dL. Para aplicação na determinação do estado nutricional do paciente, esse exame, provavelmente, não seria útil para detectar depleção leve do compartimento protéico visceral. No entanto, a especificidade para esses exames foi alta o que significa que o exame é capaz de identificar todos os verdadeiros negativos. Ulibarri *et al.* (36), encontraram uma sensibilidade de 92,3 e especificidade de 85,0 ao validar um método de avaliação que incluía albumina, linfocitometria e colesterol total.

Os resultados, de uma maneira geral, com exceção daqueles encontrados para o exame de palidez da mucosa conjuntiva, demonstraram que o exame físico, no presente estudo, apresentou limitações para diagnosticar a presença de agravo nutricional nos diferentes compartimentos corporais. Esses resultados podem ser explicados pela comparação de parâmetros com baixa sensibilidade e pouca experiência clínica dos investigadores. Segundo Swart (37), a validade de um achado físico depende de muitos fatores. A experiência clínica e a fidedignidade das técnicas de exame são os mais importantes. Resultados falso-positivos ou falso-negativos reduzem a precisão das técnicas.

No entanto, ao realizar o exame físico o profissional de saúde deve olhar, tocar e ouvir o paciente, não apenas aferir medidas, fazer cálculos e verificar valores em seus prontuários (7). Segundo Bastos (38), ao tocar o corpo do paciente com as mãos, pode-se aumentar a confiança do mesmo além de demonstrar interesse pelo seu problema, transferir segurança

e reforçar a terapêutica proposta, sem contar o fornecimento de dados fundamentais ao diagnóstico.

Duas hipóteses podem sustentar esses resultados. A primeira delas diz respeito à inexperiência clínica dos avaliadores que poderia estar conduzindo a uma subestimação da depleção de massa muscular somática e adiposa na avaliação do estado nutricional do paciente. A segunda diz respeito ao parâmetro utilizado como diagnóstico de segurança. A literatura demonstra que tanto a circunferência muscular do braço (CMB) quanto o índice de massa corporal (IMC) apresentam limitações. A CMB por incluir indivíduos saudáveis no rol dos comprometidos (falso-positivos) (31). O IMC por não fazer distinção entre os diferentes compartimentos corporais (33), além de não resultar valores fidedignos na vigência de edema (17).

## CONCLUSÃO

A sistematização das técnicas, o treinamento dos avaliadores e a padronização dos resultados são fatores que devem ser levados em consideração quando se pretende aplicar o exame físico nutricional na produção científica e clínica. No entanto, trata-se de um procedimento de simples execução, que não necessita de altos investimentos para ser aprimorado e que pode colaborar significativamente na avaliação do estado nutricional dos pacientes hospitalizados, além de contribuir estabelecendo uma relação mais humana entre os profissionais de saúde e os enfermos.

## AGRADECIMENTO

Agradecemos a nutricionista Mônica Santiago pelo estímulo e treinamento na área de semiologia nutricional.

## REFERÊNCIAS

1. Correia MITD. Desnutrição hospitalar: ontem, hoje e amanhã! Informativo da Sociedade Brasileira de Nutrição Parenteral e Enteral. 2003, 44: 6-7.
2. Stratton R. Combate à Desnutrição relacionada à doença. Informativo Support, 2001.
3. Correia MITD, Campos ACL. Prevalence of hospital malnutrition in Latin America: The multicenter ELAN study. Nutrition 2003; 19:823-25.
4. Wyszynski DF, Perman M, Crivelli A. Prevalence of hospital malnutrition in Argentina: preliminary results of a population-based study. Nutrition 2003;19: 115-19.
5. Waitzberg, DL. Hospital malnutrition: the brazilian national survey (IBRANUTRI): a study of 4.000 patients. Nutrition 2001;17: 573-80.
6. Mello ED, Beghetto MG, Teixeira LB, Luft VC. Desnutrição hospitalar cinco anos após o IBRANUTRI. Rev Bras Nutr Clin 2003; 18(2):65-69.

7. Porto CC. Exame clínico: bases para a prática médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
8. Duarte AC, Castellani FR. Semiologia nutricional. Rio de Janeiro: Axcel Books, 2002.
9. Sena FG, Taddeo EF, Andrade Neto ER, Ferreira MSR, Rolim EG. Estado nutricional de pacientes internados em enfermaria de gastroenterologia. *Rev Nutr.* 1999;12(3): 233-39.
10. Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC. Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença. São Paulo: Manole, 2003.
11. Waitzberg DL. Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica. São Paulo: Atheneu, 2002.
12. Stump SE. Nutrição relacionada ao diagnóstico e tratamento. 4ed. São Paulo: Manole, 1999.
13. Melchior JC. Diagnostic et dépistage de la dénutrition. *La Revue du Praticien* 2003;53:254-58.
14. Olmos MAM, Vazquez MJM, Sierra AL, Gorria MJM, Bouzon SC, Nuñez IC, Campo V, González EP. Detección del riesgo de malnutrición en ancianos hospitalizados. *Nutr Hosp.* 2002;17(1): 22-27.
15. Cuppari L. Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto. São Paulo: Manole, 2002.
16. Shiveley LR, Thuluvath PJ. Assessment of nutritional status via anthropometry. *Nutrition* 1997;13: 714-17.
17. Selberg O, Sel S. The adjunctive value of routinebiochemistry in nutritional assessment of hospitalized patients. *Clin Nutr.* 2001;20(6): 477-85.
18. Campos ACL. Nutrição em cirurgia. São Paulo: Atheneu, 2001.
19. Grinberg M. Fidelidade ao bom senso. *Arq Bras Cardiol [editorial on line]* 1997; 69(6):373-4;. Disponível em URL: <http://www.scielo.com.br> [2005 Fev 20].
20. Hammond K. Physical assessment – A nutritional perspective. *Nursing Clinics of North América* 1997;32(4): 779-90.
21. Hammond K. Nutrition-focused physical assessment. *Home Healthc. Nurse* 1999;17(6): 354-55.
22. Avaliação Muscular subjetiva- Man WD, Soliman MG, Nikolettou D, et al. Non-vololitional assessment of skeletal muscle strength in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2003; 58:665.
23. Blackburn GL, Bistriam BR, Maini BS et al. Nutritional and metabolic assesment of the hospitalized patient. *JPEN* 1:11-22, 1977.
24. Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1981;34 (11) 2540-2545.
25. Araujo HG. Bioestatística teórica e computacional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
26. Fernández CC, González GI, Juárez AMF, Figueiras PG, Espiñeira TR, Cuesta SB, Huete AA, Deibe MR. Detección de malnutrición al ingreso en el hospital. *Nutr Hosp.* 2003;18: 95-100.
27. Kruizenga HM, Wierdsma NJ, Bokhorst MAE, Schueren D, Hollander HJ, Jonkers-Schuitema CF, Van Der Heijden A, Melis GC, Van Satveren WA. Screening of nutritional status in The Netherlands. *Clin Nutr.* 2003;22(2): 147-52.
28. Campos MTFS, Monteiro JBR, Castro TG, Viana EC. Correlação entre diferentes parâmetros de avaliação do estado nutricional de idosos. *Rev Bra Nutr Clín.* 2000;16: 1-5.
29. Covinsky KE, Covinsky MH, Palmer RM, Sehgal AR. Serum albumin concentration and clinical assessment of nutritional status in hospitalized older people: different sides of different coins? *J Am Geriatr Soc.* 2002; 50: 631-37.
30. Kyle UG, Pirlic M, Schuetz T, Luebke HJ, Lochs H, Pichard C. Prevalence of malnutrition in 1760 patients at hospital admission: a controlled population study of body composition. *Clin Nutr.* 2003; 22 (5): 473-81.
31. Khursheed NJ. Nutritional assessment. *Nutrition* 2000;16(7/8): 585-90.
32. Waitzberg DL, Ferrini MT. Avaliação nutricional. In: Waitzberg DL (org.). Nutrição enteral e parenteral na prática clínica. São Paulo: Athencu, 127-152, 1995.
33. Engstrom EM. (org.). SISVAN: instrumento para o combate aos distúrbios nutricionais em serviços de saúde: o diagnóstico nutricional. 2.ed. / Organizado por Elyne Montenegro Engstrom. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2002.
34. Detsky AS. Is this patient malnourished? *JAMA* 1994; 2(1): 54-58.
35. Spinelli MGN, Souza JMP, Souza SB, Sesoko EH. Confiabilidade e validade da palidez palmar e de conjuntivas como triagem de anemia. *Rev. Saúde Pública [periódico on line]* 2003; 37(4):404-8;. Disponível em URL: <http://www.scielo.com.br> [2003 Set 14].
36. Ulibarri PJI, González-Madroño GA, González PP, Fernández G, Rodríguez SF, Mancha AA, Diaz A. Nuevo procedimiento para la detección precoz y control de la desnutrición hospitalaria. *Nutr Hosp.* 2002;17(4): 179-88.
37. Swart MH. Semiologia anamnese e exame físico. Tradutor Araújo, Claudia Lucia Caetano. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989.
38. Bastos A. O quê acontece com o clínico? [correspondência on line]. Disponível em URL: <http://www.google.com.br> [2005 Fev 20].

Recibido:10-02-2006

Aceptado: 30-05-2006

## Edad de la menarquia en adolescentes del noroeste de México

Rosa Olivia Méndez Estrada, Mauro E. Valencia y Juana María Meléndez Torres

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

**RESUMEN.** El inicio de la maduración sexual en los individuos es un parámetro utilizado para conocer la calidad de vida de una población. En mujeres, el indicador más utilizado es la edad de la menarquia. Considerando que en esta región no existen estudios que muestren esta información, los objetivos del presente trabajo fueron obtener la edad de la menarquia en mujeres escolares del Noroeste de México y establecer la relación de ésta con el nivel socioeconómico, el peso y la talla. Se seleccionó al azar una muestra de 857 mujeres escolares de 7 a 17 años de edad, a las cuales se les determinó la edad de la menarquia por medio del método *statu quo*. Para la menarquia el valor encontrado fue de  $12.06 \pm 0.44$  años, encontrándose una relación significativa con la talla ( $p < 0.01$ ) y con el nivel socioeconómico ( $p < 0.01$ ). En conclusión, el valor encontrado en este estudio es semejante al reportado en otras poblaciones latinoamericanas. Por otra parte, considerando que alrededor del 70% de la población mexicana tiene un nivel socioeconómico bajo, es posible que la edad de la menarquia sea el resultado de interacciones genéticas y ambientales.

**Palabras clave:** Menarquia, maduración sexual, nivel socioeconómico, México.

**SUMMARY.** The menarche age in teenagers of the Northwest of Mexico. The beginning of sexual maturity in individuals is a measure commonly used as an indicator of a population's quality of life. Among women, one of the most frequently used indicators is the age of menarche. The objectives of this research were to obtain the age of menarche in school age girls from the Northwest of Mexico, and to establish the relationship between the latter with their socioeconomic level, body weight, and height. The sample was taken from 857 girls between 7 and 17 years old from different socioeconomic level sectors. The age of menarche of these girls was determined by the *statu quo* method. The value found for menarche was  $12.06 \pm 0.44$  years old. We also found an association of menarche to height ( $p < 0.01$ ) and to socioeconomic level ( $p < 0.01$ ). The value for age of menarche in this study was similar to the one reported for other Latin-American populations. Taking into consideration that approximately 70% of the Mexican population has been considered of low income level and that the environmental conditions are not entirely favorable, it is possible that this could be the result of genetic and environmental interactions.

**Key words:** Menarche, sexual maturity, socioeconomic level, Mexico.

### INTRODUCCION

La adolescencia constituye una etapa de gran importancia en la vida del ser humano. En ella tienen lugar cambios de orden físico, fisiológico, psicológico y de composición corporal; así como, la adquisición de nuevas capacidades cuya resultante es la transformación del organismo infantil en un individuo adulto, apto para la reproducción (1).

En niñas sanas, las primeras manifestaciones del desarrollo sexual pueden presentarse desde los 8, 10 o 12 años de edad y van acompañadas de cambios de orden físico (2). La menarquia, suceso final de la pubertad, es el indicador de maduración sexual más utilizado y se asocia con varios factores como la obesidad, la talla y la madurez ósea (3-5).

La edad a la cual aparece la menarquia tiene un componente genético y ambiental muy importante (6). Las condiciones medioambientales que se consideran significativas son el mejoramiento del estilo de vida, el grado de urbanización y el acceso a mejores servicios de salud y de estado nutricional (7). Dentro de este contexto, la edad de la menarquia se usa como un marcador del desarrollo social de una población (8-

10). Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la edad de la menarquia en mujeres escolares del Noroeste de México y establecer su relación con el nivel socioeconómico, el peso y la talla.

### MATERIALES Y METODOS

Este estudio se llevó a cabo durante los meses de mayo y junio de 1991 en una muestra de niñas escolares del Noroeste de México.

La selección se realizó tomando el cinco por ciento de la población femenina escolar total, entre los 7 y los 17 años de edad de las distintas escuelas públicas de la Ciudad de Hermosillo, Sonora. De ahí se tomó una muestra de 857 mujeres escogidas al azar y distribuidas equitativamente entre los diferentes grados de escolaridad dentro de la institución seleccionada. Las niñas se clasificaron por su nivel socioeconómico de acuerdo a los criterios de Camberos *et al* (11).

Posteriormente, de esta muestra se tomó una submuestra del 35% (307 niñas) siguiendo los mismos criterios antes

mencionados, a las cuales se les midió el peso y la talla mediante la técnica de Jordán (1) con una balanza accu weight de 150 kg (A&D, Japan) y un estadiómetro Holtain con contador digital (Holtain, UK). Los datos antropométricos se analizaron por medio del programa EPI INFO versión 3.2 (12) y se utilizaron las tablas de referencia de la NCHS/CDC 2001 (13). El indicador para medir el grado de adiposidad en las niñas fue el índice de masa corporal para la edad (IMC/edad) y se utilizó el percentil 95 como punto de corte para definir obesidad, el percentil 85 para estimar sobrepeso y para determinar bajo peso el percentil 5.

Para la obtención de los datos se utilizó el método statu quo (14), que consiste en preguntar a las adolescentes si han tenido la primera regla. El cálculo de la edad de la menarquia se realizó por medio de un análisis de regresión lineal mediante la prueba probit (15) utilizando la frecuencia de respuesta afirmativa. Para el análisis de las variables se utilizó la regresión por pasos y el análisis de medias ANOVA, mediante el paquete estadístico SPSS, versión 10 (16). Para definir una edad de la menarquia temprana se consideró el punto de corte de 11 años de edad según Freedman et al (17).

**RESULTADOS**

La edad de la menarquia se calculó por medio de un análisis de regresión probítica, obteniéndose un valor mediano de 12,06 ± 0,44 años.

La distribución de las niñas por estrato económico se muestra en la Tabla 1. Como consecuencia de haber considerado únicamente escuelas públicas se observó un bajo porcentaje de niñas del nivel socioeconómico alto (3,39%), por lo que al momento de hacer la comparación de medias se eliminó esta parte de la muestra. La edad de la menarquia presentó diferencias significativas de acuerdo al nivel socioeconómico, 12,27 años en el nivel socioeconómico bajo y 11,89 en el nivel medio (p<0,01).

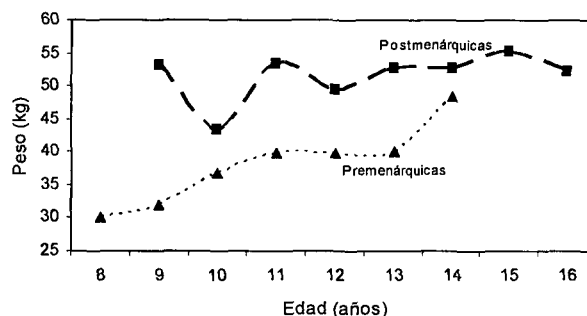
**TABLA 1**  
Distribución de las niñas de acuerdo al nivel socioeconómico y la aparición de la menarquia

Nivel Socioeconómico	Premenárquicas	Postmenárquicas	Total
Bajo	194	170	364 (42.47%)
Medio	136	328	464 (54.14%)
Alto	16	13	29 (3.39%)
	346	511	857 (100%)

En cuanto al peso, se observó que éste fue significativamente mayor en las niñas que alcanzaron su menarquia respecto a las niñas premenárquicas de la misma edad (p < 0,01) (Figura 1).

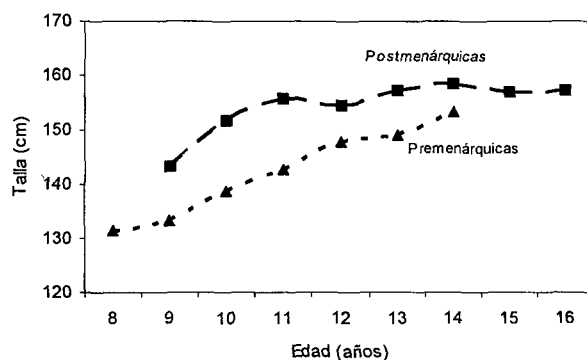
Entre las niñas con menarquia, la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue de 18.8 y 7.7 %, respectivamente.

**FIGURA 1**  
Peso de las niñas pre y post menárquicas de acuerdo a la edad (n = 857)



En la Figura 2 se observa que las niñas con menarquia fueron más altas que las premenárquicas (p < 0,01), sobre todo las que presentaron una menarquia temprana (14,58%). Sin embargo, la pendiente de la curva de talla fue mayor en las niñas sin menarquia que la de las niñas postmenárquicas. Por medio de un análisis de regresión por pasos, se encontró una asociación altamente significativa entre la talla y la edad de la menarquia (p < 0,01).

**FIGURA 2**  
Talla de las niñas pre y post menárquicas de acuerdo a la edad (n = 857)



**DISCUSION**

La edad de la menarquia ha sufrido un cambio secular en la mayoría de las poblaciones occidentales en los últimos años. En los países europeos este cambio se asocia con mejores condiciones en el estilo de vida de la población, sobre todo en el aspecto nutricional (18). Olesen et al (19) reportaron que en algunas regiones de Dinamarca la edad de la menarquia está en continuo descenso. Okasha et al (18), en Inglaterra,

encontraron una diferencia de la edad de la menarquia de casi un año entre las mujeres nacidas a principios del siglo XX y la segunda mitad del mismo (13,2 y 12,5 años, respectivamente). Este comportamiento se apreció también en la población de Portugal, en donde la edad de la menarquia disminuyó de 15 años en 1880 a 12,44 en 1990 (20). Asimismo, en España, para 1995 González-Apraiz y Rebato reportaron una mediana de 12,73 años (21). En el año 2000, Marrodán *et al* (22) constatan una marcada tendencia secular en las últimas décadas, así como una aproximación entre las diversas regiones españolas, observando para el medio rural de Madrid una edad de 12,90 años y de 12,79 para el urbano, respectivamente. Tales valores resultan, por otra parte, muy cercanos a los obtenidos en otras poblaciones europeas del ámbito mediterráneo, incluida la población de origen turco residente en Alemania (23).

En cuanto a la edad de la menarquia en Latinoamericana, también se ha observado un cambio secular en las últimas décadas. Diferentes estudios han reportado una madurez sexual relativamente más temprana en esta región en relación con poblaciones europeas. En Argentina se encontró una edad mediana de la menarquia de 12,5 años para población urbana (24), en el área metropolitana de Chile fue de 12,7 años (25) y en Cuba de 13,01 años (1). En un estudio nacional realizado en Venezuela, el valor reportado para el área urbana fue de 12,56 años, mientras que para el área rural fue de 12,91 años (26).

En el caso de la población estadounidense, Chumlea *et al* (27) encontraron un valor mediano de la edad de la menarquia de 12,43 años, sin ser estadísticamente diferente al valor reportado en décadas anteriores en el mismo país.

La edad de la menarquia para la población mexicana, salvo algunas excepciones, se encuentra alrededor de los 12 años de edad (28). En una localidad urbana de Mérida, Yucatán el valor reportado fue de 12,09 años (29), mientras que en áreas urbanas y rurales de Oaxaca el valor fue de 14,27 años (30).

En el presente estudio, el valor mediano de la edad de la menarquia fue de  $12,06 \pm 0,44$  años y coincide con lo reportado por Aréchiga *et al* (18) y por Wolansky *et al* (19) para población mexicana del medio urbano. Aréchiga *et al* (18) sugirieron que la diferencia en la edad de la menarquia entre las niñas mexicanas y la de otras poblaciones más avanzadas puede deberse más que a condiciones ambientales, a un factor hereditario muy importante en la etapa de maduración. Este mismo hecho ha sido comprobado a través de estudios de maduración ósea, en donde se ha visto que las mexicanas maduran más temprano que las inglesas a pesar de las diferencias socioeconómicas que existen entre ambos países (31).

Por otra parte, Bogin (32) sostiene que la edad de la menarquia es un buen indicador de las condiciones medioambientales prevalecientes durante el crecimiento de

las niñas. Ayatollahi *et al* (33) reportaron que el nivel socioeconómico y el estado nutricional son predictores de la edad de la menarquia, de la misma manera que Johnston (34) señala que las niñas de estratos económicos bajos presentan una menarquia más tardía que las niñas de estratos altos.

Al respecto, en este estudio se encontró una relación significativa entre el nivel socioeconómico de las niñas y la aparición de la menarquia ( $p < 0,01$ ). Estas diferencias fueron evidentes entre el nivel socioeconómico bajo, en donde la edad de la menarquia fue de 12,27 años y el estrato medio cuya edad fue de 11,89 años. Este tipo de resultados también fue reportado por Torres-Mejía *et al* (35) quienes encontraron una asociación significativa entre la edad de la menarquia temprana y el nivel socioeconómico alto en adolescentes mexicanas. En población venezolana se reportaron diferencias significativas en la edad de la menarquia entre los estratos socioeconómicos extremos, 12,55 años para el nivel socioeconómico alto y 12,80 años para el nivel socioeconómico bajo.

Por otra parte Muzzo (36) publicó que mientras varios autores asocian el nivel socioeconómico alto a la edad de la menarquia temprana en Chile, otros estudios atribuyen esa característica a un factor étnico dado que las chilenas de cualquier nivel socioeconómico, presentan edades promedio de menarquia menores a la de los países desarrollados.

En relación al peso se encontró que su asociación con la edad de la menarquia no fue significativa, aún cuando las niñas que alcanzaron su menarquia tuvieron un peso significativamente mayor que las niñas premenárquicas de la misma edad ( $p < 0,01$ ). La prevalencia de sobrepeso entre las niñas con menarquia fue de 18,8% y de obesidad de 7,7%. Al respecto, Adair y Gordon-Larsen (37) reportaron que la prevalencia de sobrepeso entre las adolescentes de Estados Unidos fue significativamente más alta en las niñas que presentaron menarquia temprana.

Por otro lado, las niñas con menarquia presentaron una talla mayor en relación con las premenárquicas, sobre todo aquellas que tuvieron una menarquia temprana. Este resultado coincide con el de varios autores, quienes han publicado una relación inversa entre la talla en la niñez y la edad de la menarquia (17, 38 - 40). En este mismo sentido, Tanner, en 1978, publicó que la menarquia aparece en el punto de máxima velocidad en talla y que a partir de ese momento la velocidad de crecimiento empieza a disminuir (41).

En conclusión, la edad de la menarquia para las mujeres del noroeste de México fue de  $12,06 \pm 0,44$  años y presentó una fuerte asociación con la talla y con el nivel socioeconómico de las mismas. Por otra parte, considerando que alrededor del 70% de la población mexicana tiene un nivel socioeconómico bajo (42), es posible que la edad de la menarquia sea el resultado de interacciones genéticas y ambientales.

