

ALAN

Volumen 55. N° 1. Marzo 2005

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

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 55

MARZO 2005

Nº 1

Contenido

	Páginas
ARTICULOS GENERALES	
Estimación de la ingesta y necesidades de enriquecimiento de folatos y ácido fólico en alimentos Ana Belén Olivares Martínez, Gaspar Ros Berruezo, M ^a José Bernal Cava, Carmen Martínez Graciá y M ^a Jesús Periago Castón	5
Nutritional status of endurance athletes: what is the available information? Júlia A. D. Nogueira, Teresa H. M. Da Costa	15
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Experimental	
Effect of a rice bran fiber diet on serum glucose levels of diabetic patients in Brazil Cécilia Rodrigues Silva, José Eduardo Dutra de Oliveira, Rui Augusto Hudari Gonçalves de Souza, Hugo Candido Silva	23
Efecto de la suplementación con las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico en los niveles de homocisteína y lípidos plasmáticos en pacientes con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV Alba Rosa Morón de Salim y Antonio Garcés Pasamontes	28
La diarrea inducida con lactosa estimula la condición oxidativa y es más severa en ratas deficientes en vitamina E Graciela Dellán, Diamela Carías, Anna M. Cioccia, Eduardo González y Patricio Hevia	34

Bioquímica Nutricional

Efectividad del índice de masa corporal en el diagnóstico nutricional de gestantes Ingrid Rached-Paoli, Gladys Henríquez-Pérez, Arelis Azuaje-Sánchez	42
---	----

Leptina sérica en niños y adolescentes venezolanos obesos y eutróficos Miguel Eduardo Viso González, Liseti Solano R., Armando Sánchez, Zulay Portillo, Daisy Llovera	47
---	----

Prácticas de Alimentación

Creencias maternas, prácticas de alimentación y estado nutricional en niños Afro-Colombianos Beatriz Eugenia Alvarado, Rosa Elizabeth Tabares, Helene Delisle, Maria-Victoria Zunzunegui	55
--	----

Consumo de Alimentos

Consumo de leguminosas en el departamento de Santander. Colombia. 2000-2003 Gloria E. Prada, Adriana Soto, Oscar F. Herrán	64
--	----

Nutrición y Tercera Edad

Alta prevalencia de la desnutrición en ancianos españoles ingresados en un hospital general y factores asociados M ^a Jesús Gómez Ramos, Fco. Miguel González Valverde	71
--	----

Ciencia de Alimentos

Un estudio transcultural de yogurt batido de fresa: aceptabilidad con consumidores versus calidad sensorial con paneles entrenados Emma Wittig de Penna, Ana Curia, Sandra Calderón, Luis López, Regina Fuenzalida, Guillermo Hough	77
---	----

Effect of storage time on <i>in vitro</i> digestion rate and resistant starch content of tortillas elaborated from commercial corn masas Edith Agama-Acevedo, Rodolfo Rendón-Villalobos, Juscelino Tovar, Sergio Rubén Trejo-Estrada and Luis Arturo Bello-Pérez	86
--	----

LatinFood. Composición de Alimentos

Caracterización sensorial y química de la calidad de té (<i>Thea sinensis</i>) consumidos en Chile Emma Wittig de Penna, María José Zúñiga, Regina Fuenzalida, Reinaldo López-Planes	93
--	----

INFORMACION PARA LOS AUTORES	101
---	-----

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 55

MARCH 2005

Nº 1

Contents

Pages

GENERAL ARTICLES

Folate and folic acid intake estimation and food enrichment requirements

Ana Belén Olivares Martínez, Gaspar Ros Berruezo, M^a José Bernal Cava, Carmen Martínez Graciá and M^a Jesús Periago Castón..... 5

Nutritional status of endurance athletes: what is the available information?

Júlia A. D. Nogueira, Teresa H. M. Da Costa 15

RESEARCH PAPERS

Experimental Nutrition

Effect of a rice bran fiber diet on serum glucose levels of diabetic patients in Brazil

Cecilia Rodrigues Silva, José Eduardo Dutra de Oliveira, Rui Augusto Hudari Gonçalves de Souza, Hugo Candido Silva 23

Effect of the supplementation of vitamins B₁₂, B₆ and folic acid on homocysteine and plasmatic lipids in patients with hyperlipoproteinemic secondary type IV

Alba Rosa Morón de Salim y Antonio Garcés Pasamontes 28

Lactose-induced diarrhea increases oxidative stress and it is more severe in rats deficient in vitamin E

Graciela Dellán, Diamela Carías, Anna M. Cioccia, Eduardo González and Patricio Hevia 34

Nutritional Biochemistry

Effectiveness of body mass index in the nutritional diagnosis of pregnant women

Ingrid Rached-Paoli, Gladys Henriquez-Pérez, Arelis Azuaje-Sánchez 42

Serum leptin in eutrophic and overweight Venezuelan children and adolescents

Miguel Eduardo Viso González, Liseti Solano R., Armando Sánchez, Zulay Portillo, Daisy Llovera 47

Feeding Practices

Maternal beliefs, feeding practices and nutritional status in Afro-Colombian infants

Beatriz Eugenia Alvarado, Rosa Elizabeth Tabares, Helene Delisle, Maria-Victoria Zunzunegui 55

Food Consumption

Intake of leguminous in the county of Santander. Colombia. 2000-2003

Gloria E. Prada, Adriana Soto, Oscar F. Herrán 64

Nutrition and the Elderly

High prevalence of undernutrition in Spanish elders admitted to a general hospital and associated factors

M^a Jesús Gómez Ramos, Fco. Miguel González Valverde 71

Food Science

A transcultural study on stirred strawberry yogurt: Consumer acceptability versus sensory quality with trained panel

Emma Wittig de Penna, Ana Curia, Sandra Calderón, Luis López, Regina Fuenzalida, Guillermo Hough 77

Effect of storage time on *in vitro* digestion rate and resistant starch content of tortillas elaborated from commercial corn masas

Edith Agama-Acevedo, Rodolfo Rendón-Villalobos, Juscelino Tovar, Sergio Rubén Trejo-Estrada and Luis Arturo Bello-Pérez 86

LatinFood. Food Composition

Chemical and sensory characterization of tea (*Thea sinensis*) consumed in Chile

Emma Wittig de Penna, María José Zúñiga, Regina Fuenzalida, Reinaldo López-Planes 93

INFORMATION FOR AUTHORS 101

Estimación de la ingesta y necesidades de enriquecimiento de folatos y ácido fólico en alimentos

Ana Belén Olivares Martínez, Gaspar Ros Berruero, M^a José Bernal Cava, Carmen Martínez Graciá y M^a Jesús Perigo Castón

Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo, Murcia, España

RESUMEN. El término "folato" se utiliza de forma genérica para denominar las distintas formas químicas derivadas del ácido fólico, una de las vitaminas del grupo B (concretamente la vitamina B₉). Son esenciales en el metabolismo al actuar como cofactores en las reacciones de transferencia de un carbono. No obstante, solamente las plantas y los microorganismos son capaces de sintetizarlos de novo, de tal forma que tanto los animales como el hombre necesitan ingerirlos a través de los alimentos de la dieta. Se encuentra ampliamente extendido en la naturaleza, presentándose en mayor cantidad en las verduras de hoja ancha, en hígado y en cereales. Aún así, en la actualidad es una de las deficiencias nutricionales más comunes en todo el mundo, y tiene graves consecuencias sobre la salud humana. Existe evidencia de que incluso en países desarrollados la ingesta de folatos es generalmente baja, e incluso en algunos casos por debajo de los niveles óptimos. Las autoridades competentes de numerosos países están tomando medidas a este respecto, de tal forma que se está realizando la fortificación de numerosos alimentos considerados de consumo diario, tales como leche o cereales, ya sea de forma obligatoria (Estados Unidos, Canadá o Chile) o voluntaria (la mayoría de los países de Europa).

Palabras clave: Folatos, ácido fólico, mono y poliglutamatos, conjugasa, ingesta de folatos, biodisponibilidad de folatos, enriquecimiento de alimentos.