## REFERENCIAS

1. Jordán RJ. El Crecimiento del Niño. Ed. JIMS, S.A. 1era. Edición. Barcelona, España. 1988. pp 81-100, 195-205.
2. Zacharias L, Wurtman RT. Age at Menarche. *N Eng J Med* 1969; 280(16):868-875.
3. Biro FM, McMahon RP, Striegel-Moore R, et al, Impact of timing of pubertal maturation on growth in black and white female adolescents. *National Health, Lung, and Blood Institute. Growth and Health Study. J Pediatr* 2001;138: 636-643.
4. Sharma K, Talwar I, Sharma N. Age at menarche in relation to adult body size and physique. *Ann Hum Biol* 1988; 15(6): 431-434.
5. Marshall WA, Limongi Y. Skeletal maturity and the prediction of age at menarche. *Ann Hum Biol* 1976; 3:235-243.
6. Sánchez-Andrés A. Genetic and environmental factors affecting menarcheal age in Spanish women. *Anthropologischer Anzeiger* 1997; 55: 69-78.
7. Pasquet P, Biyong AM, Rikong-Adie H, Béfidi-Mengue R, Garba MT, Froment A. Age at menarche and urbanization in Cameroon: current status and secular trends. *Ann Hum Biol* 1999; 26(1): 89-97.
8. Tanner JM. A History of the study of human growth. Cambridge University Press. Cambridge. London 1981.
9. Prado C, Martínez R, Pérez-Landazábal E, Marrodán MD, Sánchez-Andrés A, Nielsen AH. Menarcheal age as an indicator of socioeconomic level in migrants. *J Hum Ecol* 1995; 4: 157-171.
10. Kac G, Auxiliadora de Santa Cruz C, Velasquez-Meléndez G. Secular trend in age at menarche for women born between 1920 and 1979 in Rio de Janeiro, Brazil. *Ann Hum Biol* 2000; 27(4):423-8.
11. Camberos CM, Genesta MA, Huesca L. La pobreza en Sonora. Los límites de la modernización. *Rev. Estud. Soc.* 1994; V(9): 168-197.
12. EPI INFO versión 3.2. Epidemiological Program Office. Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2004
13. NCHS/CDC. National Center for Health Statistics/Center for Disease and Control. Hyattsville, MD. 2001
14. Marshall WA, Tanner JM. Puberty. En: Falkner F, Tanner JM, eds. *Human Growth : A Comprehensive Treatise*. 2<sup>nd</sup>. Ed. Vol. 2. Postnatal Growth and Neurobiology. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1986: 171-203
15. Finney DF. Probit Analysis. Cambridge University Press. Cambridge 1971
16. SPSS/PC. Statistical Package for Social Sciences. Versión 10. SPSS Inc. Chicago.
17. Freedman DS, Khan LK, Serdula MK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relation of age at menarche to race, time period, and anthropometric dimensions: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics* 2002; 110(4): e43.
18. Okasha M, McCarron P, McEwen J, Smith GD. Age at menarche: secular trends and association with adult anthropometric measures. *Ann Hum Biol* 2001; 28(1): 68-78.
19. Olesen AW, Jeune B, Boldsen JL. Continuously diminishing menarcheal age in Denmark. *Ugeskr Laeger* 2001;163(42): 5828-31.
20. Padez C. Social background and age at menarche in Portuguese university students: A note on the secular changes in Portugal. *Am J Hum Biol* 2003; 15(3):415-27.
21. González-Apraiz A, Rebato E. La edad de la menarquia en las niñas de la villa de Bilbao. Un estudio comparativo con otras poblaciones españolas. En: Nieto Amada JL, Moreno Aznar, L (eds.) *Avances de Antropología Ecológica y Genética*. Universidad de Zaragoza 1995. Pp. 153-159.
22. Marrodán MD, Mesa MS, Aréchiga J, Pérez-Magdaleno A. Trend in menarcheal age in Spain: rural and urban comparison during a recent period. *Ann Hum Biol* 2000; 27(3): 313-319.
23. Danker-Hopfe H, Delibata K. Menarcheal age of Turkish girls in Bremen. *Anthropologischer Anzeiger* 1990; 48: 1-14.
24. Legarraga H. Age of menarche in urban Argentinean girls. *Ann Hum Biol* 1980; 7:579-581.
25. Burrows R, Leiva L, Mauricci A, Zvaigahft A, Muzzo S. Características de la pubertad de escolares de sexo femenino de diferentes NSE de la región metropolitana. *Rev Chil Pediatr* 1988; 59: 21-25.
26. López-Blanco M, Izaguirre-Espinoza I, Macías-Tomei C. Crecimiento físico y maduración. En: Méndez Castellano H. (ed). *Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humano de la República de Venezuela: Proyecto Venezuela*. Caracas 1996. Volumen 2. Pp. 695-705.
27. Chumlea WC, Schubert CM, Roche AF, Kulin HE, Lee PA, Himes JH, et al Age at menarche and racial comparisons in US girls. *Pediatrics* 2003; 111(1):110-3.
28. Aréchiga J, Marrodán MD, Mejía MR, Mesa MS. Análisis comparativo de la edad media de menarquia en población mexicana. *Anales Museo de América* 1999; 7:257-266.
29. Wolanski N, Dickinson F, Siniarska A. Biological traits and living conditions of Maya Indian and no Maya girls from Mérida, México. *Int J Anthropol* 1993; 8: 233-246.
30. Malina RM, Chumlea C, Stepick CD, Gutiérrez F. Age of menarche in Oaxaca, México. Schoolgirls, with comparative data for other areas of Mexico. *Ann Hum Biol* 1977; 4: 551-558.
31. Sáenz ME. Edad ósea y menarquia durante la adolescencia. *An Antrop* 1989; 26: 465-474.
32. Bogin G. *Patterns of Human Growth*. 2<sup>nd</sup> Ed. Cambridge University Press 1999
33. Ayatollahi SM, Dowlatabadi E, Ayatollahi SA. Age at menarche in Iran. *Ann Hum Biol* 2002; 29(4):355-362.
34. Johnston FE. *Nutritional Anthropology*. Alan R. Liss Inc., New York 1974. pp. 85-99.
35. Torres-Mejía G, Cupul-Uicab LA, Allen B, Galal O, Salazar-Martínez E, Lazcano-Ponce EC. Comparative study of correlates of early age at menarche among Mexican and Egyptian adolescents. *Am J Hum Biol* 2005;17(5):654-8
36. Muzzo S. Crecimiento normal y patológico del niño y del adolescente. *Rev Chil Nutr* 2003; 30(2):92-100.
37. Adair LS, Gordon-Larsen P. Maturational timing and overweight prevalence in US adolescent girls. *Am J Public Health* 2001; 91(4):642-4.
38. Ellison PT. Prediction of age at menarche from annual height increments. *Am J Phys Anthropol* 1981; 56: 71-75.
39. Morrison JA, Barton B, Biro FM, Sprencher DL, Falkner F, Obarzanek E. Sexual maturation and obesity in 9 and 10 years

- old black and white girls: the National Heart, Lung, and Blood Institute Growth and Health Study. *J Pediatr* 1994; 124: 889-895.
40. Koprowski C, Ross RK, Mack WJ, Henderson BE, Bernstein L. Diet, body size and menarche in a multiethnic cohort. *Br J Cancer* 1999; 79: 1907-1911.
41. Tanner JM. *Foetus into man: Physical Growth from Conception to Maturity*. Fletcher and Son LTD. 1th ed. Great Britain 1978.
42. Damián A y Boltvinik J. Evolución y características de la pobreza en México. *Comercio Exterior*. 2003;53(6):519-531.

Recibido: 21-12-2005

Aceptado: 02-06-2006

## Patrones alimentarios y su relación con sobrepeso y obesidad en niñas chilenas de nivel socioeconómico medio alto

*Lydia Lera Marqués, Sonia Olivares Cortés, Bárbara Leyton Dinamarca, Nelly Bustos Zapata*

Laboratorio de Epidemiología Nutricional y Genética, Laboratorio de Estadística. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile. Santiago, Chile.

**RESUMEN.** El objetivo del presente estudio fue la identificación de patrones alimentarios y su asociación con la presencia de obesidad o sobrepeso en niñas. Se seleccionó una muestra de 108 niñas entre 8 y 11 años de nivel socioeconómico medio alto en un colegio privado de Santiago de Chile. A estas niñas se les determinó el índice de masa corporal y se les aplicó una encuesta de frecuencia de consumo de alimentos cuantificada y de actividad física (validada en el Proyecto FAO/MINEDUC/INTA "Educación en nutrición en la enseñanza básica"). Por medio del análisis factorial se obtuvieron cuatro factores que representan patrones alimentarios diferentes, y explican 54% de la variación total. El primer factor se caracterizó por una dieta basada en el consumo de alimentos de alta densidad energética (comida rápida, helados, chocolates, papas fritas, "snacks"); el segundo por una dieta saludable (lácteos, frutas y verduras); el tercero por la ingesta de bebidas gaseosas (con y sin azúcar) y el cuarto por una dieta rica en alimentos de alta densidad energética y azúcares (pan, cecinas, dulces). Los cuatro patrones alimentarios se relacionaron mediante una regresión logística con la presencia o no de sobrepeso y obesidad, obteniéndose que el primer patrón, alimentos de alta densidad energética, se asoció significativamente con la presencia de obesidad (OR= 1,86; 95% IC: 1,12 – 3,09). Los resultados de este estudio son consistentes con los obtenidos en otros países.

**Palabras clave:** Análisis factorial, regresión logística, patrones alimentarios, obesidad, niños.

### INTRODUCCION

Generalmente los alimentos se consumen en forma combinada, lo que hace difícil determinar los efectos de ellos separadamente con relación a alguna patología como la obesidad (1). Una forma posible de examinar el efecto combinado de la ingesta de alimentos es mediante la obtención de patrones alimentarios utilizando métodos estadísticos multivariados.

A nivel internacional la mayoría de los estudios de búsqueda de patrones alimentarios, basados en encuestas alimentarias, y su asociación con diferentes enfermedades y características socioeconómicas, han sido realizados en adultos (1-8). Se ha encontrado que los patrones alimentarios varían según el sexo, la raza y el nivel socioeconómico (NSE). En un estudio de cohorte prospectivo, en una muestra de 44.875

**SUMMARY.** Dietary patterns and its relation with overweight and obesity in Chilean girls of medium-high socioeconomic level.

The aim of the present study was to identify dietary patterns in girls and to assess their association with obesity or overweight. A school-based sample of 108 girls between 8 and 11 years of medium-high socioeconomic level was selected in Santiago, Chile. The body mass index was calculated and a quantified food frequency and physical activity questionnaires (validated in the FAO/MINEDUC/INTA Project Nutritional Education in primary schools) were applied. Four distinct dietary factors or patterns were obtained explaining 54% of the total variation using factorial analysis. The first factor was characterized by an energy-dense diet (high consumption of fat foods, ice creams, chocolates, French fries, snacks). The second factor represented a healthy diet (dairy products, fruits and salads). The third factor represented intake of soft drinks (either with or without sugar). The fourth factor represented a diet rich in calories and sugars (bread, sausages, sweets). The association between the four dietary factors and overweight/obesity was assessed through logistic regression models. The first factor, energy-dense foods, was the only one significantly associated with the presence of obesity (OR = 1.86; 95% CI: 1.12 – 3.09). The results of this research about dietary patterns are consistent with studies carried out in other countries.

**Key words:** Factorial analysis, logistic regression, dietary patterns, obesity, children.

hombres norteamericanos entre 40 y 75 años, sin diagnóstico de enfermedades cardiovasculares ni cáncer, se identificaron 2 patrones alimentarios: un primer factor caracterizado por la ingesta de vegetales, frutas, legumbres, etc, denominado "factor prudente" y un segundo factor, identificado como "patrón occidental" (carnes rojas, carnes procesadas, grasas, papas fritas, dulces, etc.). En el estudio se encontró que aquellos sujetos con un alto consumo de alimentos tipo occidental tenían mayor riesgo de sufrir enfermedades coronarias y cáncer de colon, mostrando que el consumo de alimentos puede predecir significativamente la incidencia de enfermedades coronarias (5). En Noruega (8), en una muestra de 37.226 mujeres de 41-56 años con cáncer, se identificaron seis patrones dietarios y cada uno de ellos fue asociado a diferentes estilos de vida y características sociodemográficas.

En niños, se han publicado estudios de patrones

alimentarios en Gran Bretaña, EE.UU. y España. En Gran Bretaña (9), se realizó un estudio multivariado de la dieta de 10.139 niños de 3 años que eran parte del estudio ALSPAC (Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood). El estudio fue repetido a los 4 y 7 años encontrando consistencia en los patrones alimentarios obtenidos en las dos edades (10). En EE.UU. (11) a partir de una muestra por conveniencia de 101 niñas saludables entre 8 y 12 años que formaban parte de un estudio longitudinal de crecimiento y desarrollo, se obtuvieron patrones dietarios y la asociación de esos patrones, establecidos durante la niñez, con cambios en el puntaje z del índice de masa corporal (IMC) en la adolescencia. En España (12) un estudio realizado en niños, adolescentes y jóvenes entre 2 y 20 años de edad, obtuvo 5 patrones alimentarios que también fueron relacionados con características sociales, económicas y de estilo de vida.

Es sabido que la dieta se asocia a enfermedades crónicas como las cardiovasculares, la obesidad, la diabetes, la hipertensión y algunos tipos de cáncer. Adicionalmente, la dieta es uno de los factores de riesgo posibles de modificar. Considerando la pesada carga de morbilidad y mortalidad que representan las citadas enfermedades crónicas actualmente, es de suma importancia determinar patrones alimentarios, tanto en niños como en adultos, con el fin de que sirvan de base para el diseño de intervenciones educativas orientadas a su prevención.

La literatura reporta patrones alimentarios basados en cuestionarios de frecuencias de alimentos obtenidos por diferentes métodos: por análisis de componentes principales o análisis factorial, por la similitud de los nutrientes que componen algunos de los alimentos y por grupos de alimentos predefinidos (4).

En Chile son pocos los estudios realizados para investigar el consumo de alimentos tanto en adultos como en niños, no existiendo reportes de patrones alimentarios basados en encuestas alimentarias de 24 horas o de otro tipo. En escolares, se realizó un estudio sobre patrones alimentarios y de actividad física en 340 niños de kinder a 4to básico de la región de Aysén (13) donde se determinó un índice de calidad global de la alimentación. En el marco del estudio FAO/MINEDUC/INTA (14) se estimó el estado nutricional y el consumo de algunos alimentos en escolares entre 8 y 13 años de NSE bajo en tres regiones de Chile: norte, centro y sur, elaborando grupos de alimentos predefinidos. Al año siguiente, aplicando la misma metodología utilizada en el proyecto de la FAO se obtuvo información sobre alimentación y actividad física en escolares mujeres de NSE medio alto (15), con el objetivo de compararlos. A estas niñas se les determinó el IMC y se les aplicó una encuesta sobre consumo de alimentos y actividad física, encontrándose diferencias significativas en el consumo de lácteos, pan, bebidas dulces y "snacks" en las niñas de NSE medio alto con relación a las niñas de NSE bajo.

Con los datos provenientes del estudio en escolares de sexo femenino y NSE medio alto se construirán patrones alimentarios para analizar su asociación con el sobrepeso y la obesidad. Para la realización de los análisis se utilizaron alimentos de amplio consumo en los escolares.

## MÉTODOS

Los resultados de este estudio se basan en una muestra de 108 escolares entre 8 y 11 años de un colegio privado de la Región Metropolitana de Santiago de Chile, de NSE medio alto, que cursaban entre 3° y 6° básico y que formaron parte de un estudio descriptivo de corte transversal para determinar el estado nutricional, el consumo de alimentos y la actividad física (15). La elección de la muestra se realizó seleccionando aleatoriamente un curso por nivel y se incluyó en la muestra a todas las niñas de los cursos seleccionados.

Para evaluar el estado nutricional de las niñas se efectuaron mediciones de peso y talla, a cargo de nutricionistas entrenadas, las que utilizaron una balanza Seca con cartabón modelo 713, cuya escala presentaba una sensibilidad de 0,2 kg para el peso y 1 mm para la estatura.

El estado nutricional se determinó utilizando el IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) y las tablas de CDC/NCHS (16). Los puntos de corte para clasificar el estado nutricional fueron los siguientes: bajo peso IMC percentil <10; peso normal IMC percentil =10 - <85; sobrepeso IMC percentil 85-94; obeso IMC percentil =95, actualmente aceptados por el Ministerio de Salud de Chile para la evaluación del menor de 18 años (17).

Para estimar el consumo de alimentos de las niñas se aplicó una encuesta de frecuencia de consumo cuantificada (EFCC), previamente validada en el proyecto FAO/MINEDUC/INTA "Educación en nutrición en la enseñanza básica" (14). Según la frecuencia semanal y el tamaño de las porciones consumidas cada vez se estimó el promedio diario de consumo del alimento en gramos  $\pm$  el error estándar (18). Las encuestas fueron realizadas por nutricionistas entrenadas.

Los alimentos seleccionados fueron: leche y yogurt, (considerados juntos en el ítem lácteos); helados; frutas, ensaladas; completos (hot-dogs), pan, cecinas o embutidos (mortadela, jamonada, vienasas, etc.), bebidas gaseosas (incluyen las bebidas y refrescos en polvo con azúcar), bebidas "light" (sin azúcar), chocolates, "sopaipillas" (masas fritas) y papas fritas no envasadas (estas dos últimas fueron consideradas juntas como frituras), productos salados envasados (ramitas, papas fritas, etc.) y productos dulces envasados (galletas con y sin relleno, caramelos, etc.).

### Métodos estadísticos

Se realizó un análisis factorial (AF), utilizando el método de estimación del factor principal con rotación varimax (19).

En el AF se crean factores que son interpretables y que se pueden utilizar para describir una situación compleja. La interpretación de los factores, que no viene dada a priori, será deducida tras observar la relación de estos factores con las variables iniciales (por lo tanto hay que estudiar tanto el signo como la magnitud de los valores).

Utilizando los puntajes de los factores seleccionados del AF como variables predictoras y la presencia de obesidad como variable respuesta (sobrepeso u obesitas) se realizó un análisis de regresión logística para buscar asociación entre los patrones alimentarios obtenidos y la obesidad (65,7% de las niñas tenía peso normal y 34,3% presentaba sobrepeso u obesidad) por medio de una regresión logística. Para la realización de los análisis se utilizaron alimentos de amplio consumo en los escolares y el estado nutricional. La regresión logística es un método que relaciona la probabilidad de que ocurra un determinado suceso (la variable dependiente o variable respuesta que es una variable dicotómica o de dos posibles valores) en función de varias variables que pueden ser cualitativas o cuantitativas.

Todos los análisis fueron realizados con STATA (20) y SAS (21).

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los promedios, error estándar e intervalos de confianza (IC) al 95% de los alimentos analizados. A pesar de que las niñas pertenecen a un NSE medio alto, se puede observar que el consumo de leche, frutas y verduras está por debajo de lo recomendado para el grupo de edad por las Guías Alimentarias Chilenas (22) y la OMS (23) (600 ml/día y = 400 g/día, respectivamente).

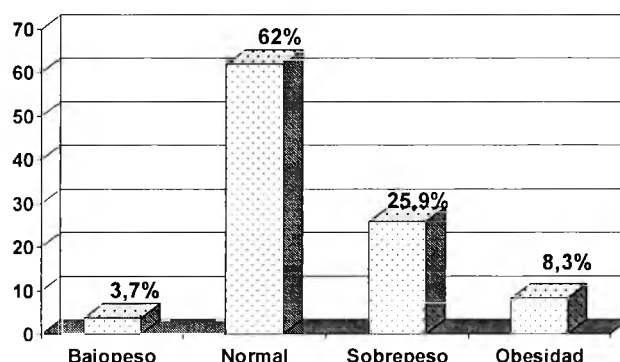
TABLA 1

Consumo promedio diario en gramos de alimentos por las escolares chilenas, error estándar (ES) e intervalos de confianza (IC) al 95%

Alimentos	Promedio (g/día)	ES	IC 95%
Lácteos	467,2	21,54	424,52 – 509,91
Helados	17,7	2,18	13,39 – 22,04
Fruta	190,8	17,16	156,82 – 224,85
Ensaladas	40,8	4,18	32,46 – 49,04
Pan	81,1	6,72	67,77 – 94,40
Cecinas	28,8	2,69	23,45 – 34,13
Bebidas gaseosas	309,9	33,05	244,44 – 375,44
Bebidas "light"	181,2	34,26	113,29 – 249,10
Chocolates	13,5	1,97	9,56 – 17,36
Completo	7,5	1,06	5,44 – 9,64
Fritura	17,4	2,53	12,41 – 22,43
Productos salados	18,7	2,41	13,91 – 23,47
Productos dulces	17,9	3,02	11,89 – 23,88

La Figura 1 muestra la distribución del estado nutricional del grupo de niñas estudiadas. El 8,3% de las niñas son obesitas y 25,9% tienen sobrepeso, cifras menores que las encontradas en otros estudios en niñas chilenas de NSE bajo o medio bajo (14, 24).

FIGURA 1  
Estado nutricional de las escolares chilenas



El AF identificó cuatro factores que representan patrones alimentarios para las niñas de NSE medio alto. Los cuatro primeros factores explican 54% de la varianza, a partir del quinto factor se explica menos de 9% de la variación total. La Tabla 2 muestra los pesos de los alimentos en los factores. Cada uno de los factores fue identificado y caracterizado por la importancia de las variables.

TABLA 2

Peso de los alimentos para los cuatro patrones alimentarios identificados en las escolares chilenas

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Lácteos (leche + yogurt)	0,09	0,65	-0,32	0,01
Helados	0,66	-0,08	0,00	0,21
Frutas	-0,13	0,69	0,13	-0,01
Ensaladas	0,04	0,75	-0,04	0,08
Panes	0,09	0,13	0,18	0,75
Cecinas	0,30	0,15	0,09	0,60
Bebidas gaseosas	0,10	0,14	0,85	0,17
Bebidas diet	0,06	0,28	-0,80	0,10
Chocolates	0,67	-0,03	0,04	0,05
Completo ("Hot-dogs")	0,44	-0,14	0,06	0,06
Frituras	0,79	0,10	0,03	-0,03
Productos salados	0,45	-0,38	-0,07	0,35
Productos dulces	-0,14	-0,21	-0,14	0,65
% de varianza explicada	19	14	11	9
% de varianza acumulada	19	33	45	54

El primer factor está constituido por el consumo de helados, chocolates, completos, frituras y productos envasados salados, es decir, representa una dieta basada en alimentos de alta densidad energética, considerados poco saludables cuando se consumen en exceso. El segundo factor está constituido por el consumo de lácteos, frutas y verduras, lo que representa una dieta saludable. El tercer factor está constituido por la ingesta de bebidas gaseosas con y sin azúcar de manera inversa, representando este factor, el patrón de las bebidas. Y el cuarto factor está constituido por el consumo de pan, cecinas y productos envasados dulces, alimentos de alta densidad energética que también representan un riesgo por su elevado aporte de calorías, contenido de grasas saturadas (cecinas) y azúcar, en el caso de los productos envasados dulces.

En la regresión logística se asociaron los factores que representan los cuatro patrones alimentarios con la presencia o no de sobrepeso y obesidad (65,7% normales y 34,3% sobrepeso-obesos). Se obtuvo que sólo el primer factor alimentario, representado por alimentos de alta densidad energética, se asocia con la presencia de obesidad o sobrepeso (OR= 1,86; 95% IC: 1,12 – 3,09), lo que significa que la ingesta de estos alimentos aumenta 86% la posibilidad de sobrepeso y obesidad en las niñas estudiadas (Tabla 3).

· TABLA 3  
Asociación entre los patrones alimentarios y el sobrepeso y obesidad por medio de un modelo de regresión logística para las escolares chilenas\*

	Coeficientes	ES	z	p
Constante	-0,61	0,21	-2,86	0,004
Factor 1	0,62	0,26	2,41	0,016
Factor 2	0,19	0,22	0,87	0,383
Factor 3	-0,29	0,22	-1,34	0,181
Factor 4	0,05	0,23	0,20	0,845
Variables	OR	z	IC 95%	p
Factor 1	1,86	2,41	1,12 - 3,09	0,016
Factor 2	1,21	0,87	0,79 - 1,88	0,383
Factor 3	0,75	-1,34	0,49 - 1,15	0,181
Factor 4	1,05	0,20	0,66 - 1,65	0,845

\*Hosmer-Lemeshow  $\chi^2(8) = 4,18$   $p=0,8403$

## DISCUSION

En este estudio se identificaron cuatro patrones alimentarios sobre consumo de alimentos en niñas entre 8 y 11 años de NSE medio alto asistentes a un colegio privado de Santiago de Chile como resultado de la aplicación de un AF con rotación varimax. Aunque la varianza explicada por los cuatro primeros factores obtenidos en el estudio es poca (54%) es

superior a la reportada en otros estudios realizados con los mismos fines (3,5,9-10). De los cuatro factores obtenidos, el primero, patrón dietético constituido por alimentos de alta densidad energética como helados, frituras (papas fritas y sopaipillas), chocolates, completos y productos envasados salados, explica 19% de la variación total y se asocia significativamente con el sobrepeso y la obesidad.

Algunos autores a nivel internacional, han reportado patrones alimentarios basados en cuestionarios de frecuencias de alimentos en estudios de cohorte por medio de AF o Análisis de Componentes Principales (ACP). Otros autores construyeron grupos de alimentos basados en la similitud de los nutrientes que componen a los alimentos mientras otros usaron grupos de alimentos predefinidos.

Hay autores que plantean que el uso de ACP y AF (25-27) para la obtención de patrones dietarios no tiene grandes ventajas sobre otros métodos menos complicados utilizados, principalmente por la subjetividad en la construcción de los factores, muchos de ellos los utilizan y los proponen como métodos a seguir en la construcción de patrones alimentarios. Northstone y Emmett (10) encontraron tres patrones alimentarios utilizando ACP en una muestra de niños entre 4 y 7 años de edad cuyo primer componente es muy similar al primer factor obtenido en nuestro estudio. Aranceta y cols. (12) encontraron cinco patrones alimentarios, por medio de un AF, en una muestra de niños, adolescentes y jóvenes entre 2 y 24 años cuyo segundo factor es un factor de alta densidad energética similar al encontrado en nuestro estudio. Estos patrones fueron relacionados con factores sociodemográficos y de estilo de vida.

En Chile, en los últimos años, se han realizado estudios sobre el consumo de alimentos basados en cuestionarios de frecuencias de consumo de alimentos cuantificadas en niños de NSE bajo o medio bajo. Los alimentos de este estudio, se agruparon de la siguiente forma: un grupo determinado por todos los lácteos; otro grupo por las frutas y las verduras; otro grupo formado por las frituras, chocolates, productos envasados dulces y salados, completos ("hot-dogs"), etc., grupo denominado "snacks"; y otro grupo formado por las bebidas con y sin azúcar y el pan. Éste se analizó separado debido a su alta ingesta en la población chilena. En esos estudios se ha encontrado un bajo consumo de lácteos, verduras, frutas y pescado, un elevado consumo de pan y de alimentos de alta densidad energética, ricos en grasas saturadas, azúcar y/o sal, consumidos diariamente por los niños entre las comidas, que en algunos casos llegan a representar 40% o más de sus necesidades energéticas diarias (13-14,24,28).

Olivares y cols. (14), estudiaron la asociación entre el consumo de lácteos, frutas y verduras, "snacks", bebidas y pan y el estado nutricional (obesos vs. normales) de escolares chilenos de NSE bajo en tres regiones del país, encontrándose una relación negativa entre el consumo de lácteos y la obe-

sidad, los niños obesos consumían menor cantidad de lácteos que los de peso normal. No se encontró asociación con el resto de los alimentos.

Phillips y cols. (29) estudiaron la relación entre el consumo de "snacks" de alta densidad energética, el IMC y el porcentaje de grasa corporal en un estudio longitudinal en niñas de peso normal de 8 a 12 años, y relacionaron estos datos con las horas que las niñas veían televisión. Los "snacks" incluyeron galletas, helados, papas fritas, bebidas con azúcar y dulces. Los efectos mixtos del modelo lineal aplicado no encontraron relación entre el consumo total de "snacks" con el IMC o el porcentaje de grasa corporal. A los 10 años de seguimiento, sólo las bebidas con azúcar mostraron una relación significativa con el IMC, pero no con el porcentaje de grasa corporal. Adicionalmente, los autores encontraron una relación significativa entre el consumo de "snacks" de alta densidad energética y el tiempo que las niñas miraban TV.

Estudios nacionales realizados en EE.UU. han destacado que además del aumento en el consumo de "snacks" (30), el de alimentos con azúcar agregada constituyen motivo de especial preocupación. Se señala que el consumo de azúcar en los niños y niñas de 12 a 17 años alcanza 20% de las calorías totales y la mayoría proviene de las bebidas y refrescos con azúcar (31).

En el presente estudio, las bebidas y los dulces aparecieron como tercer y cuarto factor en orden de importancia en la alimentación de las niñas de NSE medio alto, si bien no se encontró asociación con su estado nutricional. Cabe hacer notar que 48% (10-11 años) y 40% (12-13 años) de las niñas de este estudio, miraban más de 3 horas diarias de TV durante los días de colegio.