SUMMARY. Folate and folic acid intake estimation and food enrichment requirements. The term "folate" is a generic way to name the different forms derived from folic acid, one of the B vitamins (specifically B₉ vitamin). They are essential in the metabolism when they act as cofactors in the transfer reactions of one carbon. However, only plants and microorganisms are able to synthesize them *de novo*, in such a way that both animals and human beings have to intake them through their diet. Folic acid is widely spread in nature, mainly in vegetables, liver and cereals. However, nowadays, the lack of folates in the diet is one of the most common nutritional deficiencies in the world, and it has serious consequences on human health. There is evidence that even in developed countries folate intake is usually low; and even, in some cases, below optimal levels. The authorities in several countries have adapted different norms related to folic acid, fortifying staple food such as dairy products or cereals, mandatory (USA, Canada or Chile) or voluntary (most of the European countries).

Key words: Folates, folic acid, mono and poliglutamates, conjugase, folates intake, folate bioavailability, food enrichment.

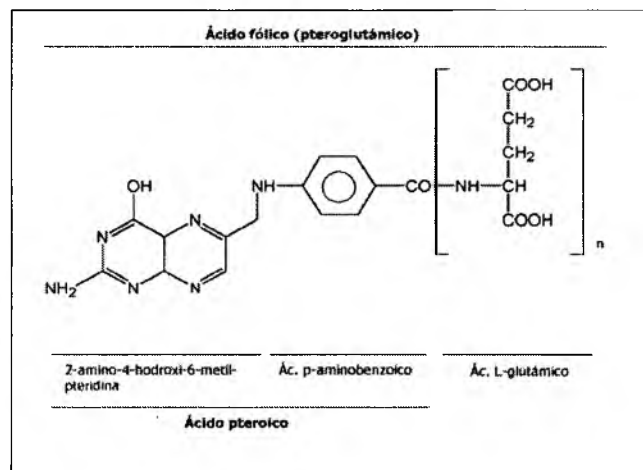
INTRODUCCION

Folato es un término que se ha utilizado de forma genérica para denominar a los compuestos derivados del ácido fólico o ácido pteroilmonoglutámico que exhiben la actividad biológica del ácido fólico. Los folatos son un grupo de compuestos heterocíclicos basados en el esqueleto de ácido 4-((pteridin-6-metil amino) benzoico) (Pte o grupo pteroil) conjugado con uno o más residuos de ácido L-glutámico (Glu) (Figura 1). Estos mono o poli- γ -glutamilconjugados son nombrados por el número de residuos glutamilo (n) según la fórmula PteGlu_n (1, 2). La molécula de ácido fólico con el anillo de pteridina completamente oxidado no está presente en la naturaleza en cantidades significativas, aunque es la estructura más estable y, por tanto, la forma sintética utilizada en la elaboración de alimentos enriquecidos (3).

Las formas naturales de folatos difieren en la longitud y estado de reducción del grupo pteroil, la naturaleza de los sustituyentes en el anillo de pteridina y el número de residuos glutamato unidos al grupo pteroil. Las formas naturales más abundantes son los pteroilpoliglutamatos que contienen entre dos y siete glutamatos ligados por uniones amida (péptidos) al grupo gamma-carboxilo. Estos folatos naturales incluyen 5-metiltetrahydrofolato (5-MTHF), 5-formiltetrahydrofolato (5-formil-THF), 10-formiltetrahydrofolato (10-formil-THF), 5, 10-metiltetrahydrofolato (5,10-metilen-THF), 5,10-metentetrahydrofolato (5,10-metenil-THF), 5-forminotetrahydrofolato (5-forminino-THF), 5, 6, 7, 8-tetrahydrofolato y dihydrofolato (DHF). Durante el metabolismo de los folatos se produce la reducción del anillo de pirazina de la molécula de pteridina hasta la forma tetrahydro, y también se produce la elongación de la cadena

por la adición de residuos de glutamato en unión gamma-péptido, y la adquisición y oxidación o reducción de un carbono unido a las posiciones N-5 y o N-10.