Aunque los resultados de este estudio muestran un mayor consumo de lácteos con respecto a los resultados reportados en niños de NSE bajo, éste sigue siendo inferior a lo recomendado para el grupo de edad, así como el consumo de verduras y frutas, que es similar al encontrado en los estudios realizados en niños de NSE bajo, representando la mitad de lo recomendado (14-15,24). Estos resultados permiten verificar que los escolares chilenos presentan patrones alimentarios inadecuados, ricos en alimentos de alto contenido energético y en azúcares, independientemente del NSE al que pertenecen. Vásquez y cols. (32) al estudiar el consumo de alimentos en escolares de Madrid, también encontraron un consumo de lácteos y verduras inferior al recomendado, en tanto el consumo de embutidos, dulces, "snacks" y platos preparados era muy superior a las recomendaciones.

Los efectos arrojados por los patrones alimentarios obtenidos, en especial por el primer patrón, que mostró una relación con la obesidad, y la asociación de ésta con otras enfermedades crónicas, sirven de advertencia y preocupación por la dieta de los escolares, tanto al diseñar los programas alimentarios como las intervenciones educativas orientadas a

mejorar sus hábitos, si se considera que la dieta es uno de los factores de riesgo posibles de modificar.

La identificación de patrones alimentarios en distintos grupos de edad y NSE y su evolución, pueden servir de base para diseñar intervenciones y evaluar el efecto de las políticas y programas de promoción de la salud que se están implementando en el país.

## REFERENCIAS

1. Hoffmann K, Schulze MB, Schienkiewitz A, Nöthlings U, and Boeing H. Application of a new statistical method to derive dietary patterns in nutritional epidemiology. *Am J Epidemiology* 2004; 159: 935-944.
2. Wirfält E, Mattisson I, Gullberg B and Berglund G. Food patterns defined by cluster analysis and their utility as dietary exposure variables: a report from the Malmö Diet and Cancer Study. *Public Health Nutr* 2000; 3 (2): 159-173.
3. Yang EJ, Kerver J and Song WO. Dietary patterns of Korean Americans described by Factor Analysis. *Journal of the American College of Nutrition* 2005; 24 (2): 115-121.
4. Park SY, Murphy SP, Wilkens LR, Yamamoto JF, Sharma S, Hankin JH, Henderson BE and Kolonel LN. Dietary patterns using the food guide pyramid groups are associated with sociodemographic and lifestyle factors: the multiethnic cohort study. *J Nutr* 2005; 135: 843-849.
5. Hu FB, Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Spiegelman D, Willet WC. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in men. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 912-921.
6. Cronin FJ, Krebs-Smith SM, Wyse BW, Light L. Characterizing food usage by demographic variables. *J Am Diet Assoc* 1982; 81: 661-673.
7. Nicklas TA, Webber LS, Thompson B and Berenson G. A multivariate model for assessing eating patterns and their relationship to cardiovascular risk factors: the Bogalusa Heart Study. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 1320-1327.
8. Engeset D, Alsaker E, Ciampi A and Lund E. Dietary patterns and lifestyle factors in the Norwegian EPIC cohort: the Norwegian Women and Cancer (NOWAC) study. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59 (5): 675-684.
9. North K, Emmett P and the Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood (ALSPAC) Study Team. Multivariate analysis of diet among three-year-old children and associations with socio-demographic characteristics. *Eur J Clin Nutr*. 2000; 54 (1): 73-80.
10. Northstone K, Emmett P. Multivariate analysis of diet in children at four and seven years of age and associations with socio-demographic characteristics. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59 (6): 751-760.
11. Thompson OM, Ballew C, Resnicow K, Gillespie C, Must A, Bandini LG, Cyr H and Dietz WH. Dietary pattern as a predictor of change in BMI z-score among girls. *Int J Obes* 2005; 13: 1-7.
12. Aranceta, J, Pérez Rodrigo, R, Serra-Majem, LL. Sociodemographic and lifestyle determinants of food patterns in Spanish children and adolescents: the enKid study. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57 (S 1): S40-S44.

13. Atalah E, Urteaga C, Rebolledo A, Delfín S, Ramos R. Patrones alimentarios y de actividad física en escolares de la región de Aysén. *Rev Chil Pediatr* 1998; 70: 483-490.
14. Olivares S, Kain J, Lera L, Pizarro F, Vio F, Morón C. Nutritional status, food consumption and physical activity among Chilean school children: a descriptive study. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58: 1278-1285.
15. Olivares S, Bustos N, Lera L, Zelada ME. Estado nutricional, consumo de alimentos y actividad física en escolares mujeres de diferente nivel socioeconómico de Santiago de Chile. *Enviado a Revista Médica de Chile*.
16. CDC/NCHS. CDC growth charts: United States. <http://www.cdc.gov/growthchart>.
17. Ministerio de Salud: Unidad de Nutrición, Consejo Asesor de Nutrición, Grupo de Expertos. Norma técnica de evaluación nutricional del niño de 6 a 18 años. *Rev Chil Nutr* 2004; 3(2): 128-137.
18. Vásquez M, Witriw A. Modelos visuales de alimentos. Tablas de relación peso/volumen. 1ª ed. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, 1997.
19. Mardia KV, Kent JT and Bibby JM. *Multivariate Analysis*. London. Academic Press, 1979.
20. STATA. Stata 8.2. Stata Corporation. College Station, USA; 2004.
21. SAS. SAS Institute Inc. (2002), *SAS/STAT Software: user's guide*, Release 8.2. Cary, NC: SAS Institute, Inc.
22. Ministerio de Salud/INTA/Vida Chile. Guía para una vida saludable. Santiago; Ministerio de Salud, Norma General Técnica N° 76, 10 de agosto 2005.
23. WHO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation; 2003. WHO Technical Report Series 916.
24. Olivares S, Zacarías I, Lera L, Leyton B, Durán R, Vio F. Estado nutricional y consumo de alimentos seleccionados en escolares de la Región Metropolitana: línea base para un proyecto de promoción del consumo de pescado. *Rev Chil Nutr* 2005; 32: 102-108.
25. McCann SE, Weiner J, Graham S and Freudenheim JL. Is principal components analysis necessary to characterise dietary behaviour in studies of diet and disease? *Public Health Nutr* 2001; 4 (4): 903-908.
26. Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutrition epidemiology. *Opin Lipidol*. 2002; 13: 3-9.
27. Martínez ME, Marshall JR and Sechrest L. Invited Commentary: Factor analysis and the search for objectivity. *Am J Epidemiology* 1998; 148(1): 17-19.
28. Yáñez R, Olivares S, Torres I, Guevara M, Díaz N. Consumo de alimentos en escolares chilenos. Su relación con las guías y la pirámide alimentaria. *Rev Chil Nutr* 2001; 28: 422-428.
29. Phillips S, Bandini L, Naumova E, Cyr H, Colclough, Dietz W, Must A. Energy-dense snack food intake in adolescence: longitudinal relationship to weight and fatness. *Obes Res* 2004; 12: 461-472.
30. Jahns L, Siega-Riz AM, Popkin BM. The increasing prevalence of snacking among US children from 1977 to 1996. *J Pediatr* 2001; 138: 493-498.
31. Guthrie JF, Morton JF. Food sources of added sweeteners in the diet of Americans. *J Am Diet Assoc* 2000; 100: 43-51.
32. Vásquez C, de Cos A, Martínez P, Jaunsolo M, Román E, Gómez C, López T, Hernández I, Seijas V, Ramos V; Cilleruelo M, García J, López-Nomdedeu C y Grupo CAENPE. Consumo de alimentos y estado nutricional de los escolares de la Comunidad de Madrid (CAENPE): Metodología general y consumo global de alimentos. *Nutr Hosp*. 1995; X: 40-48.

Recibido: 01-02-2006

Aceptado: 28-05-2006

## Comparación del perfil de sensibilidad a antibióticos de cepas de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. aisladas a partir de alimentos con cepas de origen clínico

Juan Manuel Zamora, Carolina Chaves y María Laura Arias

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

**RESUMEN.** El uso actual de los antibióticos no se da únicamente con fines terapéuticos, sino que se ha extendido hacia la prevención de enfermedades y como promotores del crecimiento en animales. Esta prácticas han llevado a la propagación de resistencia a antibióticos, lo cual representa un riesgo en Salud Pública. En el presente estudio, se evaluó el perfil de sensibilidad a antibióticos de 20 cepas de *Listeria monocytogenes* y 40 cepas de *Salmonella* spp. aisladas a partir de alimentos y se comparó con los perfiles de sensibilidad de 20 cepas de *L. monocytogenes* y 100 de *Salmonella* sp de origen clínico. El 95% de las cepas de *L. monocytogenes* aisladas a partir de alimentos fue sensible a ampicilina, comparado con el 65% de las cepas de origen clínico. De la misma manera, el 100% de las cepas alimentarias mostraron sensibilidad a la gentamicina, comparado en el 85% de las cepas clínicas. El 95% de ambas mostró sensibilidad a triptopropin sulfametoxazol y el 100% a ciprofloxacina. Con respecto a *Salmonella* spp., para los antibióticos trimetoprim sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacina, ácido nalidixico y amoxicilina/ácido clavulánico, los porcentajes de sensibilidad fueron similares, sin embargo, las cepas de origen alimentario mostraron un 97,5% y un 82,5% de sensibilidad a la tetraciclina y cefalexina respectivamente, comparado con un 83% y 90% obtenido a partir de las cepas de origen clínico. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto el riesgo potencial que representan las cepas bacterianas aisladas de alimentos en la transmisión de resistencia a los antibióticos.

**Palabras clave:** *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, perfil de sensibilidad a los antibióticos.

### INTRODUCCION

Las enfermedades de transmisión alimentaria han presentado, en los últimos años, un aumento significativo en su frecuencia. Entre los principales patógenos involucrados, se encuentran *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*, entre otros. Estos agentes producen una morbilidad y mortalidad importante, aunado a altos costos para el sector salud (1).

Estas infecciones requieren, generalmente, tratamiento con agentes antimicrobianos, con el fin de reducir la mortalidad y morbilidad asociadas (2).

El uso indiscriminado de antibióticos en diversas prácticas, incluyendo las médicas, veterinarias y agrícolas

**SUMMARY.** Comparison of the antibiotics sensibility pattern of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. strains isolated from food with clinical origin samples. The actual use of antibiotics includes, not just its therapeutic cases, but also for disease prevention and as a growth promoter in animals. These practices have resulted in the propagation of resistance to antibiotics, representing a threat for Public Health. In this work, the antibiotic sensibility pattern of 20 *Listeria monocytogenes* and 40 *Salmonella* spp. strains, isolated from foodstuff was studied and compared with the antibiotic sensibility patterns of 20 *L. monocytogenes* and 100 *Salmonella* strains of clinical origin. 95% of the *L. monocytogenes* strains isolated from food were sensible to ampicillin, compared with the 65% of the clinical origin strains. Same way, 100% of food strains were sensible to gentamicin, compared with 85% of clinical origin strains. 95% of both showed sensibility to trimethoprim sulfametoxazole and 100% to ciprofloxacin. For *Salmonella* spp., the sensibility patterns for trimethoprim sulfametoxazole, gentamicin, ciprofloxacin, nalidixic acid and amoxicilin/clavulanic acid from both origins were similar. Nevertheless, food origin strains showed a 97,5% and 82,5% sensibility for tetracycline and cephalosporin respectively, compared with a 83 and 90% sensibility shown by clinical origin strains. The results obtained demonstrate the potential risk that bacterial strains isolated from food represent in the transmission of antibiotics' resistance.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, sensibility pattern to antibiotics.

resulta en una presión selectiva sobre las bacterias, contribuyendo a la selección de microorganismos con patrones de resistencia a antibióticos (3-6). La presencia y persistencia de bacterias resistentes a antibióticos ha sido descrita en diferentes ambientes, incluyendo suelos (7), agua superficial y potable (8,9) y alimentos (10) y representa un creciente problema de Salud Pública. En el caso de *Listeria monocytogenes*, se describe una creciente incidencia, especialmente en alimentos listos para consumir y que son conservados en refrigeración por tiempo prolongado (11). Al mismo tiempo, se describe un aumento en la transferencia de factores de resistencia por conjugación de plásmidos y transposones a partir de *Enterococcus* y *Streptococcus* (12).

Para *Salmonella* spp., se ha descrito una rápida y creciente emergencia de cepas multirresistentes provenientes de animales y humanos (2,13-15) lo cual incide en un creciente número de fracasos terapéuticos (16). La resistencia a algunos antibióticos, incluyendo  $\beta$  lactámicos, tetraciclina, cloranfenicol y trimetoprim sulfametoxazol es cada vez mayor (8,14). Además, en los últimos tiempos se ha observado, a nivel mundial, la emergencia de cepas de *S. typhimurium* multirresistentes, procedentes de animales y humanos (2).

Dado lo anterior, el propósito del presente trabajo es comparar la susceptibilidad a antibióticos de cepas de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp aisladas a partir de alimentos con cepas de origen clínico de Costa Rica.

## MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó entre los meses de enero y abril del 2005 en el Laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

### Población estudiada

Se analizó el perfil de sensibilidad a antibióticos de 20 cepas de *Listeria monocytogenes* y 40 cepas de *Salmonella* sp aisladas e identificadas a partir de alimentos en el Laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica entre los años 2002 y 2004.

Para la comparación con cepas de origen clínico se utilizaron registros de sensibilidad a antibióticos de 100 cepas de *Salmonella* y 20 cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Nacional de Niños entre los años 2002 y 2004.

### Prueba de sensibilidad a antibióticos

La susceptibilidad a los antibióticos de las cepas aisladas de muestras de alimentos se determinó por difusión en agar usando discos impregnados con antibióticos de la casa comercial Oxoid, según la técnica Kirby Bauer (17). El diámetro de los halos de inhibición fue medido e interpretado según las recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) (18). Como control de calidad, se emplearon las cepas *E.coli* ATCC 25922, para Gram negativos y *S. aureus* ATCC 25923 para Gram positivos.

Para *Listeria monocytogenes*, se probaron los antibióticos ampicilina (AMP 10  $\mu$ g), penicilina (P 10  $\mu$ g), tetraciclina (TE 30  $\mu$ g), trimetoprim-sulfametoxazol (STX 25  $\mu$ g), cloranfenicol (C 30  $\mu$ g.), gentamicina (CN 10  $\mu$ g), ciprofloxacina (CIP 5  $\mu$ g), clindamicina (CLI 5 $\mu$ g) y rifampicina (RIF 5  $\mu$ g). Para *Salmonella* spp, se incluyó tetraciclina (TE 30  $\mu$ g), trimetoprim-sulfametoxazol (STX 25  $\mu$ g), gentamicina (CN 10  $\mu$ g), ciprofloxacina (CIP 5  $\mu$ g), neomicina (N 30  $\mu$ g), ácido

nalidíxico (NA 30  $\mu$ g), amoxicilina (AM10  $\mu$ g), amoxicilina/ácido clavulánico (AMC 10 $\mu$ g), cefalexina (CI 30  $\mu$ g) y cloranfenicol (C 30  $\mu$ g.)

### Prueba de sensibilidad a antibióticos de cepas aisladas de muestras clínicas

La prueba de sensibilidad a antibióticos de las cepas de *Listeria monocytogenes* se realizó con el método microdilución, usando el sistema Vitek con la tarjeta de sensibilidad GPS 107. Se determinó la sensibilidad de los aislamientos a 4 antibióticos de uso clínico: ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, gentamicina y ciprofloxacina.

La prueba de sensibilidad de los aislamientos clínicos de *Salmonella* sp se realizó también usando el sistema Vitek con la tarjeta de sensibilidad GNS 204. Se probaron los antibióticos tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacina, ácido nalidíxico, amoxicilina/ácido clavulánico y cefalexina.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de la prueba de sensibilidad para los 20 cultivos de origen alimentario de *Listeria monocytogenes* se muestran en la Tabla 1. De los 20 cultivos, el 95% presentó sensibilidad a ampicilina, penicilina, trimetoprim sulfametoxazol, rifampicina, amoxicilina y cloranfenicol. El 100% de los cultivos fue sensible a gentamicina, ciprofloxacina y amoxicilina-ácido clavulánico, el 90% fue sensible a tetraciclina. Los resultados para estos 10 antibióticos muestran una buena sensibilidad a antibióticos de primera elección, betalactámicos como ampicilina y penicilina y aminoglucósidos como gentamicina y otros de segunda elección como trimetoprim-sulfametoxazol y ciprofloxacina. Sin embargo, los cultivos mostraron una resistencia de 95% a cefalexina. El alto porcentaje de cultivos resistentes a cefalosporinas es un evento bastante descrito en la literatura (19). El 100% de los cultivos mostró resistencia a clindamicina. Este hallazgo concuerda con la resistencia descrita de *Listeria monocytogenes* a este antibiótico, como lo demuestra los estudios de Saldar en el 2002, donde describió 96.2% de resistencia a clindamicina en 84 aislamientos de pacientes con listeriosis sistémicas en un centro para pacientes con cáncer (10).

Es importante destacar que una de las cepas de *L. monocytogenes* aislada a partir de alimentos (UCR *Listeria monocytogenes* 20) presentó resistencia a 8 de los 12 antibióticos probados, exceptuando gentamicina, ciprofloxacina, cefalexina y amoxicilina-ácido clavulánico.

La presencia de cepas multirresistentes a antibióticos en *Listeria monocytogenes* es un fenómeno relativamente reciente. Los estudios de Charpentier, 1999, demuestran la adquisición de resistencia a cloranfenicol, tetraciclinas,

macrólidos y trimetoprim-sulfametoxazol por transmisión de "clusters" de genes de *Enterococcus* y *Streptococcus* hacia *Listeria monocytogenes*. (12,20).

TABLA 1  
Perfil de sensibilidad a 12 antibióticos de 20 cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas a partir de alimentos, UCR, 2005

Antibiótico	Porcentaje de sensibilidad	
Ampicilina	(19 /20)	95%
Penicilina	(19 /20)	95%
Tetraciclina	(18/20)	90%
Trimetoprim sulfametoxazol	(19 /20)	95%
Gentamicina	(20/20)	100%
Ciprofloxacina	(20/20)	100%
Clindamicina	(0/20)	0%
Rifampicina	(19 /20)	95%
Amoxicilina	(19 /20)	95%
Amoxicilina ácido clavulánico	(20/20)	100%
Cefalexina	(1/20)	5%
Cloranfenicol	(19 /20)	95%

El perfil de sensibilidad a antibióticos de los cultivos de *Listeria monocytogenes* realizados a partir de muestras de origen clínico se muestra en la Tabla 2. Es importante resaltar la resistencia a los antibióticos de primera elección ampicilina y gentamicina. De los 20 cultivos, el porcentaje de resistencia a ampicilina fue de 35% y el de gentamicina fue de 15%. Los cultivos mostraron una buena sensibilidad a antibióticos de segunda elección como trimetoprim-sulfametoxazol, 95% de sensibilidad, y ciprofloxacina 100% de sensibilidad.

TABLA 2  
Perfil de sensibilidad a cuatro antibióticos de uso clínico de 20 cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas de enfermedad invasiva. Laboratorio de Bacteriología, HNN, 2002-2004

Antibiótico	Porcentaje de sensibilidad	
Ampicilina	(13/20)	65%
Trimetoprim sulfametoxazol	(19/20)	95%
Gentamicina	(17/20)	85%
Ciprofloxacina	(20/20)	100%

Fuente: Laboratorio Clínico, Sección de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños.

Al comparar los cultivos de origen alimentario con los clínicos, el perfil de sensibilidad a ampicilina y gentamicina fue diferente en los primeros. El 95% de las cepas de origen alimentario fue sensible a ampicilina, mientras que sólo el 65% de las cepas de origen clínico fue sensible a este

antibiótico. El 100% de las cepas aisladas de muestras de alimentos fue sensible a gentamicina, comparado con el 85% de los aislamientos clínicos.

El perfil de sensibilidad a antibióticos para *Salmonella* spp aisladas a partir de muestras de origen alimentario se presenta en la Tabla 3.

TABLA 3  
Perfil de sensibilidad a antibióticos de 40 cepas de *Salmonella* sp aisladas a partir de alimentos, UCR, 2004

Antibiótico	Porcentaje de sensibilidad	
Tetraciclina	(39/40)	97,5%
Trimetoprim sulfametoxazol	(39/40)	97,5%
Gentamicina	(40/40)	100%
Ciprofloxacina	(40/40)	100%
Ácido nalidíxico	(39/40)	97,5%
Amoxicilina	(34/40)	85%
Amoxicilina ácido clavulánico	(35/40)	87,5%
Cefalexina	(33/40)	82,5%
Cloranfenicol	(39/40)	97,5%
Neomicina	(40/4)	100%

Los aislamientos mostraron un perfil de resistencia a antibióticos betalactámicos. Los porcentajes de resistencia variaron entre 12.5% para amoxicilina-ácido clavulánico, 15% para amoxicilina y un 17.5% para cefalexina.

Cabe resaltar que una única cepa de *Salmonella* spp, (UCR *Salmonella* 01) aislada de una muestra de alimentos, presentó resistencia a tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol, ácido nalidíxico, amoxicilina, amoxicilina- ácido clavulánico, cloranfenicol y ampicilina. Este hallazgo representa el primer caso documentado de multirresistencia en *Salmonella* en Costa Rica. La multirresistencia en *Salmonella* es un fenómeno reciente que cada vez logra mayor importancia en salud pública. Así lo demuestran los aislamientos de *Salmonella* serotipo *typhimurium* portadora del fago DT104, el cual transmite resistencia a 5 antibióticos (2,17) La cepa UCR *Salmonella* 01 presentó resistencia a 7 antibióticos, 4 de los cuales son inactivos frente a *Salmonella typhimurium* DT104. Es importante resaltar el riesgo que representa la presencia de una cepa multirresistente a nivel alimentario y la posibilidad de transmisión de genes de resistencia mediada por integrones (8).

En la Tabla 4 se presenta el perfil de sensibilidad de los aislamientos clínicos. Se puede observar que el comportamiento de las cepas bacterianas de ambos orígenes fue similar, excepto en dos antibióticos: tetraciclina (97.5% muestras de alimentos, 83% de muestras clínicas) y cefalexina (82.5% muestras de alimentos, 90% de muestras clínicas). La mayor resistencia descrita para cefalexina a partir de las muestras de origen alimentario comparadas con las de origen

clínico, resulta una llamada de atención para el sector productor del país y sugiere la necesidad de evaluar la alimentación dada a animales de engorde o al uso indiscriminado de antibióticos en los sectores agrícolas y ganaderos nacionales.

**TABLA 4**  
Perfil de sensibilidad a antibióticos de 100 aislamientos de origen clínico de *Salmonella* sp. HNN, 2002-2004

Antibiótico	Porcentaje de sensibilidad	
Tetraciclina	(83/100)	83%
Trimetoprim sulfametoxazol	(96/100)	96%
Gentamicina	(99/100)	99%
Ciprofloxacina	(99/100)	99%
Ácido nalidíxico	(98/100)	98%
Amoxicilina ácido clavulánico	(87/100)	87%
Cefalexina	(90/100)	90%

Fuente Laboratorio Clínico, Sección de Bacteriología Hospital Nacional de Niños

La selección y diseminación en la naturaleza de cepas resistentes a los antibióticos es una práctica que se debe controlar, con el fin de mantener un balance ecológico que favorezca el predominio de bacterias susceptibles y asegurar el tratamiento efectivo de las enfermedades infecciosas humanas.

## REFERENCIAS

- Reuben A, Treminio H, Arias ML y C. Chaves. Presencia de *Escherichia coli* O157H7 *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en alimentos de origen animal en Costa Rica. Arch Latinoamer Nutr. 2003; 53: 389-392.
- Aidara-Kane A. Dual emergence in food and humans of a novel multiresistant serotype of *Salmonella* in Senegal: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serotype 35:c:1,2. J Clin Microb. 2001; 39: 2373-2374.
- Andersson D, Levin B. The biological cost of antibiotic resistance. Current Opinion in Microbiology. 1999; 2: 489-493.
- Aarestrup FN, Wegener HC. The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. Microbes Infect. 1999; 1: 639-644.
- Al Jebouri M. A note on antibiotic resistance in the bacterial flora of raw sewage and sewage polluted river Tigris in Mosul, Iraq. J Appl Bacteriol. 1985; 58: 401-405.
- van den Bogaard AE & Stobberigh E. Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. Drugs. 1999; 58: 589-607
- Galland J, Hyatt D, Crupper S & Acheson D. Prevalence, antibiotic susceptibility and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 isolates from a longitudinal study of beef cattle feedlots. Appl Environ Microbiol. 2001; 67: 1619-1627.
- Gallardo F, Ruiz J, Marco F, Towner KJ, Vila J. Increase in incidence of resistance to ampicillin, chloramphenicol and trimethoprim in clinical isolates of *Salmonella* serotype *typhimurium* with investigation of molecular epidemiology and mechanisms of resistance. J Med Microbiol 1999; 48: 367-74.
- Sayah R, Kaneene J, Johnson Y & Miller R. Patterns of antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* isolates obtained from domestic and wild animal fecal samples, human sewage and surface water. Appl Environ Microbiol. 2005; 71: 1394-1404.
- Saldar A & Armstrong D. Antimicrobial activities against 84 *Listeria monocytogenes* isolates from patients with systemic listeriosis at a comprehensive cancer center (1955-1997). J Clinical Microbiol. 2003; 49: 483-485.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration; Food Safety and Inspection Service, US Department of Agriculture and Center for Disease Control and Prevention. Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready to eat foods. Online http: www. foodsafety.gov/dms/lmr2.toc.html 2003.
- Gray M, Zadoks R, Fortes E, Dogal B, Cai S, Chen Y, Scott V, Gombas David, Boor K & Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* isolates from foods and humans form distinct but overlapping populations. Appl Environ Microbiol. 2004; 70: 5833-5841.
- Martel JL, Chaslus-Dancla E, Coudert M, Lafont JP. Evolution de la sensibilité aux antibiotiques des *Salmonelles* d'origine bovine en France. Med Mal Infect 1996; 26: 415-9
- Breuil J, Berger N, Dublanche A et le collège BVH. Sensibilité aux antibiotiques de 2800 souches de *Salmonelles* et *Shigelles* isolées en France en 1994. Med Mal Infect 1996; 26: 420-5
- Yang H, Chen S, White D, Zhao S, McDermott P, Walker R & Meng J. Characterization of multiple antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. J Clin Microbiol. 2004; 42: 3483-3489.
- Aarestrup, FM. Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. Inter J Antimicrob Ag 1999; 12:279-85.
- Anonymous. Clinical Microbiology Procedures Handbook. ASM, Washington, 1995, p 460-539.
- National Committee of Clinical Laboratory Standard. 1997. Performance standard for antimicrobial disk susceptibility test, 6<sup>th</sup> ed. Approved Standard Documents M2. National Committee of Clinical Laboratory Standard, Wayne, Pa.
- Rocourt J, BenEmbarek P, Toyofuju H & Schlundt J. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready to eat foods: the FAO/WHO approach. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003;35: 263-267.
- Lorber B. Listeriosis. Clin Infect Dis. 1996; 24: 1-11.

Recibido: 05-12-2005

Aceptado: 06-06-2006

## Efecto de diversos tratamientos en la cocción del frijol *Mucuna* sobre el contenido de L-Dopa

Carmen Luz García Echeverría y Ricardo Bressani

Centro de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad del Valle de Guatemala-Guatemala

**RESUMEN.** El factor más limitante en el consumo del frijol *Mucuna* (frijol terciopelo) para el ser humano es su alto contenido de L-Dihidroxifenilalanina (L-Dopa) con niveles que pueden ser del 9%. Los métodos convencionales utilizados para transformar el frijol crudo en comestible no son suficientemente efectivos en reducir los niveles de L-Dopa en tiempo razonables para su preparación. Varios otros procesos se han utilizado con resultados poco prometedores. En este trabajo, el frijol *Mucuna* fue cocinado por microondas, con vapor y a cocciones en soluciones de pH 3, 6, 7, 9 y 11. Las cocciones alcalinas se lograron con hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de calcio, mientras que las de pH ácido con ácido clorhídrico. El tiempo inicial de cocción fue constante por 6 hrs. Además las muestras secas y molidas de los tratamientos anteriores fueron cocidas en agua por 0, 3 y 6 minutos, y el proceso fue evaluado por el nivel de eliminación de L-Dopa. Ninguno de los métodos evaluados fue capaz de eliminar el L-Dopa del frijol *Mucuna*. El tratamiento de cocción con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  a pH 9 y luego lavado con agua caliente produjo la reducción más alta del 80.4%. No hubo efecto de los iones alcalinos. La reducción del tamaño de la partícula por molienda parece ser efectivo como ha sido demostrado por otros autores.

**Palabras clave:** Frijol *mucuna*, L-Dopa, cocción alcalina (Na, K, Ca), eliminación L-Dopa.

**SUMMARY.** Effect of different cooking treatments of *Mucuna* beans on its L-Dopa content. The main limiting factor in the consumption by humans of the velvet bean (*Mucuna*) is its relatively high content of L-Dihydroxyphenylalanine (L-Dopa), with levels as high as 9%. Conventional cooking methods used to transform raw velvet bean into an edible product are not sufficiently effective in reducing the levels of L-Dopa in adequate processing time. In this report, *Mucuna* beans were cooked by microwave, utilizing vapor and in water solutions at pH 3, 6, 7, 9 and 11. Cooking alkaline solutions were achieved using sodium hydroxide, potassium hydroxide, and calcium hydroxide. The acid pH was achieved through the use of HCl. The initial cooking time was fixed at 6 hrs. The processed bean samples were dried, ground and analyzed for L-Dopa and protein. The ground samples were further washed with boiling water for 0, 3 and 6 minutes, then dried and analyzed. None of the procedures evaluated was capable of eliminating L-Dopa from *Mucuna* beans. The  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  treatment at pH 9 which was washed with hot water produce a reduction of L-Dopa of 80.4%. There was not effect attributed to the alkaline ions. Reducing particle size appears to be most effective as it has been shown by other workers.

**Key words:** *Mucuna* beans, L-Dopa, alkaline cooking (Na, K, Ca), L-Dopa elimination.

### INTRODUCCION

El frijol terciopelo (*Mucuna spp.*) ha sido, desde hace años un buen cultivo de cobertura debido a su resistencia, a la gran cantidad de follaje que produce y a su capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico (1,2). Sin embargo, el grano contiene una alta cantidad de L-Dopa, sustancia tóxica para el ser humano, hasta el punto de ser una fuente comercial de la misma para tratar la enfermedad de Parkinson.

Actualmente, el frijol se utiliza como cultivo de rotación con el maíz en algunas partes del país. Si el frijol terciopelo se pudiera consumir, se podría impulsar su uso como abono verde y como alimento (3,4).

Los métodos tradicionales de preparación sólo permiten consumir cantidades relativamente pequeñas de la semilla debido a los niveles residuales de Dopa, lo cual lo hace impracticable como cultivo para consumo humano. Sin embargo, tiene una proteína (24%- 30%) con una alta proporción de

aminoácidos esenciales, en particular lisina que la hace similar a otras leguminosas de grano (5,6). Es asimismo muy similar a otras leguminosas de grano en su contenido de minerales, grasa y fibra dietética (7,8).

El frijol *Mucuna* posee los mismos factores antinutrientes de las demás leguminosas, como inhibidor de proteasa, inhibidor de amilasa, lectinas, ácido fítico, Polifenoles, taninos, HCN y factores de flatulencia en cantidades similares. El problema es que también contiene L-Dopa (6.97% a 9.16%), sustancia que comparte con la *Vicia faba* (1.5%) (9).

Es este el factor más limitante en el uso en nutrición del frijol *Mucuna*. Un estudio clínico confirma la eficacia de las semillas en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson debido a su contenido de L-Dopa. La *Mucuna pruriens*, es reconocida como un afrodisíaco en la tradición hindú, y se ha comprobado que aumenta los niveles de testosterona, llevando a la deposición de proteínas en los músculos, incrementando su masa y fuerza. El extracto es conocido también por

aumentar el estado de alerta del cerebro y mejora la coordinación que posiblemente explica su uso como sucedáneo del café (9).

Se han llevado a cabo varios estudios con el fin de eliminar Dopa lo más posible del grano.

En un estudio realizado en la India sobre el efecto de los tratamientos tradicionales de la semilla antes de su consumo, se observó que ningún tratamiento eliminaba del todo la presencia de la sustancia; sin embargo, la mayoría lograba reducir su cantidad hasta en un 60% (10).

En este estudio se utilizaron las semillas de la especie *Mucuna pruriens* variedad utilis, de color blanco y negro. Uno de los métodos más útiles en la eliminación de L-Dopa fue el de remojar las semillas en una solución de ácido cítrico (0.1%, pH 2.60) por 20 h y ya secas se las calentó en autoclave por 30 min (121°C, 15 lb. de presión) (10).

Otros estudios han demostrado que un tratamiento con calor seco como tostar o asar la semilla puede disminuir el L-Dopa hasta en un 49%. Los métodos húmedos mejoran si la semilla se parte en pedazos, entre más pequeños, mayor extracción. Esto es por una mayor área superficial del frijol, con eliminación del 95% del L-Dopa, mediante un tratamiento que dura alrededor de tres días (11).

Un tratamiento muy eficaz para eliminar el L-Dopa de la semilla de *Mucuna* consiste en remojar por 24 horas las semillas trituradas en una solución de hidróxido de calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). Se logra una concentración final de menos de 0.1%. Pero el producto resultante es de un color quemado, no apto para el consumo humano, si bien puede utilizarse para alimentar pollos (3).

Otros métodos utilizados para eliminar L-Dopa no han tenido resultados aceptables. Entre estos se encuentran: cocer la semilla entera después de dejarla en remojo y germinar la semilla. En las semillas remojadas a 66°C se encontró que la velocidad a la que el L-Dopa sale de la semilla disminuye a medida que el tiempo de remojo aumenta, posiblemente por la interferencia de la gelatinización del almidón (12).

El cocinar la semilla en agua después de remojarla por 12 horas disminuye su tiempo de cocción, sobre todo si se la remoja en una solución de bicarbonato de sodio, pero no disminuye significativamente el contenido de L-Dopa. Germinar la semilla antes de consumirla no mejora la calidad de la proteína y no disminuye significativamente el contenido de L-Dopa (12).

Como las variedades del género *Mucuna* tienen una alta concentración de L-Dopa, y además, son la única variedad de plantas que contiene suficiente como para pensar en su extracción con fines comerciales, encontrar un método de extracción eficiente es importante. Un estudio (13) indica que la extracción con agua caliente a partir de la semilla cruda molida del frijol terciopelo es un método efectivo. Además, en este estudio se terminó de extraer con una solución ácida

(HCl 0.1N) de la muestra después de los lavados previos, y el L-Dopa se separó con una resina de intercambio iónico. Este método, sin embargo, es un procedimiento de laboratorio, no siempre se pueden dar tres lavados de agua hirviendo, y seguro esto afecta las demás propiedades de la semilla. Cabe recordar que el objetivo de este estudio (13) en particular era aislar y purificar el L-Dopa, no emplear la semilla como alimento humano.

En el presente trabajo se investigaron diversos tratamientos con el fin de eliminar L-Dopa del frijol terciopelo.

## MATERIALES Y METODOS

La muestra inicial consistió en semillas de frijol *Mucuna pruriens* de color negro, suministradas por el Instituto de Ciencia y Tecnología Agropecuaria, Guatemala (ICTA).

Los métodos para tratar las muestras tiene se expone en forma general en la Figura 1. La diferencia básica es el proceso de cocción que se aplica como primer tratamiento a las muestras.

Los valores de pH fueron elegidos al azar, 2 pH ácidos y 2 pH básicos, tratando de mejorar la solubilidad del L-Dopa para facilitar su extracción. En el pH básico, se examinó la influencia de los iones de Na, K y Ca. También se estudió el efecto de tratamientos físicos como el calentamiento con vapor y por microondas. Se aplicaron 12 diferentes tratamientos incluyendo el control (Tabla 1).

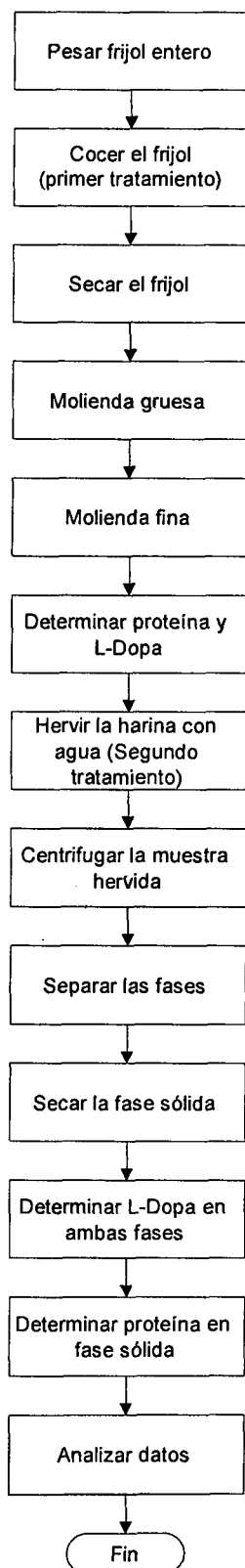
TABLA 1  
Proceso de cocción (Primer Tratamiento)

# Método	Proceso de cocción
1	Control, no hay método de cocción
2	Cocción al vapor (30 min. a 121°C)
3	Cocción por microondas (1 min.)
4	Cocción en agua, 6 h, pH 7.0
5	Cocción en agua, 6 h, pH 9.0 con $\text{Ca}(\text{OH})_2$
6	Cocción en agua, 6 h, pH 11.0 con $\text{Ca}(\text{OH})_2$
7	Cocción en agua, 6 h, pH 9.0 con KOH
8	Cocción en agua, 6 h, pH 11.0 con KOH
9	Cocción en agua, 6 h, pH 9.0 con NaOH
10	Cocción en agua, 6 h, pH 11.0 con NaOH
11	Cocción en agua, 6 h, pH 3.0
12	Cocción en agua, 6 h, pH 6.0

Se realizó un análisis con respecto al contenido de L-Dopa en el frijol terciopelo crudo (control) por el método de Daxenbichler (13). También se analizó el contenido de proteína del frijol (14).

Una vez realizados los primeros tratamientos, las muestras se secaron, pesaron y pulverizaron, con lo que se obtuvo la harina de cada muestra (el control sólo fue molido).

FIGURA 1  
Procesamiento utilizado en la cocción del frijol *Mucuna*



El segundo tratamiento consistió en hervir las muestras de harina durante (0, 3 y 6 minutos). Después se determinó el contenido de L-Dopa presente tanto el extracto como en la harina ya seca.

Para evaluar la pérdida de sólidos durante este procesamiento, se registró el peso de la muestra antes del tratamiento y después de secada. Además, se determinó el porcentaje de sólidos de los líquidos de cocción. También se determinó el contenido de proteína de las muestras tratadas.

### 1. Primer tratamiento

**a. Cocción en agua (Muestra # 4 al 12):** 100 semillas pesadas previamente se colocaron en un vaso de precipitación, con 300 ml de una muestra preparada como se indica en la Tabla 1. Las semillas se colocaron a hervir hasta que quedaron suaves (aproximadamente 6 horas). Cuando el líquido se consumía, se agregaba nuevo líquido a fin de conservar el volumen y las condiciones de cocción iguales (agua-desionizada en todos los casos, menos en el de pH ácido, donde se agregó más solución ácida). El agua se descartó (una porción de 5 ml se secó en cada caso para determinar la cantidad de sólidos perdidos). Los frijoles se secaron en un horno de convección, antes de molerlos.

**b. Cocción al vapor (Muestra # 2):** 300 semillas pesadas previamente se colocan en una olla sin agua dentro de un autoclave por 30 minutos (tarda aproximadamente 15 min. en llegar a la temperatura de 121°C) y se deja enfriar. Luego se secaron en un horno de convección antes de molerlos.

**c. Cocción en microondas (Muestra # 3):** 100 semillas pesadas previamente se colocaron sin agua en un vaso de precipitación. Se les calentó en un horno de microondas durante un minuto, tiempo establecido con anterioridad que no inducía expansión de la semilla. Las semillas se secaron luego en un horno de convección, antes de molerlas.

### 2. Obtención de harina

**a. Molienda:** los granos, ya secos, se molieron de primero en un molino de café, hasta lograr pedazos pequeños. Luego se molieron en un molino centrífugo para lograr una harina fina de aproximadamente 80 mesh.

### 3. Segundo tratamiento

**a. Extracción con agua:** tres porciones, de 4 g cada una, de harina de cada muestra que recibió el primer tratamiento, se colocaron en un vaso de precipitación con cierta cantidad de agua des-ionizada dependiendo de tiempo de ebullición (40, 60, 80 ml), debido a la evaporación. Una porción no se hirvió. Otra se hirvió durante tres minutos y la otra durante seis minutos. Después se centrifugó y se separaron las fracciones. La fracción sólida se secó.

### Diseño experimental

Para comprobar la hipótesis de investigación se empleó un diseño experimental con posprueba únicamente, selección aleatoria de las muestras, y grupo de control (15).

Se estudió el efecto de los diferentes tratamientos (variables independientes, véase las Figuras 1 y 2) sobre las siguientes variables dependientes:

- El contenido de L-Dopa en las diferentes harinas.
- El contenido de proteína en las diferentes harinas.

Los datos se procesaron utilizando el paquete estadístico de Microsoft Excel y el programa Analyset-it (<http://www.analyse-it.com/>).

El propósito de los experimentos fue encontrar un tratamiento que reduzca a cero el contenido de L-Dopa del frijol terciopelo negro, con el mínimo daño a sus propiedades nutritivas. Para esto, a un grupo se aplicaron diversos tratamientos (Tabla 1), seguidos de molienda y extracción con agua hirviendo (Figura 1) cada prueba se realizó con múltiples replicados, incluyendo los tiempos de ebullición durante la segunda fase del procesamiento. Se buscaron diferencias en el contenido de L-Dopa y proteína causadas por los tratamientos, con respecto al control.

Se seleccionó un nivel de significación  $\alpha=0.05$  (probabilidad de cometer un error tipo I, falso positivo) para las pruebas estadísticas.

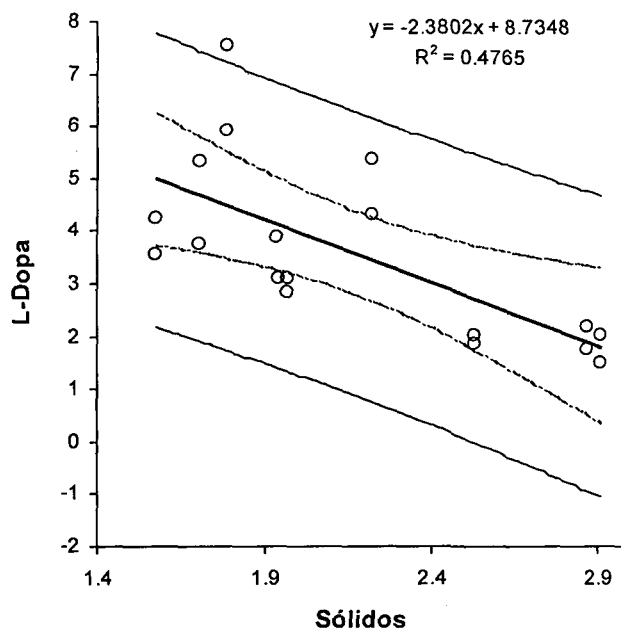
Para observar si existen diferencias significativas entre los tratamientos se empleó análisis de varianza de una vía y comparaciones pareadas de medias por el método de la mínima diferencia significativa y el método de Tukey (Montgomery (16) como el análisis de varianza requiere una distribución normal de los datos, se realizó la prueba Shapiro-Wilk W para normalidad (Programa Analyset-it).

Para determinar si existe asociación entre el tiempo de ebullición (2° Tratamiento) y el contenido de L-Dopa en la fase sólida, así como entre el contenido de L-Dopa en la fase sólida y el contenido de sólidos en la fase líquida, se empleó una prueba de correlación de Pearson para variables continuas normalmente distribuidas. Además, se efectuó un análisis de regresión lineal para ajustar los datos a ecuaciones y calcular coeficientes de correlación (Programa Analyset-it).

Para determinar si los coeficientes de correlación de Pearson eran significativos al nivel de  $\alpha=0.05$ , se emplearon valores críticos publicados en Internet (<http://www.gifted.vconn.edu/siegle/research/correlation/corrchrt.htm>). Para los coeficientes de correlación para regresión lineal se utilizó una tabla de valores críticos publicada por Volk (17).

FIGURA 2.

Regresión lineal para la muestra Control 2, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida).



### DISCUSION Y RESULTADOS

1. Primer tratamiento: después de realizados los primeros tratamientos listados en la Tabla 1, se procedió a obtener el contenido de L-Dopa y proteína de las muestras, como indica la Figura 1. Esto se realizó por triplicado, y los resultados promedio presentados en la Tabla 2.

TABLA 2  
Contenido de L-Dopa y proteína  
Primer Tratamiento

Muestra	L-Dopa	Porcentaje Cambios %L-Dopa	Proteína
Control	6.09 ± 0.16	0.00	22.81 ± 0.30
Vapor	6.37 ± 0.22	+4.65	23.07 ± 0.56
Microondas	6.36 ± 0.61	+4.43	23.28 ± 0.90
pH 7	3.96 ± 0.10	-34.94	21.85 ± 0.68
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 9	3.87 ± 0.08	-36.45	22.39 ± 1.27
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 11	3.89 ± 0.02	-36.17	22.80 ± 0.38
KOH pH 9	4.44 ± 0.13	-26.99	22.18 ± 0.83
KOH pH 11	4.39 ± 0.14	-27.86	23.37 ± 0.32
NaOH pH 9	3.77 ± 0.10	-38.14	22.00 ± 2.07
NaOH pH 11	3.83 ± 0.23	-37.16	21.60 ± 0.75
HCl pH 3	4.15 ± 0.18	-31.82	20.85 ± 1.99
HCl pH 6	4.05 ± 0.14	-33.54	20.56 ± 1.17

**a. L-Dopa:** el análisis de varianza de los datos demostró que existían diferencias significativas entre las muestras tratadas, en cuanto a su contenido de L-Dopa. Entonces se realizó un análisis comparativo (mínima diferencia significativa).

Según este análisis, las muestras NaOH pH 9, NaOH pH 11, Ca(OH)<sub>2</sub> pH 9, Ca(OH)<sub>2</sub> pH 11, pH 7 y HCl pH 6 no tenían diferencias significativas entre sí. Además, fueron los tratamientos que más redujeron el contenido de L-Dopa en la muestra (de un 6% a un 3.8%, reducción del 38% masa sobre masa). De esto se observa que el método de cocer la muestra sólo en agua (pH 7) era tan eficaz como cocerla con hidróxido de sodio (NaOH) e hidróxido de calcio (Ca(OH)<sub>2</sub>) a cualquier pH y con HCl a pH 6.

El tratamiento con hidróxido de potasio (KOH) a cualquier pH y el tratamiento con HCl a pH 3 no tiene diferencias significativas entre sí en cuanto al contenido de L-Dopa, pero sólo lograron reducir su contenido de 6% a 4.3%, 29% masa sobre masa por lo que resultaron menos eficaces que los anteriores.

Es interesante indicar que el ion K no fue tan efectivo en reducir L-Dopa como los iones de sodio y calcio.

Los tratamientos físicos (microondas y vapor) no tuvieron efectos significativos en la reducción del L-Dopa posiblemente debido a la falta de solvente conservando un porcentaje de alrededor del 6%. El tratamiento con microondas por un minuto fue previamente seleccionado en base a que el grano se mantenía entero ya que con un mayor tiempo el grano se expandía y se quema. Debido a que la muestra control (la cual sólo fue molida) no se le eliminó el agua como a las otras muestras, su contenido de L-Dopa parece ligeramente menor que el de las muestras de microondas y vapor.

**b. Proteína:** con respecto al contenido de proteína, todos los métodos la conservaron prácticamente en su porcentaje original. No se observan diferencias significativas entre el contenido de proteína del frijol crudo (control) y la mayor parte de las muestras, excepto por tres: NaOH pH 11, HCl pH 3 y HCl pH 6.

Los tratamientos a pH ácido favorecieron la pérdida de proteína, así como el tratamiento con hidróxido de sodio a pH 11. Sin embargo, la diferencia entre los tratamientos no es muy grande (control 22%, HCl pH 3 21% masa sobre masa) pero sí es significativa.

**2. Segundo tratamiento:** los resultados promedio para el segundo tratamiento pueden verse en las Tablas 3 (L-Dopa) y 4 (proteína). En la Tabla 5 se encuentran los porcentajes de disminución de L-Dopa en relación a la muestra control.

TABLA 3  
Contenido de L-Dopa g % de la fase sólida (residuo)  
después del segundo tratamiento

Muestra	Tiempo de ebullición (minutos)		
	0	3	6
Control 2	1.89 ± 0.19	5.06 ± 1.22	3.76 ± 0.76
Vapor	2.31 ± 0.32	4.33 ± 0.53	1.82 ± 0.26
Microondas	2.08 ± 0.18	5.34 ± 0.73	2.16 ± 0.11
pH 7	1.48 ± 0.39	2.12 ± 0.34	1.47 ± 0.19
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 9	1.59 ± 0.42	2.97 ± 0.61	1.19 ± 0.38
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 11	2.06 ± 0.64	3.26 ± 1.03	1.77 ± 0.44
KOH pH 9	2.56 ± 0.77	2.84 ± 0.75	1.56 ± 0.65
KOH pH 11	2.30 ± 0.87	3.83 ± 0.66	1.27 ± 0.19
NaOH pH 9	2.90 ± 0.62	2.89 ± 1.02	1.63 ± 0.22
NaOH pH 11	2.96 ± 0.31	1.83 ± 0.70	2.08 ± 0.46
HCl pH 3	1.97 ± 0.16	1.99 ± 0.66	1.37 ± 0.28
HCl pH 6	1.87 ± 0.17	1.83 ± 0.41	1.47 ± 0.34

TABLA 4  
Contenido de proteína de la fase sólida después  
del segundo tratamiento (g/100g)

Muestra	Tiempo de ebullición (minutos)		
	0	3	6
Control 2	13.58 ± 2.77	25.12 ± 1.30	24.77 ± 2.02
Vapor	17.60 ± 1.25	22.37 ± 0.86	25.12 ± 2.18
Microondas	22.82 ± 1.20	27.81 ± 1.00	25.64 ± 0.84
pH 7	28.19 ± 1.14	25.52 ± 0.90	27.59 ± 0.51
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 9	27.29 ± 1.17	28.46 ± 1.82	29.74 ± 1.30
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 11	30.44 ± 2.31	30.70 ± 1.43	28.75 ± 2.08
KOH pH 9	30.84 ± 2.61	28.99 ± 2.52	26.48 ± 1.40
KOH pH 11	30.62 ± 1.63	29.88 ± 1.91	28.28 ± 0.81
NaOH pH 9	29.18 ± 0.04	27.92 ± 1.47	28.13 ± 1.05
NaOH pH 11	28.45 ± 1.12	27.69 ± 1.47	28.15 ± 1.46
HCl pH 3	29.54 ± 1.35	27.92 ± 3.06	29.14 ± 0.63
HCl pH 6	28.73 ± 1.08	29.90 ± 1.30	28.35 ± 0.47

Tamaño de la muestra 3.880 – 4.044 g

El análisis de varianza de dos vías (comparar el efecto del primer tratamiento con el tiempo de ebullición) indicó diferencias significativas de ambos tratamientos sobre los contenidos de L-Dopa y proteína. También señaló una interacción significativa entre el primer y segundo tratamientos sobre dichos contenidos. Para llegar a una comprensión más clara de los resultados, se tratará cada método (Tabla 1) por separado. Luego se analizarán los casos según el tiempo de ebullición.

El segundo tratamiento ocasionó pérdida de masa en todas las muestras. Esto es porque al disolver las muestras en agua y luego separar la fase líquida de la sólida, esta última pierde

compuestos solubles. En algunas de las muestras el contenido de proteína resultó mayor que en la muestra Control porque, al separar la fase líquida de la sólida en el segundo tratamiento, algunas sustancias solubles se quedaron en la fase líquida, mientras que la proteína permaneció en el sólido, con lo que su concentración se incrementó.

Además se hicieron pruebas con respecto a hervir las harinas por nueve y doce minutos, pero las pérdidas de masa fueron mayores al 40%, por lo que no se consideraron prácticas desde el punto de vista económico, y no se analizaron.

Se realizaron triplicados de cada prueba del segundo tratamiento. Las determinaciones de L-Dopa y proteína se hicieron en duplicado, obteniéndose un total de seis resultados (tanto de L-Dopa como de proteína) para cada tiempo de ebullición.