FIGURA 1
Estructura del ácido pteroilglutámico



La función que realizan los folatos es a nivel coenzimático como receptores y donantes de unidades monocarbono en reacciones que forman parte del metabolismo de nucleótidos y aminoácidos. Debido a la importancia de su función, es necesario su correcto aporte a través de la dieta, ya que los mamíferos carecen de la habilidad de sintetizarlos *de novo*. No obstante, los folatos se encuentran en gran número de alimentos siendo las verduras, hortalizas y cereales los que presentan un mayor contenido. Sin embargo, es característica de los folatos su inestabilidad, de tal forma que las formas reducidas son menos estables que el ácido fólico sintético, y además su inestabilidad varía con la sustitución de la unidad monocarbono. Todas las formas derivadas son sensibles a la oxidación, a la luz y a las variaciones de pH, de tal forma que se producen grandes pérdidas de folatos durante los procesos de preparación de los alimentos, sobre todo cuando conllevan tratamientos térmicos, y se realizan bajo condiciones oxidativas (4). También tienen lugar pérdidas de folatos por lixiviación al agua de cocción durante la preparación de alimentos, incluso se producen pérdidas durante el almacenamiento de los alimentos donde tiene lugar la hidrólisis de los derivados poliglutámicos hasta monoglutamatos, transformación que puede continuar durante la fase posterior de preparación de los alimentos. Por ello, a pesar de su amplia distribución en los alimentos, todavía se presentan casos, si no de carencia, si de bajos niveles de folatos en la dieta, lo que es necesario corregir preferentemente en los denominados grupos de riesgo como embarazadas, lactantes o ancianos. De ahí el actual interés de enriquecer diversos alimentos de los considerados

de consumo diario, tales como leche y productos lácteos o cereales, con ácido fólico en su forma sintética.

Absorción y metabolismo

Los folatos presentes en los alimentos de forma natural pueden estar tanto en forma poliglutámica como monoglutámica, pero las formas predominantes son los derivados poliglutamatos, ya que se ha estimado que alrededor de un 80% de los folatos naturales están presentes en la forma poliglutámica (5). Estas formas no son capaces de atravesar la mucosa intestinal, por lo que deben ser hidrolizados hasta monoglutamatos para poder ser absorbidos. Esta transformación está catalizada por la enzima γ -glutamihidrolasa, localizada en el borde apical de las microvellosidades de la mucosa yeyunal. El papel biológico de la cadena poliglutamil no ha sido aclarado todavía. Se afirma que los folipoliglutamatos son la forma intracelular coenzimáticamente activa, y que los monoglutamatos, capaces de atravesar la mucosa, son las formas de transporte (2,6). El ácido fólico sintético procedente de alimentos enriquecidos o preparados farmacéuticos no necesita deconjugación y atraviesa la membrana mediante un proceso saturable, pH dependiente. Sin embargo, a elevadas concentraciones un proceso no saturable de difusión pasiva es el que contribuye a la absorción del ácido fólico (7,8). Previamente a su entrada en la circulación, el ácido fólico padece una reducción hasta tetrahidrofolato y una metilación o bien una formilación en las células de la mucosa. Esta reducción es más bien limitada por lo que cantidades significativas de ácido fólico son halladas en plasma y orina (9). Los poliglutamatos naturales, por su parte, necesitan de la reconjugación para penetrar en la mucosa intestinal. Aquí son convertidos en poliglutamatos por acción de una sintetasa folato-dependiente y tras esto son de nuevo hidrolizados intracelularmente hasta monoglutamatos (10). De esta forma pasan a la sangre, se incorporan a la circulación portal, y de ahí pasan al resto de tejidos (11) donde desempeñarán sus funciones.

Funciones

La función principal de los folatos en el metabolismo de todos los organismos es ser cofactor esencial en las reacciones de transferencia de unidades monocarbono, solo las plantas y los microorganismos son capaces de sintetizarlos.

Folatos en vegetales

La ruta de biosíntesis de folatos en la planta no está completamente definida, pero probablemente es similar a la que tiene lugar en microorganismos, que si es conocida. Lo que es característico de estas reacciones en la planta es su distribución, ya que tienen lugar en tres compartimentos celulares diferentes. En el citosol y los plástidos (peroxisoma) tienen lugar la formación de unidades de pteridina y

paraminobenzoatos los cuales serán posteriormente condensados, glutamilados y reducidos en la mitocondria para dar lugar a los tetrahidrofolatos (12). En las plantas los folatos están involucrados en una ruta muy específica: la fotorespiración. Esta es iniciada a nivel de la ribulosa 1, 5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco). Esta es una enzima cloroplástica bifuncional que cataliza ambos procesos, carboxilación y oxigenación de la ribulosa 1, 5 bifosfato (RuBP) (13,14). La reacción de carboxilación da lugar a la producción de dos moléculas de 3-fosfoglicerato, mientras que la reacción de oxigenación da lugar a una molécula de 3-fosfoglicerato y una molécula de 2-fosfoglicolato. Esta reacción de oxigenación es el primer evento de la ruta metabólica antes mencionada y llamada fotorespiración, que está asociada con la obtención de O_2 y la evolución del CO_2 . Este ciclo se considera como el reciclado de 2 moléculas de fosfoglicolato en 3-fosfoglicerato e involucra a tres partes diferentes de la célula: cloroplasto, peroxisoma y mitocondria. Los pasos clave en esta ruta tienen lugar en el interior de la mitocondria, donde la glicina es oxidada y convertida en serina a través de dos reacciones folato dependientes que están íntimamente conectadas. Estas dos reacciones son catalizadas por la serina hidroximetiltransferasa (SHMT) y el sistema de división de la glicina (GDC). En estas reacciones, GDC es el proveedor de metilentetrahydrofolato (CH_2-H_4FGLu) requerido para la actividad de la SHMT (15).

La biosíntesis de tetrahidrofolato debe estar perfectamente regulada con la finalidad de establecer una estrecha correspondencia entre producción y demanda del cofactor. Esto quiere decir que su síntesis depende de las necesidades requeridas en el metabolismo de unidades monocarbono (15). Considerando las rutas en las cuales el cofactor está involucrado (síntesis de ácidos nucleicos, y de aminoácidos como la metionina, glicina o serina) está claro que los tetrahidrofolatos son requeridos en los procesos de división celular, tanto en las plantas como en los microorganismos que son capaces de sintetizarlos de novo, así como en los animales cuando los asimilan a través de la dieta.

Folatos en animales

Al igual que en las plantas, en los animales la principal función de los folatos es ser portadores de unidades monocarbono, tales como grupos metil y formil (5). Son numerosos los procesos en los que los folatos desempeñan un papel fundamental para la salud humana. Cabe destacar la síntesis de ADN, donde los folatos actúan como coenzimas en la síntesis de timidilato y purinas. Otro de los procesos es la transferencia mediada por folatos de unidades monocarbono procedentes de la serina, la cual provee la mayor fuente de sustrato en el metabolismo de unidades monocarbono. Por último, intervienen en la conversión de homocisteína hasta metionina, reacción que requiere vitamina B12 como coenzima

y 5-metil tetrahidrofolato como sustrato. Esta reacción es muy importante porque supone la mayor fuente de metionina para la síntesis de S-adenosil-metionina que es un importante agente metilante in vivo (16).

Folatos y salud

La manifestación clínica clásica de deficiencia de folatos es la anemia megaloblástica (17,18), la cual es debida a la interrupción del ciclo del ADN, produciéndose una síntesis defectuosa del mismo y continuando la síntesis de ARN, dando lugar a un aumento de la masa y la maduración citoplasmática. Se forman así hematíes macroovalocíticos en los cuales la maduración citoplasmática es mayor que la nuclear, produciéndose el megaloblasto en la médula, y la destrucción intramedular de las células. Como se afectan todas las líneas celulares, además de anemia se produce también leucopenia y trombocitopenia. Igualmente se ha relacionado esta anemia con la deficiencia de vitamina B_{12} o su uso defectuoso (19).