TABLA 5  
Porcentaje de disminución final de L-Dopa  
(100% = 6.09% de L-Dopa)

Muestra	Tiempo de ebullición (minutos)		
	0	3	6
Control 2	68.86	16.87	38.22
Vapor	62.00	28.81	69.98
Microondas	65.72	12.27	64.41
pH 7	75.67	65.16	75.83
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 9	73.74	51.19	80.42*
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 11	66.09	46.39	70.91
KOH pH 9	57.88	53.24	74.28
KOH pH 11	62.10	37.03	78.99
NaOH pH 9	52.36	52.40	73.08
NaOH pH 11	51.37	69.90	65.77
HCl pH 3	67.61	67.30	77.42
HCl pH 6	69.28	69.89	75.84

\* Máxima reducción alcanzada en este trabajo.

En casi todos los tratamientos se observó una mayor concentración (significativa) de L-Dopa en las harinas hervidas por tres minutos que en las hervidas por cero y seis minutos. Este comportamiento muestra que la solubilidad del L-Dopa disminuye al hervir la harina por poco tiempo (tres minutos) y aumenta al hervirla por más tiempo (seis minutos). Posiblemente el tiempo reducido de 3 minutos no permite una hidratación completa de la muestra y por consiguiente para la extracción de Dopa como consecuencia. Las porciones sólo lavadas en agua presentan en general una cantidad similar de L-Dopa a la de las muestras hervidas por seis minutos, exceptuando las muestras NaOH pH 9 y pH 11, HCl pH 3 y pH 6, que se explican más adelante. Esto es de interés ya que es un tratamiento en frío, y el frijol *Mucuna* fue molido, lo que facilita la solubilidad de Dopa.

A continuación se discute el efecto del segundo tratamiento sobre el contenido de L-Dopa y proteína del frijol terciopelo,

comparándolo con la muestra Control molida del primer tratamiento.

**a. Control 2 (la muestra Control sometida al segundo tratamiento).** De acuerdo con el análisis de varianza de una vía, lavar la muestra control con agua fue significativamente más eficaz para disminuir el contenido de L-Dopa que hervirla por tres o seis minutos, pero provocó una mayor pérdida de proteína (de hecho, la mayor pérdida de proteína de todas las muestras es el Control lavado con agua a temperatura ambiente, siendo esta una pérdida significativa). Esto es porque parte de la proteína permanece soluble cuando la muestra se lava con agua a temperatura ambiente y se pierde al separar la fracción líquida. No hubo diferencias significativas en el contenido de L-Dopa entre las muestras Control 2 hervidas durante tres y seis minutos.

Al comparar la muestra Control con la muestra Control 2, se observa que hervir la muestra durante tres minutos no provocó una disminución significativa en el contenido de L-Dopa, aunque éste sí disminuyó significativamente en los otros dos casos.

**b. Vapor:** la muestra tratada en autoclave (vapor) redujo significativamente su contenido de L-Dopa con respecto a la muestra Control en todos los tiempos de ebullición. En la muestra hervida durante tres minutos, se observó una reducción significativamente menor de L-Dopa con respecto a los tratamientos a cero y seis minutos. También hubo una pérdida significativa de proteína al lavar la muestra con agua, pero no al hervirla.

**c. Microondas:** la muestra tratada por microondas exhibe un comportamiento similar al de la muestra tratada al vapor, en lo que se refiere a la pérdida de L-Dopa, excepto una reducción del contenido de L-Dopa no significativa al hervir la muestra por tres minutos.

En esta muestra se aprecian aumentos significativos en la concentración de proteína, por causa de la pérdida de masa total, aunque no en el tratamiento del tiempo 0.

**d. pH 7:** en los tres tiempos de ebullición la reducción de L-Dopa con respecto al Control fue significativa. Sin embargo, el comportamiento fue similar al de la muestra al vapor, también con una reducción en el L-Dopa menor al hervir la harina por tres minutos, comparándola con los otros dos tratamientos.

El contenido de proteína no cambió significativamente al hervir la muestra por tres minutos, pero sí hubo cambio en los otros dos casos, en los que se observó aumentos.

**e. Ca(OH)<sub>2</sub> pH 9:** exhibe un comportamiento similar al de la muestra pH 7, en lo que se refiere a pérdida de L-Dopa, con una disminución significativa del contenido de esta sustancia

de acuerdo con la muestra control, y también en la muestra hervida por tres minutos la disminución fue menor.

Con respecto a la proteína, en todos los casos se aprecian aumentos de su contenido, por causa de la pérdida de otros compuestos al separar la fase sólida.

Es en esta muestra en la que se obtuvo la mayor disminución en la concentración de L-Dopa (ver Tabla 5).

**f. Ca(OH)<sub>2</sub> pH 11:** con respecto al control, todos los cambios de L-Dopa y proteína fueron significativos. Se obtuvo una mayor eliminación de L-Dopa al hervir esta muestra por seis minutos, mientras que la menor pérdida fue la de tres minutos. También se observa un aumento aparente en la concentración de proteína, por causa de la pérdida de otros componentes en el agua de cocción.

Entre las dos muestras tratadas con hidróxido de calcio (Ca(OH)<sub>2</sub> pH 9 y Ca(OH)<sub>2</sub> pH 11) no se aprecian diferencias significativas con respecto al contenido de L-Dopa en ninguno de los tiempos de ebullición del segundo tratamiento. Tampoco se aprecian diferencias significativas con respecto al contenido de proteína.

**g. KOH pH 9:** el comportamiento de esta muestra es similar al de las anteriores, la disminución de L-Dopa fue significativa en todos los casos. Se observa una mayor concentración de L-Dopa en la muestra hervida por tres minutos, la cual tiene una diferencia significativa con respecto a la muestra hervida por seis minutos.

Con respecto a la proteína, todas las muestras presentaron un aumento en la concentración de la misma, el cual fue significativo con respecto a la muestra Control.

**h. KOH pH 11:** en esta muestra, todas las pérdidas de L-Dopa fueron significativas con respecto al control. Sin embargo, la muestra hervida por tres minutos presentó una concentración significativa mayor de L-Dopa que las otras dos.

En esta muestra también se observó una concentración final de proteína significativamente mayor a la de la muestra control. Los dos tratamientos de hidróxido de potasio (KOH pH 9 y KOH pH 11) no presentan diferencias significativas entre sí después del segundo tratamiento, tanto en L-Dopa como en contenido de proteína.

**i. NaOH pH 9:** esta muestra también presentó una reducción significativa en su contenido de L-Dopa, pero a diferencia de las muestras anteriores, en las que se observó una mayor retención de L-Dopa al hervirlas por tres minutos, en este caso, la muestra de cero minutos y la de tres minutos de ebullición no tiene diferencias significativas entre sí. Es la muestra hervida por seis minutos la única significativamente diferente, con una concentración final menor de L-Dopa.

**j. NaOH pH 11:** en esta muestra también hubo una reducción significativa de L-Dopa en todos los casos con respecto a la muestra Control. Sin embargo, a diferencia de todas las muestras anteriores, el lavar la muestra con agua a temperatura ambiente redujo la cantidad de L-Dopa en menor medida que al hervirla. No hay diferencias significativas entre las muestras hervidas por tres y seis minutos, pero la muestra no hervida si presenta diferencias significativas con respecto a las hervidas. También se aprecia un aumento en el contenido de proteína en todos los casos.

Entre las dos muestras tratadas con hidróxido de sodio (NaOH pH 9 y NaOH pH 11) no hay diferencias significativas con respecto a su contenido de L-Dopa de proteína.

**k. HCl pH 3:** este método produjo reducciones significativas en el contenido de L-Dopa con respecto a la muestra Control. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los diferentes tiempos de ebullición del segundo tratamiento con respecto al L-Dopa y la proteína.

También se observó un aumento significativo en la concentración final de proteína con respecto a la muestra Control.

**l. HCl pH 6:** en esta muestra se aprecia también una disminución significativa de L-Dopa con respecto a la muestra Control. Su comportamiento es muy similar al comportamiento de la muestra HCl pH 3, tanto en cuanto al contenido de L-Dopa como al contenido de proteína.

En esta muestra también se aprecia un aumento significativo de proteína con respecto a la muestra Control.

**m. Correlaciones:** no se encontró correlación significativa entre el tiempo de ebullición y el contenido de L-Dopa y de proteína en la fase sólida. Las Tablas 6 y 7 contienen los coeficientes de correlación de Pearson para estas pruebas.

TABLA 6  
Coeficientes de correlación de Pearson con respecto al tiempo de ebullición en el segundo tratamiento

Muestra	L-Dopa	Proteína
Control 2	0.47	0.78
Vapor	-0.17	0.86
Microondas	0.02	0.32
pH 7	-0.01	-0.16
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 9	-0.18	0.52
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 11	-0.11	-0.29
KOH pH 9	-0.41	-0.57
KOH pH 11	-0.33	-0.48
NaOH pH 9	-0.52	-0.18
NaOH pH 11	-0.47	-0.08
HCl pH 3	-0.43	-0.07
HCl pH 6	-0.40	-0.12

**TABLA 7**  
Coeficientes de correlación de Pearson con respecto al contenido de sólidos del líquido de cocción

Muestra	L-Dopa/ % sólidos
Control 2	-0.69*
Vapor	-0.79*
Microondas	-0.46
pH 7	-0.20
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 9	0.61*
Ca(OH) <sub>2</sub> pH 11	0.42
KOH pH 9	0.12
KOH pH 11	0.52*
NaOH pH 9	-0.02
NaOH pH 11	-0.31
HCl pH 3	0.41
HCl pH 6	0.17

\* Correlaciones significativas. (Siege, (18))

A excepción de cuatro casos, no se encontró una correlación significativa entre el contenido de sólidos del líquido de cocción y el contenido de L-Dopa de sus respectivas fases sólidas.

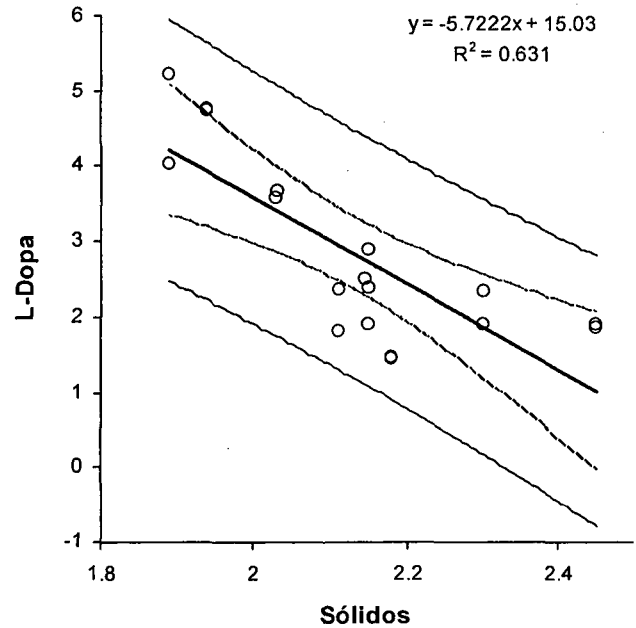
En la muestra Control 2 se encontró una correlación significativa entre el porcentaje de sólidos del líquido de cocción y el contenido de L-Dopa de la fase sólida (Tabla 7). El análisis de regresión también dio un coeficiente de correlación significativo (Figura 2). En este caso, la correlación es negativa. Esto significa que entre más sólidos se encuentran en la fase líquida, hay menos L-Dopa en la fase sólida. Este es un resultado lógico, ya que esto indica que entre los sólidos que se perdieron en el líquido de cocción se encuentra el L-Dopa.

En la muestra vapor se encontró una correlación significativa entre el porcentaje de sólidos del líquido de cocción y el contenido de L-Dopa de la fase sólida (Tabla 7). El análisis de regresión también dio un coeficiente de correlación significativo (Figura 3). La correlación también es negativa, por lo que la explicación es la misma que para el uso de la muestra Control 2.

Al realizar una correlación de Pearson entre el contenido de L-Dopa de la fase sólida y el porcentaje de sólidos de la fase líquida de la muestra Ca(OH)<sub>2</sub> pH 9, se observó una correlación significativa (Tabla 7). El análisis de regresión también dio un coeficiente de correlación significativo (Figura 4). En este caso, la correlación es positiva. Esto indica que mientras más sólidos se encuentran en la fase líquida, más L-Dopa se encuentra en la fase sólida. En este caso, la mayor cantidad de sólidos disueltos hace más lenta la salida del L-Dopa.

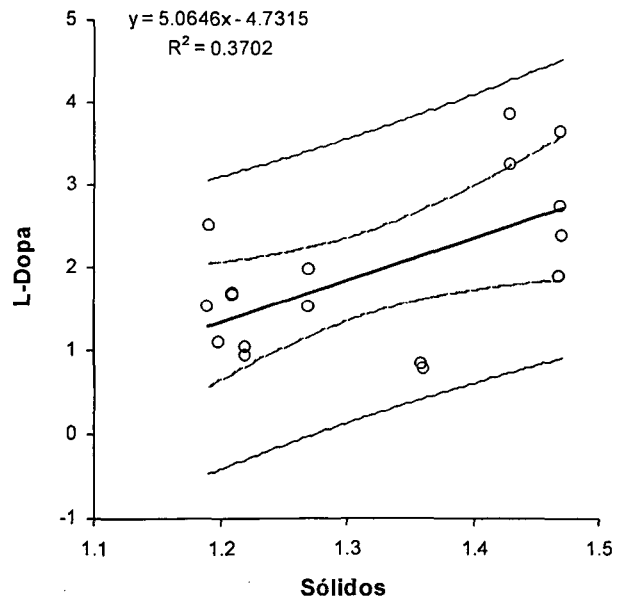
**FIGURA 3**

Regresión lineal para la muestra Vapor, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida).



**FIGURA 4**

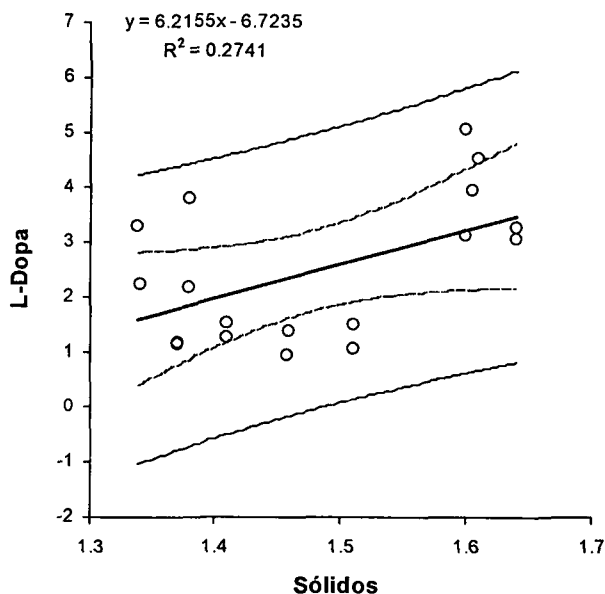
Regresión lineal de la muestra Ca(OH)<sub>2</sub> pH9, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida)



Al realizar una correlación de Pearson entre el contenido de L-Dopa de la fase sólida y el porcentaje de sólidos de la fase líquida de la muestra KOH pH 11, se observó una

correlación significativa (Tabla 7). El análisis de regresión también dio un coeficiente de correlación significativo (Figura 5). En este caso la correlación es también positiva.

FIGURA 5  
Regresión lineal de la muestra KOH pH11, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa



Los coeficientes de correlación para las regresiones de las Gráficas 3 a 6 son significativos a un nivel de 0.05.

De los resultados presentados se puede concluir que ninguno de los tratamientos empleados en la cocción del frijol *Mucuna* es capaz de eliminar el L-Dopa aunque si se observaron reducciones importantes en varios tratamientos. La cocción en húmedo con eliminación del caldo de cocción induce pérdidas en L-Dopa que son de 27.0% a 38.1% de reducción. Los iones de Ca y Na fueron un poco más efectivos que los de K. El lavado con agua en caliente por 6 minutos fue más efectivo que el mismo tratamiento por menos tiempo y en frío. La mayor reducción de L-Dopa fue del 80.4%, con una cocción con hidróxido de calcio a pH 9, seguido de un lavado con ebullición por 6 minutos.

## REFERENCIAS

- Eilittä M, R. Bressani L, Carew R, Carsky M, Flores R, Gilbert L, Huyck L, St-Laurent N, Szabo. *Mucuna* as Food and Feed Crop: an Overview. Ch 1. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras. 2002.
- Eilittä M, L Sollenberg. The many Uses of *Mucuna*: Velvetbean in the Southern United States in the Early 20<sup>th</sup> Century. Ch 4. En Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras. 2002.
- Diallo O, S Kante, R Myhrman, M Soumah, N Cissé, T Berhe. Increasing Farmer Adoption of *Mucuna pruriens* ad Human Food and Animal Feed in the Republic of Guinea. Ch 3. En: Food and Fee from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras. 2002.
- Gilbert R. *Mucuna pruriens* in Malawi: A promising Legume with a Troubled History. Ch 2. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras. 2002.
- Bressani R. Factors Influencing Nutritive Value in Food Grain Legumes: *Mucuna* Compared to Other Grain Legumes. Ch. 8. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras. 2002.
- Siddjuraju P, K Becker, H Makkar. Studies on the Nutritional Composition and Antinutritional Factors of Three Different Germplasm Seed Materials of an Under-Utilized Tropical Legume, *Mucuna pruriens* Var. *utilis*, J Agr Food Chem. 2000;48:6048-6060.
- Siddhuraju P, K Vijayakumari, K Janardhanan. Chemical Composition and Protein Quality of the Little-Known Legume, Velvet bean (*Mucuna pruriens* (L.) DC.), J Agr Food Chem. 1996;44:2636-2641.
- Ukachukwu S, I Ezeagu, G Tarawali, J Ikeorgu. Utilization of *Mucuna* ad Food and Feed in West Africa. Ch 9. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras. 2002.
- Szabo N, I Tebbett. The chemistry and Toxicity of *Mucuna* Species. Ch 6. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras. 2002.
- Siddhuraju P, K Becker. Effect of Various Domestic Processing Methods on Antinutrients and In Vitro Protein and Starch Digestibility of Two Indigenous Varieties of Indian Tribal Pulse, *Mucuna pruriens* Var. *utilis*, J Agr Food Chem. 2001;49:3058-3067.

11. Myhrman R. Detection and Removal of L-Dopa in the Legume *Mucuna*: Ch 7. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras. 2002.
12. Bressani R, M Lau, M Vargas. Protein and Cooking Quality and Residual Content of Dehydroxyphenilalanine and Trypsin Inhibitors of Processes *Mucuna* Beans (*Mucuna spp*), Tropical and Subtropical Agrosystems. 2003;1. 197-212.
13. Daxenbichler M, C VanEtten, F Earle, W Tallent. L-Dopa Recovery from *Mucuna* Seed, J Agr Food Chem, 1972;20:1046, 1047, 1048.
14. AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 1984. 14a. Ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc. US.
15. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación 3ª Edición. Mc Graw-Hill, México. 2003.
16. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. Fourth Edition, John Wiley & Sons. New York. 1997.
17. Volk W. Applied Statistics for Engineers. 2<sup>nd</sup> Edition. Mc Graw-Hill. New York. 1969;P.268.
18. Siege D. Critical Values of the Pearson Product-Moment Correlation Coefficient. Recuperado de Internet el 02/01/2004. 2003. <http://www.gifted.uconn.edu/siegle/research/Correlation/corrchrt.htm>

Recibido: 01-02-2006

Aceptado: 13-06-2006

## Desarrollo de una formulación optimizada de mousse de linaza (*Linum usitatissimum*)

Mario Villarroel, Lucía Pino, Julia Hazbún

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

**RESUMEN.** Se empleó la metodología Taguchi para determinar la calidad sensorial de una formulación optimizada de mousse de linaza listo para preparar utilizando un arreglo ortogonal  $L_9 3^4$ , con nueve corridas experimentales, cuatro variables independientes (proceso térmico, relación carragenina/gelatina, relación coco rallado/saborizante de coco y tiempo de batido) y tres niveles de trabajo cada una. Las condiciones óptimas fueron: tiempo de proceso 95°C/90s; relación carragenina/gelatina 0.54g/1.07g; relación coco rallado/saborizante de coco 10.7g/4.23g; tiempo batido 8 min. La calidad sensorial se determinó en el postre reconstituido en leche fluida descremada aplicando el test sensorial de puntaje compuesto y un panel entrenado conformado por doce jueces. La composición química del producto optimizado fue: humedad 6.0%, extracto etéreo 20.0%, proteínas 20.0%, fibra dietaria total 18% e hidratos de carbono 26.7%, con una densidad energética de 430 Kcal./100g. La composición de ácidos grasos poliinsaturados mostró una relación omega-6/omega-3 de 0.40. La vida útil midiendo desarrollo de microorganismos e índice peróxido estuvo dentro de los límites máximos permitidos por el reglamento sanitario chileno de los alimentos.

**Palabras clave:** Alimento funcional, linaza, omega 3, optimización, taguchi.

**SUMMARY.** Development of an optimized formulation of flaxseed (*Linum usitatissimum*) mousse. Taguchi method was applied to determine the maximum sensory quality of a functional flaxseed mousse desert ready to mix by minimizing the deviation from the target value. An orthogonal array (OA) experimental design that allows to analyze simultaneously the influence of four independent variables (thermic process; carrageen/gelatine ratio; grated cocconut/cocconut flavour ratio; whipping time) with three tolerance level each was applied to evaluate the effects of these control factors. Performance measure analysis were carried out using standard analysis to calculate average effects of factor levels and variance analysis, in order to determine the optimum levels and significant contribution of the control factors. To determine the optimum conditions, Taguchi's "the large the better" formula was used. These turn out to be thermic process, 95°C/90s; carrageen/gelatine, 0.54g/1.07g; grated cocconut/ cocconut flavour, 10.7g/4.23g; whipping time, 8 min. Sensory quality was determined using the composite scoring test and a trained sensory panel of 12 judges. Chemical composition of optimized flaxseed mousse turn out to be protein, 20%; total dietary fibre, 18%; carbohydrates, 26.7%. Omega 6/omega 3 ratio of 0.4 was considered good. Amount of flaxseed in optimized flaxseed mousse was enough to satisfy the 30% of recommended dietary allowance of linolenic acid. Shelf life data showed a good stability for this product as well a good consumer acceptability.

**Key words:** Functional food, flaxseed, omega 3, optimization, taguchi.

### INTRODUCCION

La alimentación ha sido una de las necesidades y preocupaciones fundamentales del hombre. Antes se creía que era esencial sólo para la supervivencia al entregar los nutrientes y energía necesarios para mantener los procesos vitales, sin embargo, hoy impera el concepto de una alimentación saludable y equilibrada (1,2). En Chile a lo largo de los años ha ocurrido una transición en el cuadro epidemiológico, que claramente se ve influenciada por la globalización, cambios de hábitos alimentarios y actividad física que desarrollan los individuos, lo que ha traído consigo un incremento en la aparición incluso a edad temprana de enfermedades crónicas tales como cardiovasculares, diabetes, hipertensión, resistencia a la Insulina más obesidad, las que en conjunto son llamadas

actualmente como Síndrome Metabólico. Por ejemplo, las enfermedades cardiovasculares hoy en día causan un 30% de defunciones a nivel mundial (3). En Chile las condiciones no son muy distintas, aproximadamente el 55% de nuestra población adulta posee riesgo cardiovascular alto o muy alto; hipertensos, 33%; obesos 25% a 30% (4); diabéticos, 10%, con una disminución considerable en la esperanza y calidad de vida. (5)

En vista de esta realidad, la preocupación del consumidor se ha traducido en una mayor demanda por accesos a productos alimenticios más saludables y con ventajas superiores a los ya existentes. Actualmente, se está desarrollando a nivel industrial y en centros de investigación toda una generación de nuevos alimentos igualmente nutritivos y que además son beneficiosos para la salud llamados "alimentos funcionales"

(6-13), los que podrían definirse como: "cualquier alimento en forma natural o procesada que además de sus componentes nutritivos, incluyan principios activos propios o adicionados, que favorezcan la salud, capacidad física y estado mental de una persona

Uno de los problemas que presenta la dieta del chileno es su deficiente relación omega 6/omega3 cercana a 25/1, muy diferente a la relación 10/1 recomendada por FAO (14,15), resultado del elevado consumo de aceites vegetales ricos en omega 6. en desmedro de otras fuentes naturales como las marinas en las que predominan los ácidos grasos n-3 de cadena larga. Ante esta realidad sería conveniente incrementar su presencia en la dieta de recursos naturales entre los cuales destaca la linaza (*Linum usitatissimum*) que es considerada un alimento funcional (16), debido a que entre sus componentes figuran su contenido en fibra dietética total (28%) proteína (20%), aceite (41%) caracterizado por un interesante perfil de ácidos grasos polinsaturados en el cual predomina su elevado contenido en omega-3, cercano al 57%, omega 6, 16%; poli insaturados totales, 73%, saturados, 7%, monoinsaturados, 18% (17-19), superando largamente a otros aceites tales como soya, canola y maíz (20).

Vistos estos antecedentes, el objetivo de este trabajo consistió en optimizar una formulación de mousse de linaza (21), en polvo listo para preparar, con características de alimento funcional el cual contiene semilla de linaza molida en cantidad suficiente para satisfacer el 30% de los requerimientos dietarios de omega 3 (22). Se evaluará además las características químicas, físicas, estabilidad al almacenamiento en condiciones controladas de temperatura, así como su aceptabilidad a nivel de consumidores del mousse de linaza.

## MATERIALES Y METODOS

### Materias primas

Los ingredientes utilizados en la elaboración del mousse de linaza sabor a coco fueron albúmina en polvo; vit. D; carragenina tipo carragel GPS, coco rallado; saborizante de coco, espumante Lamequick CE 5557; gelatina sin sabor; semilla de linaza molida y cernida por tamiz N° 14 ASTM con tamaño de partícula inferior a 1.41mm; maltodextrina, leche descremada, preservante (sorbato de potasio) y sucralosa como edulcorante.