En deficiencias severas, la interrupción del ciclo de metilación llega a causar neuropatías. En los años noventa, se demostró la relación entre un bajo estatus de folatos y el desarrollo de enfermedades del cierre del tubo neural en neonatos (20). Los defectos del tubo neural son unos de los más prevalentes defectos al nacimiento en el mundo entero (21). Durante el embarazo el incremento de la división celular está asociado con el rápido crecimiento del feto y la placenta y con el aumento del número de células maternas y la talla de órganos reproductivos (22). Esto, está asociado a una marcada aceleración en las reacciones de transferencia de unidades monocarbono, incluyendo aquellas requeridas para la síntesis de nucleótidos y división celular, lo cual es básico para incrementar los requerimientos de folatos durante este periodo, ya que los folatos funcionan como coenzimas en reacciones de transferencia de unidades monocarbono en el metabolismo de nucleótidos y aminoácidos (2). Debido a este aumento de las demandas de folatos, las mujeres embarazadas presentan más posibilidad de desarrollar deficiencia de folatos que mujeres no embarazadas (21) de ahí la importancia de una correcta ingesta o suplemento de folatos para mantener un estatus adecuado.

Estudios más recientes relacionan el bajo estatus de folatos con disfunciones neurocognitivas (23,24). Los folatos juegan un papel importante en el desarrollo del sistema nervioso central y en el metabolismo de algunos neurotransmisores; bajas concentraciones de folatos pueden también estar relacionadas con demencia y función cognitiva disminuida a través de mecanismos no vasculares. Los folatos séricos tienen una fuerte correlación negativa con el riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer, y puede ser debido, en parte, al papel de los folatos en la reducción de los niveles de homocisteína sanguínea ya que elevadas concentraciones en sangre están asociadas con una progresiva atrofia del lóbulo

medio temporal en sujetos con Alzheimer (23). Se ha demostrado mediante autopsia que un déficit de folatos coincidía con una mayor atrofia de los tres lóbulos del neocórtex (frontal, parietal y temporal) y otras lesiones neocorticales propias de esta patología (25).

De igual forma se ha establecido la relación de los niveles de folatos con determinados tipos de cáncer, sobre todo de colon y recto (26,27). Potencialmente, los folatos pueden reducir la carcinogénesis por medio de varios mecanismos, manteniendo la normal síntesis del ADN y mediante la metilación del ADN (Figura 2). El 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF) es esencial para la metilación del ADN y los folatos se requieren en la forma de 5, 10 metilentetrahidrofolato (5, 10 metilTHF) para convertir el deoxiuridilato en timidilato. Cuando los niveles de 5, 10 metilTHF son inadecuados, se produce la incorporación incorrecta de uracilo por timidina durante la síntesis de ADN. En humanos un estatus inadecuado de folatos está relacionado con la masiva incorporación de uracilo dentro del ADN y se incrementa la frecuencia de roturas cromosomales. Estas aberraciones genéticas son normalizadas con la suplementación de ácido fólico. La metilación del ADN es determinante para su configuración y estabilidad estructural (28) lo que es esencial en la carcinogénesis, ya que da estabilidad al genoma (26). Así, el papel de los folatos en mantener la metilación normal del ADN podría ser un mecanismo de acción por el cual los folatos intervienen en el riesgo de padecer cáncer (29).

Una baja ingesta de folatos provoca hiperhomocisteinemia leve, es decir, elevación de las concentraciones plasmáticas de homocisteína (30), lo que es un importante factor de riesgo para la aparición de enfermedades cardiovasculares (31). Este hecho ha sido demostrado por numerosos estudios en los que se observa que un incremento de 5µmol/L en la concentración de homocisteína en plasma está asociado con un aumento del 20 al 30% del riesgo de padecer enfermedad cardiovascular (32). De esta manera, la suplementación con ácido fólico (con dosis de 250 hasta 500 µg diarios) ha mostrado una significativa reducción de las concentraciones plasmáticas de homocisteína en sujetos sanos (33-36). También se ha observado esta respuesta cuando se aumenta la ingesta de folatos (hasta niveles de aproximadamente 560 µg diarios) a través de la dieta por incremento del consumo de frutas y hortalizas (37).

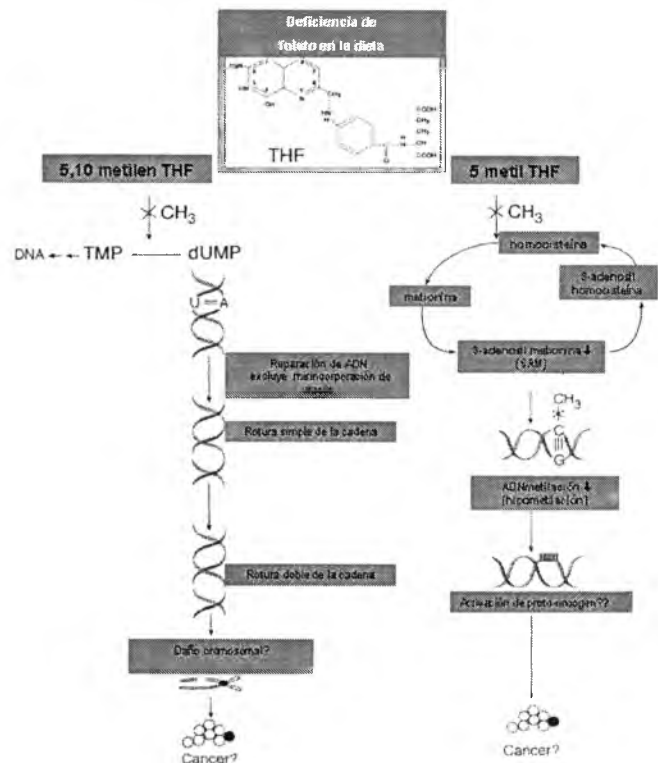
Recomendaciones dietéticas de ingesta

Las recomendaciones de ingesta están basadas en la prevención de la anemia megaloblástica y no en la prevención de defectos del cierre del tubo neural, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas (38). Para la prevención de la hiperhomocisteinemia, los requerimientos de folatos serán más altos que las RDA (38). Cuando se trata de la prevención de defectos del cierre del tubo neural se aconseja, a las mujeres que desean quedar embarazadas, la ingestión de

dosis elevadas de ácido fólico (400 µg diarios) al menos 4 semanas antes de la concepción, hasta unas 8 semanas después. De esta manera muchos países como Estados Unidos, Hungría, Bolivia, Colombia o Sudáfrica, han establecido la obligatoriedad de fortificar la harina de trigo con ácido fólico.

FIGURA 2

Deficiencia de folato e inestabilidad del ADN: mecanismo potencial. THF, tetrahidrofolato; 5, metil THF, 5-metiltetrahidrofolato; 5,10 metilTHF, 5,10-metilentetrahidrofolato; C, citosina; G, guanina; X expresa la incapacidad de donar un grupo metil (CH₃) (75)



En España, como en la mayoría de los países de la Unión Europea y Noruega, no existe dicha obligatoriedad pero si se reconoce la importancia de alcanzar unos niveles adecuados de ingesta a fin de prevenir los síntomas de deficiencia de folatos, con lo que se opta por la fortificación voluntaria, más aceptada entre los países europeos (39). No obstante, el enriquecimiento de los alimentos con ácido fólico no está permitida en otros países como Holanda (40).

Aunque las dosis de ingesta recomendadas están basadas en la prevención de la anemia megaloblástica, la fortificación, sin embargo, está enfocada a la prevención de deficiencias en grupos más sensibles, como es el caso de mujeres en edad fértil, mujeres en periodo de lactación y ancianos. En el caso de mujeres en edad de procrear catalogadas dentro del grupo

de riesgo (aquellas que ya han tenido un hijo con defectos del tubo neural) la dosis aconsejada es de 5 mg totales al día (los medicamentos disponibles en España ofrecen esta cantidad), repartidos en dos tomas, teniendo en cuenta que si se divide la dosis se consigue una menor cantidad de ácido fólico libre que pueda bloquear receptores útiles para la organogénesis (41).

Las estrategias para conseguir unos niveles de folatos adecuados en estas poblaciones son, la correcta educación e información sobre la alimentación, fortificación de los alimentos (42), así como suplementos farmacológicos. En este último caso, la suplementación debe ser bajo prescripción médica y preferiblemente monofármaco, es decir, no en forma de complejo multivitamínico, ya que estos pueden dar lugar a un aumento no deseado de otras vitaminas (21). El principio activo de elección es el ácido fólico, debido a que numerosos estudios (43,44) han permitido comprobar la mayor biodisponibilidad de este compuesto frente a los folatos naturales presentes en la dieta, ya que el ácido fólico sintético es una forma monoglutámica y, por tanto, más fácilmente absorbible (21).