### Optimización de la formulación de mousse de linaza

Se utilizó la metodología Taguchi (23-26) que por su amplio campo de aplicación se adapta muy bien para obtener la mejor formulación del producto trabajando con varios factores de control en forma simultánea utilizando matrices ortogonales. En este estudio para optimizar la calidad sensorial del mousse de linaza con sabor a coco minimizando los efectos de ruido se aplicó el arreglo ortogonal  $L_9 3^4$  donde el superíndice 4 corresponde a las variables independientes: pro-

ceso térmico (PT), relación peso/peso carragenina/gelatina (CG), relación peso/peso coco rallado/saborizante de coco (CcS) y tiempo de batido (TB), con 3 niveles de trabajo por cada factor de control (Tabla 1) y 9 representa las corridas experimentales que describen diferentes combinaciones de los factores de control tanto de proceso como de ingredientes (Tabla 2). Para observar el efecto de las condiciones no controladas en el experimento, cada corrida experimental fue replicada dos veces.

TABLA 1  
Variables independientes y niveles de trabajo

Factores de control	Niveles de trabajo		
	1(inferior)	2(central)	3(superior)
PT (temperatura/tiempo)	85°C/30 s	90°C/60 s	95°C/90 s
CG (g/g)	0.27/1.34	0.54/1.07	0.81 /0.81
CcS (g/g)	10.70/ 4.23	8.93/ 5.81	7.16/ 7.39
TB (minutos)	4	6	8

PT =Proceso térmico; CG =Relación gelatina/carragenina; CcS =Relación coco rallado/; Relación coco rallado/saborizante coco; TB =Tiempo batido

TABLA 2  
Respuestas de Calidad Sensorial y Señal/Ruido

P.diseño	PT	C/G	Cc/S	TB	CS	S/R
1	1	1	1	1	3.37*	10.55**
2	1	2	2	2	3.37	10.55
3	1	3	3	3	3.9	11.34
4	2	1	2	3	3.43	10.72
5	2	2	3	1	3.45	10.76
6	2	3	1	2	3.72	11.40
7	3	1	3	2	3.57	11.05
8	3	2	1	3	4.25	12.56
9	3	3	2	1	3.56	11.03

\*Rango de escala sensorial 1=Mala; 5= Muy buena; \*\*Valores logarítmicos

### Análisis sensorial

La Calidad sensorial de la formulación de mousse (CS) fue definida como la suma de las siguientes características: sabor, consistencia y aroma cada una con diferentes porcentaje de influencia en sesiones de "brain storming" por un panel de 12 jueces entrenados dando lugar a la siguiente relación

$$CS = 0.42 \times \text{sabor} + 0.23 \times \text{aroma} + 0.32 \times \text{textura}$$

Para la evaluación sensorial de las muestras, 40 gramos de cada una de las formulaciones experimentales en polvo se

disolvieron con leche descremada (0% materia grasa) hasta totalizar 100 g. Para su análisis se usó un panel entrenado de 12 jueces utilizando el test de puntaje compuesto (27) y una escala analítico descriptiva de cinco puntos donde 1= CS Mala; 5= CS Muy buena.

### Test hedónico

Con el objeto de conocer la opinión del consumidor con la finalidad de saber si el producto satisface las expectativas propuestas, se realizó un test hedónico (27) en una muestra de 100 individuos, hombres y mujeres entre los 10 y 40 años de edad. Al mismo tiempo se les consultó por su decisión de compra.

### Caracterización química y física

a) Análisis proximal. La formulación optimizada de mousse de linaza sabor coco así como la semilla de linaza fueron sometidas a una caracterización química proximal de acuerdo a los métodos estandarizados de la AOAC (28). El contenido energético se determinó utilizando los coeficientes de Atwater: 4 para hidratos de carbono y proteínas y 9 para lípidos. En cuanto a la determinación de fibra dietaria total se utilizó el método enzimático de Prosky et al. (29).

### Perfil de ácidos grasos poliinsaturados

Se analizó la composición de ácidos grasos poliinsaturados en el aceite de linaza extraído de la semilla mediante cromatografía gaseosa (GLC) con detector FID (30).

### Actividad de agua ( $a_w$ )

Para determinar la actividad de agua en la muestra de mousse en polvo se utilizó un higrómetro "Lufft" ( $a_w$  Wert-Messer).

### Ensayos de vida útil

Muestras de 100 g del producto en polvo fueron envasados en bolsas de polietileno de 0.3 mm de espesor y almacenadas a 13 y 25°C durante 90 días. Cada 15 días se extrajeron muestras para medir la variación de la concentración de peróxidos (meq/kg materia grasa) (31). Para los ensayos microbiológicos se utilizaron muestras de mousse reconstituidas en leche descremada dispuestas en vasos plásticos cubiertos con papel aluminio los cuales se almacenaron a temperatura de refrigeración (7°C) durante una semana. A intervalos de dos días se recolectaron muestras para determinar recuento de mesófilos aerobios según (32)

### Análisis estadístico

Los resultados experimentales del diseño de la formulación fueron sometidos a los siguientes análisis estadísticos a) magnitud de promedio de respuesta S/R por nivel de trabajo de cada factor, b) varianza para determinar la significancia de

las variables independientes sobre la respuesta, c) determinación de la ecuación teórica optimizada y e) validación de la respuesta teórica de CS elaborando una formulación de mousse de coco con los mejores niveles de trabajo de las variables independientes Para el análisis de los datos se utilizó el software Qualitek-4 (25).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados promedios de las repeticiones de la CS, expresados paralelamente como valores Señal/Ruido (S/R) para cada una de las nueve corridas experimentales de mousse de linaza sabor coco se presentan en la Tabla 2. En ella destaca el punto de diseño 8 con un valor de 4.25, equivalente a S/R 12.56, que corresponde a una calidad sensorial buena, valor obtenido con la combinación de niveles de trabajo 3 para PT y TB; y niveles 1 y 2 para CcS y CG respectivamente. En contraste, las calificaciones más bajas fueron para los puntos de diseño 1 y 2, ambas con un valor de 3.37 o 10.55, equivalente a "regular" en los cuales, para los factores de control se utilizaron únicamente los niveles de trabajo 1 y 2.

Tomando como base los valores promedios de cada uno de los niveles por factor de control que se presentan en la Tabla 2, se analizó la variación de la S/R por nivel de trabajo tal como se observa en la Figura 1. De esta manera, para los factores relacionados con la condiciones del proceso PT y TB, la S/R se hace mas robusta y consistente en forma directamente proporcional a los niveles de trabajo, produciéndose un mejoramiento de la calidad de la respuesta causado por una menor influencia de los factores de ruido. Distinto es el efecto de los factores CG y CcS. En el primero, se obtiene un máximo de S/R trabajando con el nivel 2 aunque inferior a los resultados de los otros factores, para luego disminuir ligeramente, mientras que para el factor CcS la tendencia de la calidad de la respuesta es inversamente proporcional. Resumiendo, se puede concluir que los niveles óptimos de trabajo de estas variables independientes son 3, 2, 1 y 3 para proceso térmico, relación carragenina/gelatina, relación coco rallado/saborizante y tiempo de batido, respectivamente. Estos resultados fueron confirmados con el análisis de varianza (Tabla 4) donde se demostró que la contribución a la respuesta de los factores tiempo de batido, proceso térmico y relación coco rallado/saborizante aromatzado fueron superiores a un 25%, en cambio el factor relación carragenina/gelatina totalizó solo un 16%. Cabe destacar además que todos los factores demostraron tener una influencia significativa sobre la calidad sensorial ( $p < 0.05$ ) aportando en conjunto el 97.7% de la respuesta.

TABLA 3  
Valores promedios de S/R por factor y nivel de trabajo

Factores de control	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>
PT	10.81	10.96	11.55
CG	10.77	11.29	11.25
CcS	11.50	10.77	11.05
TB	10.78	11.00	11.54

\* Niveles de trabajo.

PT =Proceso térmico; CG =Relación gelatina/carragenina; CcS =Relación coco rallado/saborizante coco; TB= Tiempo batido

TABLA 4  
Análisis de varianza de C.S del mousse de linaza

Fuente de variación	g l	S.C	Varianza	F <sub>exp</sub>	R <sup>2</sup> (%)
Proceso Térmico	2	0.368	0.17	42.00*	29.34
Carragenina/Gelatina	2	0.198	0.09	23.25*	15.79
Coco rallado/Saborizante	2	0.314	0.16	39.75*	25.04
Tiempo de batido	2	0.343	0.17	43.00*	27.35
Error	9	0.03	0.004		2.39
Total	17	1.254			

R<sup>2</sup> = 0,9752; F<sub>teórico</sub> = 4,26 (p<0,05); \* = significativo al p<0.05

La siguiente etapa consistió en determinar el valor teórico de optimización (v) de la CS que se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$v = T + (PT_3 - T) + (CG_2 - T) + (CS_1 - T) + (T_3 - TB)$$

$$v = 4,25 \pm 0.076^*$$

Donde: T = 3.60 y es el promedio total de las respuestas de las corridas experimentales. Los términos entre paréntesis corresponden a los factores de control incluyendo como subíndices los niveles óptimos de trabajo. El valor teórico optimizado de CS resultó ser 4.25, con un intervalo de confianza de 0.076. Con la finalidad de confirmar la respuesta teórica obtenida se elaboró una formulación de mousse de linaza combinando los mejores niveles de trabajo de los factores de control. El producto fue analizado sensorialmente obteniéndose un valor de CS = 4.31 el cual resultó ser ligeramente superior al teórico calculado. De esta manera se validó la experiencia. Basado en estos resultados la fórmula optimizada del postre con linaza se muestra en la Tabla 5.

TABLA 5  
Formulación optimizada de mousse de linaza en polvo sabor a coco

Ingrediente	g/100 g
Leche en polvo descremada	18.90
Lamequick (espumante)	18.04
Maltodextrina	12.56
Gelatina	1.07
Carragenina	0.53
Saborizante aromatizado coco	4.23
Sucralosa	0.26
Albúmina	9.58
Linaza molida	23.90
Sorbato de potasio	0.24
Coco rallado	10.69

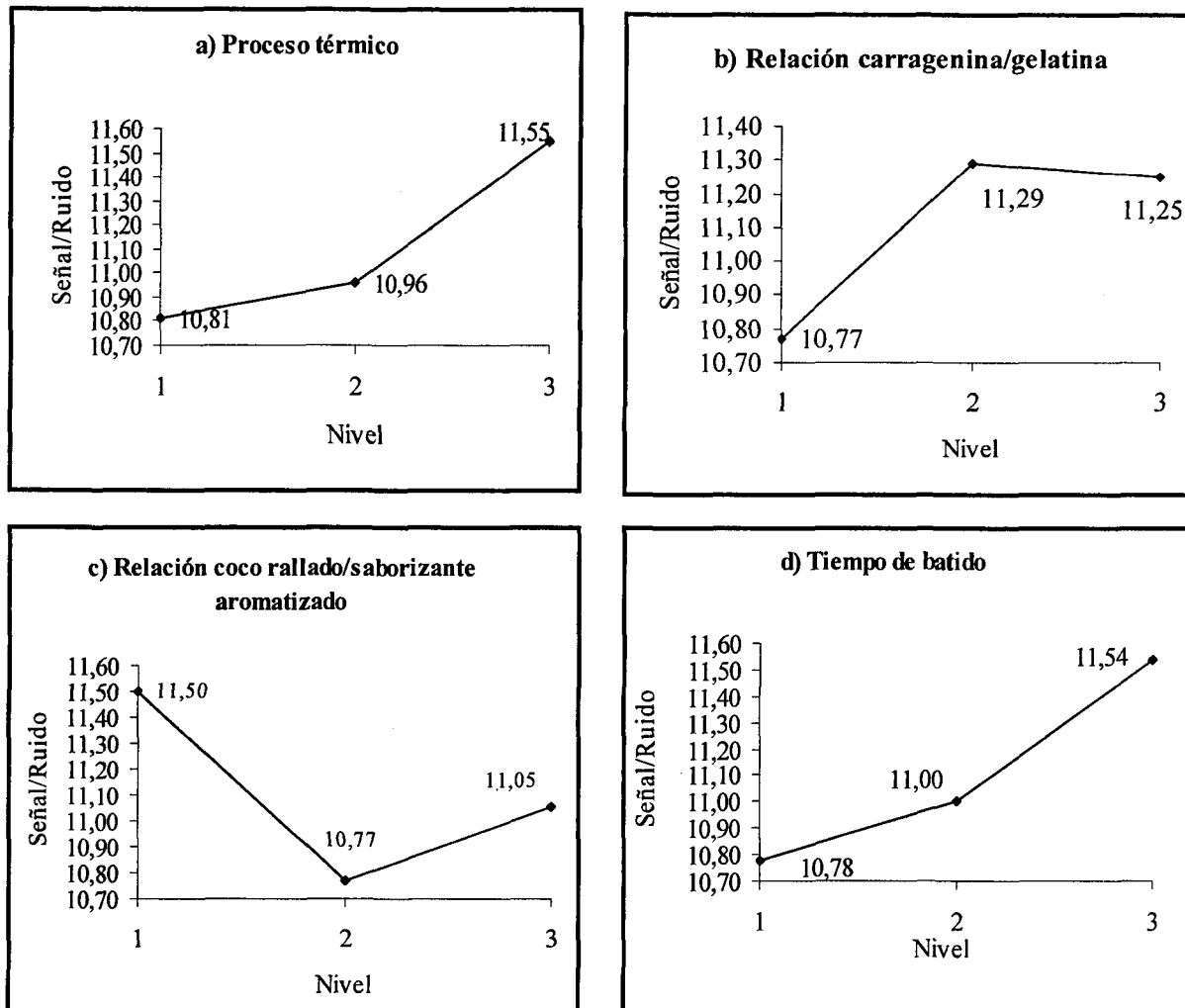
En la Tabla 6 se muestra la composición química del mousse optimizado de linaza. Como se aprecia, la formulación desarrollada en este estudio presentó una composición química en la que destacan el contenido de proteínas y lípidos cercanos al 20% y un porcentaje de fibra dietaria total de 18% debido a la inclusión de semilla de linaza en la formulación (ver Tabla 7). La importancia de ingerir fibra dietética responde al hecho que la fibra soluble e insoluble incrementa el bolo alimenticio lo que disminuye el tiempo de tránsito fecal ayudando a prevenir el estreñimiento, además reduce los niveles de glucosa en la sangre en los sujetos normales y diabéticos, disminuye la concentración de colesterol, reduce el valor calórico de los alimentos y previene la aparición del cáncer de colon (32-35).

TABLA 6  
Composición química del mousse de linaza sabor a coco

Componente	g/100g
Humedad	6.24
Proteínas	20.14*
Cenizas	9.00
Extracto etéreo	19.95
Fibra dietética total	18.00
Carbohidratos	26.67**
Kcal/100 g polvo	432.59

\* Nx6.25; \*\* Por diferencia

FIGURA 1  
Efecto de los factores de control sobre la S/R del mousse con linaza sabor coco



a) proceso térmico; b) Relación carragenina/gelatina; c) Relación coco rallado/saborizante coco; d) Tiempo de batido.

TABLA 7  
Análisis proximal de la semilla de linaza

Parámetros	g/100g
Humedad	8.03
Proteínas*	18.55
Cenizas	2.4
Lípidos	46.53
Fibra cruda	8.04
Carbohidratos**	15.91
Kcal	556.61

\* Nx6.25; \*\*Por diferencia

#### Análisis de la composición de ácidos grasos del aceite de linaza

La Tabla 8 muestra los resultados del perfil de ácidos grasos esenciales poliinsaturados del aceite de linaza. El contenido de ácidos grasos poliinsaturados totales presentes en la linaza fue un 64,15% desglosados como sigue: ácido linolénico (omega 3) 45,57% cifra destacable tomando en cuenta su origen y la necesidad de contar diariamente con este ácido graso esencial (22,37,38), y ácido linoleico (omega 6) 18,27%. De acuerdo con estos datos, la relación n-6/n-3 que muestra el aceite de linaza alcanzó un valor de 0.40, siendo que los valores recomendados fluctúan entre 4 a 10 (14,38). Si se considera que en la actualidad en algunas regiones del globo está relación supera con creces los valores reco-

mendados llegando incluso a niveles de 25/1 por malos hábitos dietarios la relación encontrada en el aceite de linaza es bastante interesante, pues se justifica la suplementación de ácido linolénico en forma indirecta por la inclusión de linaza en la formulación del mousse (Tabla 5) en cantidad tal para proveer el 30 % de la ingesta diaria recomendada tomando en cuenta.

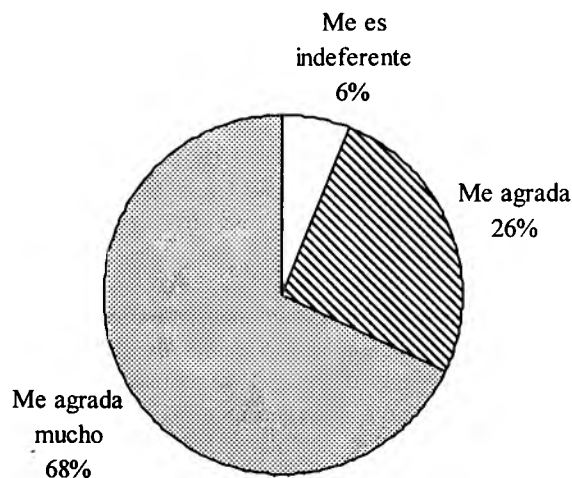
**TABLA 8**  
Composición de ácidos grasos poliinsaturados del aceite de linaza (g/100g)

C18:2 n-6 Ac. linoleico	18.27
C18:3 n-3 Ac. linolénico	45.57
Total de poliinsaturados	64.17
$\omega-6/\omega n-3$	0.40

En cuanto a la actividad de agua es un parámetro importante por su estrecha relación con la estabilidad de los alimentos durante su almacenamiento. El valor obtenido en este producto desarrollado fue de 0.56 lo que proporciona al producto una gran estabilidad frente a factores de deterioro principalmente reacciones enzimáticas y/o actividad microbiana, entre las cuales se encuentran las especies patógenas (1).

La fórmula optimizada fue sometida a un test de aceptabilidad hedónico. El 68% de los encuestados respondió que el postre “agradó mucho”, al 26% “agradó” y al 6% “le fue indiferente”. Al sumar los porcentajes que aprobaron el producto se obtuvo un 94%, destacándose el hecho que no se presentaron respuestas de rechazo. Además un 89% respondió que compraría el producto (Figura 2).

**FIGURA 2**  
Test de aceptabilidad del mousse de linaza sabor coco



### Ensayos de vida útil

Se analizó la influencia de dos variables, recuento de bacterias mesófilas y evolución de la concentración de peróxidos. En el primer caso el producto permaneció estable hasta el sexto día de almacenamiento a 7°C alcanzando  $1.64 \times 10^4$  ucf sin sobrepasar el límite de  $1 \times 10^5$  ucf establecido por el Reglamento Chileno Sanitario de los Alimentos (40).

En cuanto al índice de peróxidos el producto permaneció almacenado durante 90 días sin presentar síntomas de enranciamiento. Los valores obtenidos a 13°C y 25°C de 1.38 y 2.42 meq/K de aceite respectivamente fueron muy inferiores a los máximos recomendados por Schmidt Hebbel (30) de 5 meq/kg de aceite que corresponde a un aceite fresco

### CONCLUSIONES

- Se desarrolló una formulación funcional de mousse de óptima calidad sensorial considerando las características organolépticas aroma, sabor y consistencia. La cantidad de semilla de linaza incorporada a la formulación fue suficiente para cubrir el 30% de la ingesta diaria recomendada de ácido linolénico utilizando la metodología taguchi.
- En este estudio todos los factores seleccionados afectaron significativamente ( $p < 0,05$ ) la calidad sensorial del mousse de linaza sabor coco con una contribución total de 97%. La mejor combinación de niveles de trabajo para obtener una CS óptima fue: 3, 2, 1, 3 para proceso térmico, relación carragenina/gelatina, relación coco rallado/saborizante y tiempo de batido respectivamente
- Desde el punto de vista químico, el mousse de linaza sabor coco en polvo, presenta una composición proximal con: 6% de humedad, 20% de proteínas, 9% de cenizas, 20% de extracto etéreo, 18% de fibra dietaria total y un 26.7% de hidratos de carbono. El aporte calórico por cada 100 g de mousse en polvo fue 432 Kcal.
- La semilla de linaza utilizada en este experimento tiene un contenido importante de aceite que presenta una alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados linoleico y linolénico, mostrando una relación de ácidos grasos omega-6/omega-3 de 0,40, característica que puede ser aprovechada para suplementar alimentos con bajo contenido en omega 3.
- Al analizar los resultados de las pruebas de almacenamiento del mousse de linaza se concluye que tanto la formulación en polvo como el reconstituido son productos estables, el primero al fenómeno de la rancidez y el segundo al crecimiento de microorganismos según las condiciones de almacenamiento impuestas en el ensayo.

## REFERENCIAS

1. Cheftel J, Cheftel H. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos, 2a Ed. 1992. Edit. Acribia. S.A. Zaragoza.
2. Romper A, Zacarías I, Olivares S, Hertrampf E. Evaluación de un programa de información en nutrición al consumidor. *Rev Chil Nutr.* 2003; 30(1):43-51.
3. WHO/FAO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series n° 916. Geneva. World Health Organization 2003.
4. Vío F. Prevención de la obesidad en Chile. *Rev Chil Nutr.* 2005; 32 (2): 80-87.
5. Instituto Nacional de Estadísticas. Encuesta Nacional de Salud. MINSAL. 2003.
6. Arai S. Studies on functional foods in Japan. State of the art. *Biosci. Biotech. Biochem.* 1996; 60(3): 9-15.
7. Hasler CM. Functional Foods: The role in disease prevention and health promotion. Scientific Status Summary. *Food Technol.* 1998; 52 (11): 63-70.
8. Robertfroid MR. Functional effects of food component in the gastrointestinal system. *Nut Rev.* 1996; 54 (11):38-42.
9. Silveira M, Montero S, Molina B. Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos?. *Rev. Esp. Salud Pública* 1996; 77: 317-331.
10. Ochoa M<sup>c</sup>, Lamas O, Martínez L, Marta A. Influencia de los ácidos grasos de la dieta en la función inmunológica. *Anal Real Acad Farm.* 2001; 67:1-16.
11. Vasconcellos JA. Alimentos Funcionales. Conceptos y beneficios para la salud, Food Science Department. Chapman University, Orange, California, USA 2000.
12. Araya H y Llutz M. Alimentos funcionales y saludables. *Rev Chil Nutr.* 2000; 30(1): 8-14.
13. Kinsella E, Lokesh V. Dietary n-3 poly unsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular diseases; possible mechanism. *Am J Clin Nutr.* 1990; 52:1-28.
14. FAO. Fats and oils in human nutrition. FAO. Food and nutrition paper N°57, 1994.
15. Masson L, Mella M. Materias grasas de consumo habitual y potencial en Chile. Composición en ácidos grasos". Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Editorial Universitaria. 1985; 11-14. Santiago de Chile.
- 16.- Bender, D. Introducción a la Nutrición y el Metabolismo. Ed. Acribia. 1993. Zaragoza. S.A
17. Flax Council of Canada, (2001). "El lino canadiense". <http://www.flaxcouncil.ca>.
18. Bang H, Dyerberg. Home, N. The composition of skimo food in Northwestern Greenland. *Am J Clin.* 1980; 33: 2657-2661.
19. Valenzuela A. Alimentos enriquecidos, un desafío tecnológico. *Nutrición XXI* 2000; 2(5): 12-14.
20. Kratzer F H.: Vohra P. The use of flaxseed as a poultry feedstuff. University of California. 1966.
21. 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". *Rev Chil Nutr.* 2004; 31(2): 57-73.
22. Covarrubias ME, Ortega K. El rol de los omega 3 en la salud humana. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía. Centro de Extensión 2004; Revista 12: 9-14.
23. Introducción a la Ingeniería de Calidad. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, México. Edit. ASI Internacional. 1989.
24. Marfil RC. Método Taguchi, una herramienta para el mejoramiento de la calidad. *Tecnología de los Alimentos* 1991; 26(5), 14–33.
25. Roy R. Design of experiments using the Taguchi Approach. Edit. John Wiley-Sons 2001, New York; 95-110. USA.
26. Roy R. A primer on the Taguchi method. Society of manufacturing Engineer. Darbom 1990; 40-98. Michigan. USA.
27. Wittig E. Evaluación sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos. Talleres Gráficos USACH 1981; 66-75.
28. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 16th ed. 1990. Washington DC.
29. Prosky L, Asp N, Schweizer T, Devires J, Furda I. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber and food products: Interlaboratory study. *JAOAC* 1988; 71(5):1017-1023.
30. Cantellops "The Association of Official Agricultural Chemists". Washington DC. 1999.
31. Schmidt-Hebbel H. Avances en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Editorial Salesiana, 1981. Santiago de Chile.
32. Instituto Salud Pública. Manual de técnicas microbiológicas para alimentos y aguas. Edit Andros 1998. Santiago, Chile.
33. Hesse JM. Application and usage of dietary fiber in the USA, *Food Ingredients.* 1994 (2):50-52.
34. Pak N. Fibra dietética. Concepto. Contenido en alimentos y consumo en Chile. *Rev Chil Nutr.* 1992. 20 (2):124-135.
35. Herrera I M, González EP, Romero JG. Fibra dietética soluble e insoluble y total en leguminosas crudas o cocida. *Arch Latinoamer Nutr.* 1998. 48 (2):179-192.
36. Wittig de Penna E, Villarroel M. Fibra dietética en Iberoamérica: tecnología y salud. Obtención, caracterización, efecto y aplicación en alimentos. Varela Editora y Librería Ltda. 2001; 245-254 .
37. Raper N.R. Fatty acids essential. *J Am. Colloid* 1992; 11:304-308.
38. Kristensen SD, Schmidt EB. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and human platelet function. A review with particular emphasis on implication for cardiovascular diseases. *J Int Med.* 1989; 225:141-150.
39. Simopolous AP, Salem Jr. Workshop Statement on the essentiality of and Recommended Dietary intake for omega 6 y omega 3 fatty acids. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential fatty acids. 2000; 63(3): 119-121.
40. Nuevo Reglamento Sanitario de los Alimentos. Ministerio de Salud de Chile. Ediciones Publibey 2001. Santiago, Chile.

Recibido: 01-02-2006

Aceptado: 29-05-2006

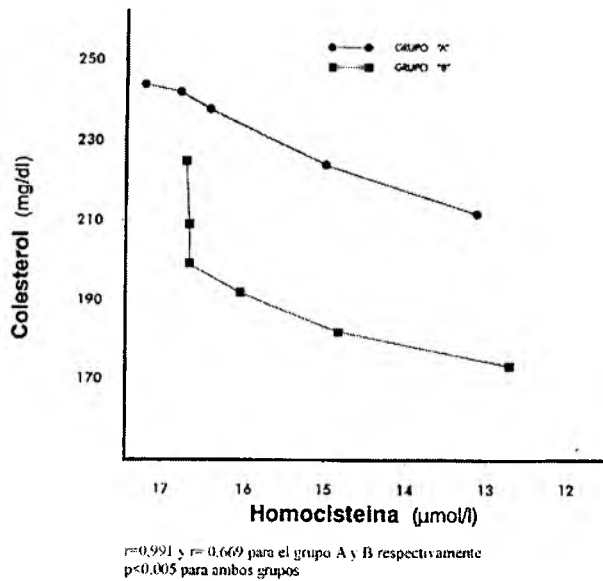
## FE DE ERRATAS

1. En el Número 1, Marzo 2006, Volumen 56, de “Archivos Latinoamericanos de Nutrición”, en la página 39 correspondiente al manuscrito **“Disminución de homocisteína plasmática con vitaminas B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico. Su efecto en la concentración de los lípidos en pacientes con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV, con y sin tratamiento con Lovastatina”** de los autores Garcés P. Antonio, Alba Morón de Salim, Anthony Garcés y Albert Garcés, la Figura 2 aparece desplazada a la izquierda cubriendo la Tabla 4 y parte del texto, debido a un error en la impresión. Ofrecemos a los autores y lectores de la revista nuestras excusas por este contratiempo. A continuación reproducimos la página en referencia.

2. La fecha de Recibido y Aceptado correspondiente al manuscrito **“Transición nutricional: una revisión del perfil latinoamericano”** de los autores R. Mauricio Barría y Hugo Amigo, publicado en el Número 1, Marzo 2006. Volumen 56, son respectivamente 14-12-2005 y 17-04-2006 y no las que allí se indican.

FIGURA 1

Efecto de la disminución de la concentración plasmática de homocisteína en la concentración de colesterol en los grupos A y B a los 0, 30, 60, 90 y 120 días posterior a la ingesta de las vitaminas B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico



La concentración promedio basal de triglicéridos fue de 395,0 ± 68,1 mg/dl para el grupo A y 306,1 ± 57,2 mg/dl para el grupo B. A los 120 días de iniciado el suplemento vitamínico las concentraciones promedio fueron de 290,6 ± 59,4 mg/dl y 197,9 ± 24,5 mg/dl respectivamente (Tablas 1 y 2). La prevalencia de los niveles de triglicéridos por encima de 165 mg/dl fue de 100% para ambos grupos (A y B) al inicio del estudio; transcurridos los 120 días fue de 100% para el grupo A y de 86,7% para el grupo B (Tabla 4).

TABLA 4

Prevalencia de los niveles de triglicéridos al inicio y a los 120 días de ingesta de las vitaminas B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico

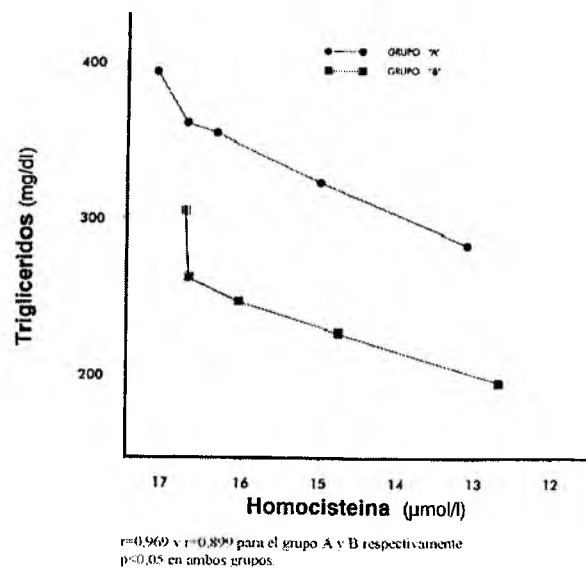
Triglicéridos	Basal		120 días	
	Grupo (A) n = 15 (%)	Grupo (B) n = 15 (%)	Grupo (A) n = 15 (%)	Grupo (B) n = 15 (%)
< 165 mg/dl	0	0	0	2 (13,3)
> 165 mg/dl	15 (100)	15 (100)	15 (100)	13 (86,7)
Total	15 (100)	15 (100)	15 (100)	15 (100)

La correlación entre los niveles de homocisteína y la concentración de triglicéridos se presenta en la Figura 2; se observa un comportamiento similar en ambos grupos; por cada

µmol/L de homocisteína que disminuye, la concentración de triglicéridos se reduce a 25,4 mg/dl en el grupo A y 27,0 mg/dl en el grupo B. La Lovastatina ejerció poco efecto sobre la concentración de los triglicéridos, con r=0,969 y r=0,899 para el grupo A y B respectivamente, y p<0,05 en ambos grupos.

FIGURA 2

Efecto de la disminución de la concentración plasmática de homocisteína en la concentración de triglicéridos en los grupos A y B a los 0, 30, 60, 90 y 120 días posterior a la ingesta de las vitaminas B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico



La concentración de colesterol de las C-LDL del grupo A disminuyó de un promedio de 150,8 ± 21,3 a 130,8 ± 28,2 mg/dl y en el grupo B de 143,2 ± 20,5 mg/dl, a 109,6 ± 11,5 mg/dl, al finalizar el periodo experimental (Tablas 1 y 2). Se observó una marcada reducción en el grupo B, con respecto al grupo A como consecuencia del efecto del hipolipemiante. En el grupo A no se observaron cambios significativos durante los primeros 30 días (p=0,753) y poco significativos hasta los 60 días (p=0,02), posteriormente, la disminución de la concentración de C-LDL fue más significativa (p<0,001), obteniéndose un promedio de 130,8 ± 28,2 mg/dl al finalizar los 120 días. El efecto de la Lovastatina en el grupo B fue evidente desde el inicio hasta los 90 días, no siendo así entre los 90 y 120 días, cuyo cambio no fue significativo (p=0,217) (Figura 3). Se observó correlación entre los niveles de homocisteína y la concentración de C-LDL, con un r=0,912 para el grupo A y r=0,668 para el grupo B, p<0,005 para ambos grupos. La disminución de un µmol/L de homocisteína incide en la reducción de 4,8 mg/dl en las C-LDL en ausencia de Lovastatina, mientras que en presencia del hipolipemiante el efecto fue de 8,4 mg/dl.

## INFORMACION PARA LOS AUTORES

En 1950 el Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela edita su revista Archivos Venezolanos de Nutrición la cual en 1966 es donada a la recién creada Sociedad Latinoamericana de Nutrición, SLAN, para convertirse en su órgano oficial de divulgación Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ALAN.

ALAN acoge en sus páginas trabajos de revisión, editoriales, conferencias y simposia y trabajos científicos originales sobre temas relacionados con alimentación y nutrición, entre ellos, ciencia y tecnología de alimentos, nutrición humana y animal, bioquímica nutricional aplicada, nutrición clínica y comunitaria, educación en nutrición y microbiología de alimentos.

Todos los artículos que se publican pasan por un proceso de arbitraje externo. El Comité Editorial no se hace responsable de los conceptos emitidos en los artículos aceptados para ser publicados y se reserva el derecho de no publicar los originales que no se ajusten a los lineamientos de la revista. No se devolverán originales ni se mantendrá correspondencia sobre aquellos que no sean publicados. ALAN se reserva los derechos de reproducción de los artículos seleccionados.

ALAN se acoge a las normas de los requisitos uniformes del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (CIDRM), también conocido como el Grupo de Vancouver. A continuación se reproducen los aspectos más relevantes de la traducción al español más reciente (Noviembre 2003), de los requisitos uniformes del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (CIDRM) para la preparación de manuscritos que se presentan a las revistas biomédicas (1) y se añaden algunas recomendaciones específicas para ALAN. La traducción ha sido preparada por la Organización Panamericana de la Salud. El CIDRM no ha avalado ni aprobado el contenido de esta traducción. La versión oficial en inglés de este documento, actualizada a Octubre 2005, se puede hallar en: <http://www.icmje.org/>

### Requisitos para la presentación de manuscritos a una revista

#### Resumen de los requisitos técnicos

- Todas las partes del manuscrito estarán a doble espacio.
- Cada sección o componente comenzará en página nueva.
- Revise la secuencia: página del título, resumen y palabras clave, texto agradecimientos, referencias, cuadros (cada uno en página aparte), pies e epígrafes de las ilustraciones.
- Las ilustraciones se presentarán en forma de impresiones fotográficas sin tomar, y no deberán exceder de 203 x 254 mm.
- Incluya la autorización para reproducir material publicado con anterioridad o para usar ilustraciones en las que se pueda identificar a los sujetos humanos.
- Adjunte la transferencia de los derechos de autor y otros formularios.

- Presente el número exigido de copias impresas del artículo (ALAN exige original y 3 copias).
- Guarde copias de todo lo que envíe.

#### Principios generales

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que llevan estos encabezamientos: introducción, métodos, resultados y discusión. En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas secciones, sobre todo en las de resultados y discusión, a fin de hacer más claro el contenido. Es probable que otro tipo de artículos -como los informes de casos, las revisiones y los editoriales- exijan otra estructura. Para mayor orientación, los autores deberán consultar la revista en la que pretenden publicar.

Mecanografiarse el manuscrito en papel bond blanco de 216 x 280 mm o de la medida estándar ISO A4 (212 x 297 mm), con márgenes de por lo menos 25mm (ALAN prefiere la medida de 216 x 280 mm). Escribese o imprímase solamente sobre una cara del papel. Usar doble espacio en todas las palabras del manuscrito -es decir, la portada, el resumen, el texto, los agradecimientos, las referencias, cada cuadro y los pies o epígrafes de las figuras-, así como márgenes amplios, permite que los editores, revisores y correctores corrijan el texto línea por línea y anoten observaciones y preguntas directamente en el original impreso. Si los manuscritos se presentan en formato electrónico, los archivos deben venir a doble espacio porque el manuscrito tal vez deba imprimirse para la revisión y la corrección editorial.

Durante el proceso editorial los revisores, directores y correctores necesitan referirse con frecuencia a porciones específicas del manuscrito, lo cual es difícil a menos que se numeren las páginas. Por lo tanto, los autores numerarán consecutivamente todas las páginas del manuscrito, empezando con la portada.

#### Portada

La portada debe llevar la siguiente información:

1) El título del artículo. Los títulos concisos son más fáciles de leer que los largos y enrevesados. Sin embargo, los títulos demasiado cortos pueden omitir información importante, como el diseño del estudio (que es particularmente importante para identificar los ensayos controlados aleatorizados). Los autores deben incluir en el título toda la información que permita que la recuperación electrónica del artículo sea al mismo tiempo sensible y específica; 2) Los nombres y la

---

(1) "Requisitos uniformes para preparar los manuscritos que se presentan a las revistas biomédicas: redacción y edición de las publicaciones biomédicas" Rev Panam Salud Pública/Pan Am J Pub Health Vol 15, Nº 1; 41-57. 2004.

afiliación institucional de los autores. Algunas revistas publican el grado académico más alto de cada autor, mientras que otras no lo hacen; 3) El nombre de los departamentos e instituciones a los que debe atribuirse el trabajo; 4) Las cláusulas de descargo de responsabilidad, si las hubiera; 5) Los autores corresponsales. Hay que anotar el nombre, dirección postal, número de teléfono y de fax y dirección de correo electrónico del autor encargado de la correspondencia acerca del manuscrito (el "autor corresponsal"), que puede o no ser el "aval" de la integridad del estudio en su totalidad, si esa función se atribuye a alguien. El autor corresponsal debe indicar claramente si quiere o no que su dirección de correo electrónico se publique; 6) Nombre y dirección del autor a quien se dirigirán las solicitudes de separatas, o nota informativa de que los autores no las proporcionarán; 7) Procedencia del apoyo recibido en forma de subvenciones, equipo, medicamentos o todos ellos; 8) Titulillo. Algunas revistas solicitan que se incluya un titulillo o pie de página, por lo común de menos de 40 pulsaciones (incluidos caracteres y espacios), al pie de la portada. Los titulillos se publican en la mayoría de las revistas, pero a veces se usan también en la redacción para archivar y localizar los manuscritos.

### Autoría

Todas las personas designadas como autores habrán de cumplir con ciertos requisitos para tener derecho a la autoría. Cada autor debe haber participado en el trabajo en grado suficiente para asumir responsabilidad pública por su contenido. Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial por lo que se refiere a los siguientes aspectos: 1) la concepción y el diseño o bien el análisis y la interpretación de los datos; 2) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte importante de su contenido intelectual; y 3) la aprobación final de la versión que será publicada. Las tres condiciones tendrán que cumplirse siempre. La participación que consiste meramente en conseguir financiamiento o recoger datos no justifica el crédito de autor. Tampoco basta con ejercer la supervisión general del grupo de investigación. Toda parte del artículo que sea decisiva con respecto a las conclusiones principales deberá ser responsabilidad de por lo menos uno de los autores. Los directores de revistas podrán solicitar a los autores que describan la contribución de cada uno; esa información puede ser publicada.

Cada vez es más común que los ensayos multicéntricos se atribuyan a un autor corporativo. Todos los miembros del grupo que sean designados como autores, ya sea en la línea destinada al nombre de los autores a continuación del título o en una nota a pie de página, deberán cumplir plenamente con los requisitos de requisitos de autoría recién señalados. Los miembros del grupo que no cumplan con dichos criterios serán mencionados, con su autorización, en la sección de agradecimientos o en un apéndice (véase "Agradecimientos").

El orden en que figuran los autores debe reflejar una decisión conjunta de estos. Como los autores se suelen enumerar de distintas maneras, el significado del orden en que aparecen no puede deducirse con exactitud a menos que ellos mismos lo enuncien explícitamente. Para tal efecto, tal vez deseen agregar, en una nota a pie de página, la explicación sobre el orden de enumeración. Al decidir acerca de dicho orden, los autores tendrán presente que muchas revistas imponen un límite al número de autores que figuran en el índice de materias y que, cuando hay más de 25 autores, la Biblioteca Nacional de Medicina de

los Estados Unidos incluye en MEDLINE tan solo los nombres de los 24 primeros más el del último.

### Resumen y palabras clave

La segunda página incluirá un resumen que no sobrepasará las 250 palabras de extensión. En él indicaran los propósitos del estudio o investigación; los procedimientos básicos (selección de los sujetos o los animales de laboratorio incluidos en el estudio; métodos de observación y análisis); los hallazgos más importantes (proporcionense datos específicos y, de ser posibles, su significación estadística), y las conclusiones principales. Hágase hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio o las observaciones.

A continuación del resumen agréguese, debidamente rotuladas, de 3 a 10 palabras o frases cortas clave que ayuden a los indizadores a clasificar el artículo, las cuales se publicarán junto con el resumen. Utilícense para este propósito los términos de la lista "Medical Subject Headings" (MeSH) [Encabezamientos de materia médica] del Index Medicus; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en dicha lista, podrán usarse las expresiones corrientes. ALAN exige que todo trabajo deberá acompañarse de un Resumen en inglés con sus palabras clave, "key words", si el trabajo original fuese en español, portugués o francés. Si el trabajo original es en inglés, el Resumen debe presentarse en español, igualmente con sus palabras clave. Deberá leerse corrido no en secciones.

### Introducción

Proporcione el contexto o los antecedentes del estudio, es decir, la naturaleza del problema y su importancia. Enuncie la finalidad o el objetivo de investigación específico del estudio u observaciones, o bien la hipótesis que se ha puesto a prueba; el objetivo de investigación suele expresarse con más nitidez si se formula como una pregunta. Hay que expresar con claridad los objetivos principales y secundarios y describir todo análisis de subgrupos que haya sido especificado con anterioridad. Mencione las referencias estrictamente pertinentes y no incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.

### Materiales y Métodos

Describa claramente la forma como se seleccionaron los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos los testigos). Identifique la edad, el sexo y otras características importantes de los sujetos. La definición y la pertinencia de la raza o el grupo étnico son ambiguos. Los autores deberán ser particularmente cuidadosos con respecto a usar estas categorías.

Identifique los métodos, los aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y los procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Proporcione referencias de los métodos acreditados, incluidos los de índole estadística (véase más adelante); dé referencias y explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos; describa los métodos nuevos o que han sido sustancialmente modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos

los medicamentos y productos químicos utilizados, sin olvidar nombres genéricos, dosis y vías de administración.

Los informes de ensayos clínicos aleatorizados deberán presentar información sobre todos los elementos importantes del estudio, como son el protocolo (población de estudio, intervenciones o exposiciones, resultados y el fundamento lógico del análisis estadístico), asignación de intervenciones (métodos de aleatorización, ocultamiento de la asignación a los grupos de tratamiento) y método de enmascaramiento (método ciego).

Los autores que presenten manuscritos de revisión incluirán una sección en la que se describan los métodos utilizados para localizar, seleccionar, extraer y sintetizar los datos. Estos métodos se mencionarán también en forma sinóptica en el resumen.

**Ética.** Cuando informe sobre experimentos en seres humanos, señale si los procedimientos seguidos estuvieron de acuerdo con las normas éticas del comité (institucional o regional) que supervisa la experimentación en seres humanos o con la Declaración de Helsinki de 1975, modificada en 1983. No utilice el nombre de los pacientes, sus iniciales ni los códigos hospitalarios, especialmente en el material ilustrativo. Cuando dé a conocer experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución, las de un consejo nacional de investigación o cualquier ley nacional acerca del cuidado y el uso de animales de laboratorio.

**Estadística.** Describa los métodos estadísticos con detalles suficientes para que el lector versado en el tema y que tenga acceso a los datos originales pueda verificar los resultados presentados. Siempre que sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de error o incertidumbre de la medición (por ej., intervalos de confianza). No dependa exclusivamente de las pruebas estadísticas de comprobación de hipótesis, tales como el uso de los valores P, que no transmiten información sobre la magnitud del efecto. Analice la elegibilidad de los sujetos de experimentación. Proporcione los detalles del proceso de aleatorización. Describa los medios utilizados para enmascarar las observaciones (método ciego), indicando los resultados que dieron. Informe sobre las complicaciones del tratamiento. Especifique el número de observaciones. Mencione las pérdidas de sujetos de observación (por ej., las personas que abandonan un ensayo clínico). Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos utilizados serán de trabajos vigentes (indicando el número de las páginas), y no de los artículos originales donde se describieron por vez primera. Especifique cualquier programa de computación de uso general que se haya empleado.

## Resultados

En el texto, los cuadros y las ilustraciones, presente los resultados siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto todos los datos de los cuadros ni de las ilustraciones; destaque o resuma tan solo las observaciones importantes.

Cualquier material adicional o complementario y los detalles técnicos pueden reunirse en un apéndice, de manera que estén accesibles pero sin interrumpir el flujo del texto; otra posibilidad es que dicho apéndice solo se publique en la versión electrónica de la revista.

Al resumir los datos en la sección de resultados, facilite los resultados numéricos no solo como derivados (por ej., porcentajes),

sino también como los números absolutos a partir de los cuales se calcularon los derivados, y especifique los métodos estadísticos mediante los cuales se analizaron. Limite los cuadros y las figuras al número necesario para explicar el argumento del artículo y evaluar los datos en que se apoya. Use gráficas en vez de cuadros subdivididos en muchas partes; no duplique los datos en las gráficas y los cuadros. Evite el uso no técnico de términos de la estadística, tales como «al azar» (que entraña el empleo de un método de aleatorización), «normal», «significativo», «correlaciones» y «muestra».

Cuando sea adecuado desde el punto de vista científico, hay que incluir los análisis de los datos por variables como la edad y el sexo.

## Discusión

Haga hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de ellos. No repita con pormenores los datos u otra información ya presentados en las secciones de introducción y de resultados. Explique en la sección de discusión el significado de los hallazgos y sus limitaciones, incluidas sus implicaciones para la investigación futura. Relacione las observaciones con otros estudios pertinentes.

En el caso de estudios experimentales, es útil empezar la discusión resumiendo brevemente los resultados principales; luego, analizar los posibles mecanismos o explicaciones de estos resultados; comparar y contrastar los resultados con otros estudios pertinentes; señalar las limitaciones del estudio; y, por último, explorar las implicaciones de los resultados para la investigación futura y para la práctica clínica.

Establezca el nexo entre las conclusiones y los objetivos del estudio, pero absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que no estén completamente respaldadas por los datos. En particular, los autores evitarán hacer afirmaciones sobre los beneficios y los costos económicos, a menos que su manuscrito incluya datos y análisis económicos adecuados. No reclame ningún tipo de precedencia ni mencione trabajos que no estén terminados. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales.

## Agradecimientos

Todos los colaboradores que no satisfagan los criterios de la autoría deben mencionarse en la sección de agradecimientos. Por ejemplo, se puede agradecer la ayuda de una persona que prestó ayuda estrictamente técnica, de alguien que ayudó con la redacción o del director de departamento que solo brindó apoyo general. También debe reconocerse el apoyo económico y material.

Las personas que hayan colaborado materialmente en la preparación del manuscrito pero no en grado suficiente para justificar que se les considere como autores pueden mencionarse bajo un encabezamiento colectivo, como el de «investigadores» o «investigadores clínicos participantes», mencionando además su función o colaboración; por ejemplo, «actuaron como asesores científicos», «examinaron críticamente la propuesta de estudio», «recopilaron datos» o «facilitaron y atendieron a los pacientes del estudio».

Dado que los lectores pueden inferir que dichas personas respaldan los datos y las conclusiones, todas ellas deben otorgar su permiso por escrito para que se les mencione en los agradecimientos.

## Referencias

Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. En este, en los cuadros y en los pies o epígrafes de las ilustraciones, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Las referencias citadas solamente en cuadros o ilustraciones se numerarán siguiendo una secuencia que se establecerá por la primera mención que se haga en el texto de ese cuadro o esa figura en particular.

Emplee el estilo de los ejemplos que aparecen más adelante, los cuales están basados en el formato que la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos usa en el *Index Medicus*. Abrevie los títulos de las revistas de conformidad con el estilo utilizado en dicha publicación. Consulte la *List of Journals Indexed in Index Medicus* [Lista de revistas indizadas en *Index Medicus*], que se publica anualmente como parte del número de enero y como separata. La lista se puede obtener asimismo en el sitio que la biblioteca mantiene en la World Wide Web <http://www.nlm.nih.gov/>

Absténgase de utilizar los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos que han sido aceptados pero que todavía no se publican se designarán como «en prensa» o «de próxima aparición»; los autores obtendrán por escrito el permiso para citar dichos artículos y también la verificación de que han sido aceptados para publicación. La información proveniente de manuscritos presentados para publicación pero aún no aceptados se citará en el texto como «observaciones inéditas», con el permiso correspondiente de la fuente por escrito.

No cite una «comunicación personal» a menos que aporte información esencial que no pueda obtenerse de una fuente pública; en ese caso, el nombre de la persona y la fecha de la comunicación aparecerán entre paréntesis en el texto. En el caso de artículos científicos, los autores deberán obtener el permiso de la fuente y su confirmación de la exactitud de la comunicación personal, ambos por escrito.

Algunas revistas comprueban la exactitud de todas las referencias bibliográficas, pero no todas lo hacen, y a veces aparecen errores en las citas bibliográficas de los artículos cuando estos se publican. Para reducir al mínimo tales errores, los autores deben cotejar las referencias contra los documentos originales.

Para conocer muestras de los formatos de citación de las referencias, los autores deben consultar el siguiente sitio web: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

El estilo de los requisitos uniformes (estilo de Vancouver) se basa en gran medida en una norma de estilo ANSI adaptada por la Biblioteca Nacional de Medicina (NLM) para sus bases de datos.

## Tablas

Mecanografíe o imprima cada tabla a doble espacio y en hoja aparte. No presente las tablas en forma de impresiones fotográficas. Numérelas consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada una. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilícenlos los símbolos siguientes en la secuencia que se indica: \*, †, ‡, \*\*, ††, ‡‡.

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros. Cerciórese de que cada cuadro aparezca citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde. Incluir un número excesivo de tablas en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántas tablas pueden incluirse por cada millar de palabras de texto. Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que las tablas suplementarias que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensas para publicarlas, queden depositadas en un servicio de archivo, como el Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares en los Estados Unidos, o que sean proporcionadas por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Dichos tablas se presentarán junto con el artículo para su consideración por parte de los árbitros.

## Ilustraciones (figuras)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan 127 x 173 mm, sin exceder de 203 x 254 mm. Las letras, números y símbolos serán claros y uniformes en todas las ilustraciones; tendrán, además, un tamaño suficiente para que sigan siendo legibles incluso después de la reducción necesaria para publicarlos. Los títulos y las explicaciones detalladas se incluirán en los pies o epígrafes, no sobre las propias ilustraciones.

Al reverso de cada figura pegue una etiqueta de papel que lleve anotados el número de la figura, el nombre del autor y cuál es la parte superior de la misma. No escriba directamente sobre el dorso de las figuras ni las sujete con broches para papel, pues quedan marcadas. Las figuras no se doblarán ni se montarán sobre cartón.

Las fotomicrografías incluirán en sí mismas un indicador de la escala. Los símbolos, flechas y letras usados en estas deberán contrastar claramente con el fondo.

Si se usan fotografías de personas, estas no deberán ser identificables; de lo contrario, habrá que anexar un permiso por escrito para poder utilizarlas.

Las figuras se numerarán en forma consecutiva de acuerdo con su primera mención en el texto. Si la figura ya fue publicada, se reconocerá la fuente original y se presentará la autorización por escrito que el titular de los derechos de autor concede para reproducirla. Este permiso es necesario, independientemente de quién sea el autor o la editorial; la única salvedad son los documentos considerados como de dominio público.

## Pies o epígrafes de las ilustraciones

Los pies o epígrafes de las ilustraciones se mecanografiarán o imprimirán a doble espacio, comenzando en hoja aparte e identificándolos con los números arábigos correspondientes. Cuando se utilicen símbolos, flechas, números o letras para referirse a ciertas partes de las ilustraciones, será preciso identificar y aclarar el significa-

do de cada uno en el pie o epígrafe. En las fotomicrografías habrá que explicar la escala y especificar el método de tinción.

### Unidades de medida

Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se expresarán en unidades del sistema métrico decimal (metro, kilogramo, litro, etc.) o sus múltiples y submúltiplos.

Las temperaturas se consignarán en grados Celsius. Los valores de presión arterial se indicarán en milímetros de mercurio.

Todos los valores hemáticos y de química clínica se presentarán en unidades del sistema métrico decimal y de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). La redacción de la revista podrá solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores agreguen unidades alternativas o distintas de las del SI.

### Abreviaturas y símbolos

Utilice únicamente abreviaturas corrientes. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura en el texto, irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

### Envío del manuscrito a la revista

Cada día aumenta el número de revistas que aceptan la presentación electrónica de los manuscritos, ya sea en disco, como anexos de correo electrónico o descargadas directamente al sitio web de la revista. Cuando se presente un manuscrito en forma electrónica, los autores deben consultar la información para la presentación de manuscritos de la revista que han elegido.

Si se presenta una versión impresa del manuscrito, envíe el número exigido de copias del manuscrito y las figuras; todas ellas son necesarias para el arbitraje y la corrección de estilo, y no cabe esperar que la redacción haga las copias necesarias.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de envío firmada por todos los coautores.

## ANEXO

### Artículos de revistas

#### 1. Artículo estándar

Enumere los primeros seis autores y añada la expresión «et al.» (Nota: La NLM incluye ahora hasta 25 autores; si hay más de 25, enumera los primeros 24, continuación el último autor y luego agrega «et al.»)

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002 Jul 25;347(4):284-7.

Optativamente, si se utiliza la paginación continua a lo largo de un volumen (como hacen muchas revistas médicas), se pueden omitir el mes y el número.

(Nota: Para respetar la uniformidad, en todos los ejemplos que se

presentan en los requisitos uniformes se aplica esta opción. La NLM, sin embargo, no usa dicha opción.)

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347:284-7.

#### Más de seis autores:

Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.

#### 2. Organización como autor

Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. *Hypertension.* 2002;40(5):679-86.

#### 3. Autoría compartida entre autores individuales y un equipo (Este ejemplo no sigue el estándar NISO)

Vallancien G, Emberton M, Harving N, van Moorselaar RJ; Alf-One Study Group. Sexual dysfunction in 1,274 European men suffering from lower urinary tract symptoms. *J Urol.* 2003;169(6):2257-61.

#### 4. No se indica el nombre del autor

21st century heart solution may have a sting in the tail. *BMJ.* 2002;325(7357):184.

#### 5. Artículo en idioma extranjero (2)

(Nota: La NLM traduce el título al inglés, lo encierra entre corchetes y le agrega la abreviatura correspondiente al idioma original.)

Ellingsen AE, Wilhelmsen I. Sykdomsangst blant medisiner- og jusstudenter. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2002;122(8):785-7.

#### 6. Suplemento de un volumen

Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache.* 2002;42 Suppl 2:S93-9.

#### 7. Suplemento de un número

Glauser TA. Integrating clinical trial data into clinical practice. *Neurology.* 2002;58(12 Suppl 7):S6-12.

---

(2) Evidentemente "extranjero" se entiende aquí en relación con el idioma inglés, pues los ejemplos de referencia bibliográfica se han trasladado directamente del original, sin adaptarlos (Ndel T).

8. *Parte de un volumen*

Abend SM, Kulish N. The psychoanalytic method from an epistemological viewpoint. *Int J Psychoanal.* 2002;83(Pt 2):491-5.

9. *Parte de un número*

Ahrar K, Madoff DC, Gupta S, Wallace MJ, Price RE, Wright KC. Development of a large animal model for lung tumors. *J Vasc Interv Radiol.* 2002;13(9 Pt 1):923-8.

10. *Número sin volumen*

Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop.* 2002;(401):230-8.

11. *Sin número ni volumen*

Outreach: bringing HIV-positive individuals into care. *HRSA Careaction.* 2002 Jun:1-6.

12. *Paginación en números romanos*

Chadwick R, Schuklenk U. The politics of ethical consensus finding. *Bioethics.* 2002;16(2):iii-v.

13. *Indicación del tipo de artículo cuando sea necesario*

Tor M, Turker H. International approaches to the prescription of long-term oxygen therapy [letter]. *Eur Respir J.* 2002;20(1):242.  
Lofwall MR, Strain EC, Brooner RK, Kindbom KA, Bigelow GE. Characteristics of older methadone maintenance (MM) patients [abstract]. *Drug Alcohol Depend.* 2002;66 Suppl 1:S105.

14. *Artículo que contiene una retractación*

Feifel D, Moutier CY, Perry W. Safety and tolerability of a rapidly escalating dose-loading regimen for risperidone. *J Clin Psychiatry.* 2002;63(2):169. Retraction of: Feifel D, Moutier CY, Perry W. *J Clin Psychiatry.* 2000;61(12):909-11.

15. *Artículo retirado por retractación*

Feifel D, Moutier CY, Perry W. Safety and tolerability of a rapidly escalating dose-loading regimen for risperidone. *J Clin Psychiatry.* 2000;61(12):909-11. Retraction in: Feifel D, Moutier CY, Perry W. *J Clin Psychiatry.* 2002;63(2):169.

16. *Artículo reeditado con correcciones*

Mansharamani M, Chilton BS. The reproductive importance of P-type ATPases. *Mol Cell Endocrinol.* 2002;188(1-2):22-5. Corrected and republished from: *Mol Cell Endocrinol.* 2001;183(1-2):123-6.

17. *Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas*

Malinowski JM, Bolesta S. Rosiglitazone in the treatment of type 2 diabetes mellitus: a critical review. *Clin Ther.* 2000;22(10):1151-68;

discussion 1149-50. Erratum in: *Clin Ther* 2001;23(2):309.

18. *Artículo publicado en formato electrónico antes que en versión impresa*

Yu WM, Hawley TS, Hawley RG, Qu CK. Immortalization of yolk sac-derived precursor cells. *Blood.* 2002 Nov 15;100(10):3828-31. Epub 2002 Jul 5.

**Libros y otras monografías**19. *Autores individuales*

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaffler MA. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

20. *Directores ("editores"), compiladores como autores*

Gilstrap LC 3rd, Cunningham FG, VanDorsten JP, editors. *Operative obstetrics.* 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2002..

21. *Autor (es) y editor (es)*

Breedlove GK, Schorfheide AM. Adolescent pregnancy. 2nd ed. Wiczorek RR, editor. White Plains (NY): March of Dimes Education Services; 2001.

22. *Organización (es) como autor*

Royal Adelaide Hospital; University of Adelaide, Department of Clinical Nursing. *Compendium of nursing research and practice development, 1999-2000.* Adelaide (Australia): Adelaide University; 2001.

23. *Capítulo de libro*

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

24. *Actas de conferencias*

Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editors. *Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15; Leeds, UK.* New York: Springer; 2002.

25. *Ponencia presentada en una conferencia*

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editors. *Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland.* Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

26. *Informe científico o técnico*

Publicado por la institución financiadora o patrocinadora:  
Yen GG (Oklahoma State University, School of Electrical and Com-

puter Engineering, Stillwater, OK). Health monitoring on vibration signatures. Final report. Arlington (VA): Air Force Office of Scientific Research (US), Air Force Research Laboratory; 2002 Feb. Report No.: AFRLSRBLTR020123. Contract No.: F496209810049.

Publicado por la institución ejecutora:

Russell ML, Goth-Goldstein R, Apte MG, Fisk WJ. Method for measuring the size distribution of airborne Rhinovirus. Berkeley (CA): Lawrence Berkeley National Laboratory, Environmental Energy Technologies Division; 2002 Jan. Report No.: LBNL49574. Contract No.: DEAC0376SF00098. Sponsored by the Department of Energy.

#### 27 Tesis

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

#### 28. Patente

Pagedas AC, inventor; Ancel Surgical R&D Inc., assignee. Flexible endoscopic grasping and cutting device and positioning tool assembly. United States patent US 20020103498. 2002 Aug 1.

#### Otros tipos de publicaciones

#### 29. Artículo de periódico

Tynan T. Medical improvements lower homicide rate: study sees drop in assault rate. The Washington Post. 2002 Aug 12;Sect. A:2 (col. 4).

#### 30. Material audiovisual

Chason KW, Sallustio S. Hospital preparedness for bioterrorism [videocassette]. Secaucus (NJ): Network for Continuing Medical Education; 2002.

#### 31. Documentos legales

Ley pública:

Veterans Hearing Loss Compensation Act of 2002, Pub. L. No. 107-9, 115 Stat. 11 (May 24, 2001).

Proyecto de ley sin sancionar:

Healthy Children Learn Act, S. 1012, 107th Cong., 1st Sess. (2001).

Código de normas federales:

Cardiopulmonary Bypass Intracardiac Suction Control, 21 C.F.R. Sect. 870.4430 (2002).

Jurisprudencia:

Arsenic in Drinking Water: An Update on the Science, Benefits and Cost: Hearing Before the Subcomm. on Environment, Technology and Standards of the House Comm. on Science, 107th Cong., 1st Sess. (Oct. 4, 2001).

#### 32. Mapa

Pratt B, Flick P, Vynne C, cartographers. Biodiversity hotspots [map]. Washington: Conservation International; 2000.

#### 33. Diccionarios y similares

Dorland's illustrated medical dictionary. 29th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000. Filamin; p. 675.

#### Trabajos inéditos

#### 34. En prensa

(Nota: La NLM prefiere referirse a estos trabajos como «en preparación» [forthcoming] porque no todos tienen garantizada su publicación).

Tian D, Araki H, Stahl E, Bergelson J, Kreitman M. Signature of balancing selection in Arabidopsis. Proc Natl Acad Sci U S A. In press 2002.

#### Material en soporte electrónico

#### 35. CD-ROM

Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

#### 36. Artículo de revista en Internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

#### 37. Monografía en Internet

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [monograph on the Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>.

#### 38. Página principal en un sitio Web

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

#### 39. Página Web en un sitio Web

American Medical Association [homepage on the Internet]. Chicago: The Association; c1995-2002 [updated 2001 Aug 23; cited 2002 Aug 12]. AMA Office of Group Practice Liaison; [about 2 screens]. Available from: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

**40. Base de datos en Internet****Base de datos abierta:**

Who's Certified [database on the Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from: <http://www.abms.org/newsearch.asp>

**Base de datos cerrada:**

Jablonski S. Online Multiple Congenital Anomaly/Mental Retardation (MCA/MR) Syndromes [database on the Internet]. Bethesda

(MD): National Library of Medicine (US). c1999 [updated 2001 Nov 20; cited 2002 Aug 12]. Available from: [http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome\\_title.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome_title.html)

**41. Parte de una base de datos en Internet**

MeSH Browser [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2002 - [cited 2003 Jun 10]. Meta-analysis; unique ID: D015201; [about 3 p.]. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> Files updated weekly. Updated June 15, 2005



La Sociedad  
Latinoamericana  
de Nutrición invita  
a participar en el

Categorías y Premios:

**PROFESIONAL**

EU \$6,000.00

Placa para el primer autor  
y diplomas para los  
coautores.

**ESTUDIANTE**

EU \$3,000.00

Placa para el primer autor  
y diplomas para los  
coautores.



4<sup>to.</sup> Premio  
Latinoamericano  
*Kellogg's*

de Investigación  
en Alimentación y Nutrición Humana

Fecha límite de entrega:  
**30 de junio del 2006**

El premio se entregará durante el  
**XIV Congreso de la Sociedad  
Latinoamericana de Nutrición** a celebrarse del 12  
al 16 de noviembre del 2006 en Florianópolis,  
Santa Catarina, Brasil.

Reconocidos especialistas en nutrición humana:

Dr. Helio Vanuchi  
Dr. Adolfo Chávez  
Dr. Ricardo Uauy  
Dr. Fernando Viteri  
Dr. Eduardo Atalah

Para consultar las bases del premio y  
recepción electrónica de los mismos hasta el  
30 de marzo del 2006:

<http://www.slanbrasil.org>  
<http://www.kelloggs-nutricion.com.mx>



**14° CLN**  
Congreso Latinoamericano  
de Nutrición noviembre 2006



**SLAN**  
Sociedad Latinoamericana  
de Nutrición



Nutrición que dá salud a tu vida



**nutrition 2006**  **Barcelona**

**28-30  
Sept.  
2006!**

**¡Resérvate los días!  
Save the date!**

# I World Congress of Public Health Nutrition

## VII Congreso de la SENC

**Barcelona, Spain  
September 28-30, 2006**



### 2nd newsletter!!

Organized by the Spanish Society of Community Nutrition  
and the International Union of Nutritional Sciences

[www.nutrition2006.com](http://www.nutrition2006.com)

Organizado por la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria  
y la Unión Internacional de Ciencias de la Nutrición

SENC and IUNS are pleased to invite you to participate in the I World Congress of Public Health Nutrition & the VII Congress of the Spanish Society of Community Nutrition, which will be held at the International Convention Centre of Barcelona from the 28th to the 30th of September.

The **scientific programme** is available on the web site, [www.nutrition2006.com](http://www.nutrition2006.com), where you can find all the information about the sessions, roundtables and symposiums that will take place during the Conference.

Previously, simultaneous Pre-Congress Workshops will be held in different cities of Catalonia:

**Reus. 26-27 September.**  
**Métodos epidemiológicos en la estimación del consumo alimentario** (Spanish)

**Sitges. 25-27 September.**  
**Functional foods** (English)

**Figueres. 25-27 September.**  
**Migración y minorías, superando barreras culturales** (Spanish)

**Barcelona. 27 September.**  
**Satellite on Nutritional Anemia** (English)

We anticipate that the Congress will be of interest to you and we encourage you to submit abstracts for oral communications or posters. The abstract submission form as well as the registration and accommodation forms and also all the information about scholarships are available on the web site.

La SENC y la IUNS tienen el placer de invitarle a participar en el I Congreso Mundial de Nutrición y Salud Pública y VII de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, que se celebrará en el Centro de Convenciones Internacional de Barcelona del 28 al 30 de Septiembre.

El **programa científico** del Congreso está disponible en la página web del evento, [www.nutrition2006.com](http://www.nutrition2006.com), donde encontrará más información acerca de las sesiones, mesas redondas y simposios que se desarrollarán

Los días previos al Congreso tendrán lugar, en diferentes ciudades catalanas y de forma simultánea, los siguientes workshops pre-Congreso:

**Reus, 26-27 Septiembre.**  
**Métodos epidemiológicos en la estimación del consumo alimentario** (Español)

**Sitges, 25-27 Septiembre.**  
**Functional foods** (Inglés)

**Figueres, 25-27 Septiembre.**  
**Migración y minorías, superando barreras culturales** (Español)

**Barcelona, 27 Septiembre.**  
**Satellite on Nutritional Anemia** (Inglés)

Así pues, esperamos que los contenidos del Congreso sean de su interés y le animamos a participar activamente enviando sus comunicaciones. Los formularios de envío de las mismas, así como los de inscripción, alojamiento e información sobre becas, también se encuentran disponibles en la página web.

#### Important dates

31 May, 2006 - **Deadline early registration**  
31 May, 2006 - **Deadline for abstract submission**  
15 July, 2006 - **Deadline for pre-congress workshop registration**  
10 September, 2006 - **Deadline for congress-on line registration**  
25-27 September, 2006 - **Pre-Congress workshops**  
28-30 September, 2006 - **Congress**

#### Fechas importantes

31 Mayo, 2006 - **Fecha límite inscripción económica**  
31 Mayo, 2006 - **Fecha límite recepción de comunicaciones**  
15 Julio, 2006 - **Fecha límite de inscripción a los workshops pre-Congreso**  
10 Septiembre, 2006 - **Fecha límite de inscripción al Congreso a través de la página web**  
25-27 Septiembre, 2006 - **Workshops pre-Congreso**  
28-30 Septiembre, 2006 - **Congreso**

Further information can be obtained by contacting the Congress Secretariat ([nutrition2006@reunionsciencia.es](mailto:nutrition2006@reunionsciencia.es)) or visiting our website at

[www.nutrition2006.com](http://www.nutrition2006.com)

*See you in Barcelona. Nutrition 2006!*

Para más información puede contactar con la Secretaría Técnica ([nutrition2006@reunionsciencia.es](mailto:nutrition2006@reunionsciencia.es)) o visitar nuestra página web

[www.nutrition2006.com](http://www.nutrition2006.com)

*Nos vemos en Barcelona. Nutrition 2006!*

**Lluís Serra-Majem, MD, PhD**  
Congress President

# Sociedad Latino Americana de Nutrición

## S.L.A.N.

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada con el fin de integrar los esfuerzos de profesionales calificados para promover y mejorar el conocimiento de los problemas nutricionales de los países de la región y de las alternativas de prevención y tratamiento que ofrece la nutrición como ciencia.

Cualquier persona que se encuentre profesionalmente activa o que haya contribuido de manera significativa al avance de la nutrición o disciplinas afines, puede asociarse a SLAN, para lo cual debe enviar una carta de solicitud avalada por dos Socios Activos y su Curriculum actualizado. Debe igualmente anexar la documentación que pruebe la publicación de por lo menos, dos trabajos, en revistas de nivel internacional en los últimos años.

La solicitud debe dirigirse a la Presidencia de la SLAN en Ribeirao Preto, Brasil o a los Capítulos de la SLAN en los respectivos países. El actual Consejo Directivo de la SLAN está integrado por Helio Vannucchi (Presidente), Eduardo Atalah Samur (Vicepresidente), Julio Sergio Marchini (Secretario General), Pedro Eder Portari Filho (Tesorero) y Adolfo Chávez Villasana (Presidente Saliente).

El órgano oficial de la divulgación de la SLAN es "Archivos Latinoamericanos de Nutrición", ALAN, continuación de "Archivos Venezolanos de Nutrición". Los manuscritos para considerar su publicación deben ser dirigidos al Editor General José Félix Chávez Pérez o al Editor Asociado Maritza L. de Jiménez.

Los socios deben cancelar una cuota anual de U.S. \$ 40, la cual incluye la suscripción a la revista.

La correspondencia destinada a la SLAN debe dirigirse a Helio Vannucchi, Facultad de Medicina de Ribeirao Preto, Universidad de Sao Paulo, Ave Bandeirantes 3.900, CEP 14049-900, Ribeirao Preto, SP, Brasil. La destinada a ALAN, se dirigirá a la dirección de la revista que figura en la primera contraportada o a su dirección electrónica: alanven04@hotmail.com

¿CAMBIO DE DOMICILIO?

¿CHANGING YOUR ADDRESS?

Por favor, escriba su dirección abajo y envíela al Departamento de Suscripciones de ALAN, adjuntando la etiqueta de un sobre de envío. Le rogamos avisarnos con 60 días de anticipación./  
**Please print your new address below and return to the Journal Subscription Dept. with our label. Please advise 60 days in advance.**

Nombre/Name:

Calle/Street:

Ciudad/City:

Estado, País/State, Country:

Código Postal/Postal Code:

Por favor enviar ALAN a mi nueva dirección a partir de/ **Date new address effective:**

# Sociedad Latino Americana de Nutrición

## S.L.A.N.

### SOLICITUD DE INSCRIPCION

Nombre: _____		
Título Profesional: _____		
Estudios de Postgrado: _____		
Cargo: _____		
Institución donde trabaja: _____		
Dirección: _____		
Código Postal: _____	Ciudad/País: _____	
Teléfono: _____	Fax: _____	Correo electrónico: _____
Fecha de solicitud:     /     /		
<b>Anote las referencias bibliográficas de dos de sus publicaciones más recientes</b>		
1. _____ _____		
2. _____ _____		
<b>Socios de SLAN que le postulan</b>		
Nombre:		Firma:
_____		_____
_____		_____

Adjunte su Curriculum Vitae actualizado.

**Artes Finales:** Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela  
Teléfono (02) 993.81.43

**Portada:** Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela  
Teléfono (02) 285.55.29

**Impresión:** Editorial Texto C.A., Caracas, Venezuela  
Teléfonos: (02) 632.97.17 - 632.74.86

## LA SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION (SLAN)

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada el 10 de Noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental. El actual Consejo Directivo de la SLAN (2004-2006) está constituido por los siguientes miembros:

Presidente  
Vicepresidente (Presidente Electo)  
Secretario General  
Tesorero  
Presidente Saliente

Helio Vannucchi  
Eduardo Atalah S.  
Julio Sergio Marchini  
Pedro Eder Portari Filho  
Adolfo Chávez Villasana

## DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Editor General  
Editor Asociado

José Félix Chávez Pérez  
Maritza L. de Jiménez

## COMITE EDITORIAL. PERIODO 2004-2006

María Nieves García Casal  
Omar E. García Ochoa  
Elizabeth Dini Golding  
Betty Méndez Pérez

Fanny C. de Padilla  
Elba Sangronis  
Juscelino Tovar

## MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL. PERIODO 2004-2006

Juan de Dios Alvarado - Ecuador  
Hugo Amigo A. - Chile  
Héctor Araya - Chile  
María Laura Arias E. - Costa Rica  
Guillermo Arroyave - E.E.U.U.  
José María Bengoa- Venezuela  
Adriana Blanco M. - Costa Rica  
Odilia Bermudez - E.E.U.U.  
Héctor Bourges R. - México  
Erick Boy - E.E.U.U.  
Josefina Bressan R. - Brasil  
Ricardo Bressani - Guatemala  
Jesús Bulux - Guatemala  
Ana M. Calderón de la Barca - México  
Esther Casanueva - México  
Germán Camejo - Venezuela  
Eduardo S. Castro Montero - Chile  
Louella Cunningham - Costa Rica  
Juan Ignacio Egaña - Chile  
Patricia R. de Ferrer - Argentina  
Carlos A. Grandi - Argentina  
Marisa Guerra M. - Venezuela  
Werner G. Jaffé - Venezuela  
Gladys Henríquez P. - Venezuela  
Pilar Hernández S. - Venezuela  
Eva Hertrampf - Chile  
Patricio Hevia Opazo - Venezuela  
Ileana Holst Schumacher - Costa Rica  
Marta Kaufer-Horwitz - México

Franco M. Lajolo - Brasil  
Luis López Valladares - Chile  
María L.P. Martín de Portela - Argentina  
Lilia Masson Salaué - Chile  
Josefina Morales de León - México  
Valdir Augusto Neves - Brasil  
Rosa María Ortega A. - España  
Saturnino de Pablo - Chile  
Ingrid R. de Paoli - Venezuela  
Nelly Pak - Chile  
Emma W. de Penna - Chile  
María Ester Ríó - Argentina  
Delia Rodríguez-Amaya - Brasil  
Manuel Ruz - Chile  
María Elena Sambucetti - Argentina  
Teresa Shamah Levi - México  
Nilson E. de Sousa - Brasil  
Nora Slobodianik - Argentina  
Liseti Solano R. - Venezuela  
Noel W. Solomons- E.E.U.U.  
Coromoto M. Tomei - Venezuela  
Armando Tovar - Chile  
Luiz C. Trugo - Brasil  
Macarena Urestarazu Devincenzi - Brasil  
Mirtha E. Valencia - Argentina  
Mauro Valencia J. - México  
Mario Villarroel T. - Chile  
Enrique Yáñez S. - Chile  
Liliana Zago - Argentina

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Volumen 56. N° 2, Junio 2006

## Contenido

	Páginas
<b>ARTICULOS GENERALES</b>	
<b>El fruto de la acerola: composición, características productivas e importancia económica</b> Tatiana Mezadri, M <sup>a</sup> Soledad Fernández-Pachón, Débora Villaño, M <sup>a</sup> Carmen García-Parrilla, Ana M Troncoso .....	101
<b>Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i> del vino y valoración de sus efectos <i>in vivo</i></b> M <sup>a</sup> Soledad Fernández-Pachón, Débora Villaño, Ana M <sup>a</sup> Troncoso y M <sup>a</sup> Carmen García-Parrilla .....	110
<b>Ácido linoléico conjugado (CLA) e sua relação com a doença cardiovascular e os fatores de risco associados</b> Letícia Groff Funck, Daniel Barrera-Arellano y Jane Mara Block .....	123
<b>TRABAJOS DE INVESTIGACION</b>	
<b>Nutrición Humana</b>	
<b>Vitamina B<sub>12</sub> y folato en adultos mayores urbanos no institucionalizados</b> Abraham Ramírez Pereda, Bertha I. Pacheco, Humberto Astiazarán-García, Julián Esparza-Romero y Heliodoro Alemán-Mateo .....	135
<b>Bioquímica Nutricional</b>	
<b>Índice de Masa Corporal al comienzo del embarazo en un grupo de gestantes venezolanas de bajo estrato socioeconómico y su relación con la antropometría de sus recién nacidos</b> Armando Sánchez Jaeger, Sara Irene Del Real Vargas, Liseti Solano Rodríguez, Evelyn Peña Perdomo y María Adela Barón..	141
<b>Efeito de um novo produto fermentado de soja, enriquecido com isoflavonas e cálcio, sobre o tecido ósseo de ratas</b> Raquel Bedani, Elizeu Antonio Rossi, José Salvador Lepera, Charles Chenwei Wang, Graciela Font de Valdez .....	146
<b>Nutrición y Salud Pública</b>	
<b>Contribuição da semiologia para o diagnóstico nutricional de pacientes hospitalizados</b> Marcia Naim Nehme, Maria Eugenia Vieira Martins, Vanessa Lourenço Chaia y Eliane Moreira Vaz .....	153
<b>Edad de la menarquia en adolescentes del noroeste de México</b> Rosa Olivia Méndez Estrada, Mauro E. Valencia y Juana María Meléndez Torres .....	160
<b>Nutrición y Obesidad</b>	
<b>Patrones alimentarios y su relación con sobrepeso y obesidad en niñas chilenas de nivel socioeconómico medio alto</b> Lydia Lera Marqués, Sonia Olivares Cortés, Bárbara Leyton Dinamarca, Nelly Bustos Zapata .....	165
<b>Microbiología de Alimentos</b>	
<b>Comparación del perfil de sensibilidad a antibióticos de cepas de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i> spp. aisladas a partir de alimentos con cepas de origen clínico</b> Juan Manuel Zamora, Carolina Chaves y María Laura Arias .....	171
<b>Ciencia de Alimentos</b>	
<b>Efecto de diversos tratamientos en la cocción del frijol <i>Mucuna</i> sobre el contenido de L-Dopa</b> Carmen Luz García Echeverría y Ricardo Bressani.....	175
<b>Tecnología de Alimentos</b>	
<b>Desarrollo de una formulación optimizada de mousse de linaza (<i>Linum usitatissimum</i>)</b> Mario Villarroel, Lucía Pino, Julia Hazbún.....	185
<b>FE DE ERRATAS</b> .....	192
<b>INFORMACION PARA LOS AUTORES</b> .....	193