Biodisponibilidad

Este concepto puede ser definido (en el ámbito de los folatos) como la fracción ingerido que es absorbido en el intestino delgado y que puede ser usado para procesos metabólicos o de almacenamiento en el organismo (9,42). Así surgen otros conceptos como son, "bioconversión" ó proporción de folatos ingeridos que es metabolizada en sus derivados, y "bioeficacia" que es la proporción de folatos ingeridos que tiene un efecto favorable en otros biomarcadores tales como la concentración de homocisteína plasmática (45).

El ácido fólico sintético tiene una mayor biodisponibilidad que los folatos naturales, de hecho, se puede afirmar que los folatos de los alimentos procedentes de una dieta mixta, presentan una biodisponibilidad de aproximadamente el 50% (37,46). Esto es así porque existen numerosos factores que afectan la "biodisponibilidad", "bioconversión" y "bioeficacia" de los folatos (45), entre los que cabe destacar: la estructura química de folato (ya que tienen mayor biodisponibilidad las formas reducidas), las uniones a la cadena poliglutámica (se ha observado menor biodisponibilidad en el caso de los poliglutamatos), la cantidad de folato (se absorbe mayor cantidad cuando el estatus es bajo), la matriz del alimento (mayor biodisponibilidad para los procedentes de dietas basadas en verdura y frutas), los efectos modificadores (determinados componentes de dieta pueden interferir la absorción de los folatos, como es el caso de la fibra dietética), el estatus corporal de otros nutrientes o los factores genéticos (modificaciones genéticas que afectan a genes que codifican para enzimas que intervienen en el metabolismo de los folatos). Este último, el genético, es uno de los factores más estudiados

actualmente debido al descubrimiento de un polimorfismo muy común en el gen que codifica para la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR 677C>T) que afecta a la bioconversión de las formas derivadas de folatos en el organismo y, por tanto, a su bioeficacia (47). Factores individuales relacionados con el hospedador, como es el caso de estados fisiológicos (gestación o lactación) o bien interacciones o combinación de alguno o todos los anteriores (38).

Se ha comprobado que la biodisponibilidad de formas monoglutámicas puede variar entre el 70 y el 120% en relación a la del ácido fólico sintético (100%) (48). Por tanto, para expresar el porcentaje de biodisponibilidad de un alimento se hace comparando con la biodisponibilidad del ácido fólico y surge el concepto de Equivalentes Dietéticos de Folato (EDF). Cuando el ácido fólico sintético es consumido como suplemento sin alimento, tiene una biodisponibilidad cercana al 100% (16); sin embargo cuando es consumido con alimento (como ocurre siempre en caso de productos fortificados), su absorción es reducida en un pequeño porcentaje, y se estima que la biodisponibilidad es aproximadamente del 85% (49, 50, 51). Se ha comprobado que los folatos presentes de forma natural en los alimentos son menos absorbidos en el organismo que el ácido fólico sintético. Así, los EDF pueden expresarse de distintas formas dependiendo del tipo de conversión necesaria (52), de tal forma que: 1 µg de EDF será 1.0 µg de folato del alimento, o 0.6 µg de ácido fólico añadido a los alimentos, o bien 0.5 µg tomados sin alimento; sin embargo 1 µg de ácido fólico tomado como fortificante será igual a 1.7 µg EDF; y finalmente 1 µg de ácido fólico tomado como suplemento o ayuno será equivalente a 2.0 µg EDF.

En la actualidad, los datos de contenido de folatos en los alimentos, presentados en las tablas de composición de alimentos (53) comienzan a expresarse en unidades EDF en lugar de µg/100g, que venía siendo la forma de expresión clásica.

Fuentes dietéticas de folatos. La controversia del enriquecimiento

Los datos de folatos en las Tablas de Composición de Alimentos (TCA)

Los alimentos con mayor contenido de folatos (Tabla 1) son las verduras y hortalizas, los cereales y las frutas con valores entre 20 y 160 µg/100g. Este hecho facilita que la "Dieta Mediterránea" sea ideal para cubrir las necesidades de folatos. Como ejemplo en España (Figura 3), los valores de ingesta estimados son unos de los más elevados en Europa (54). Los alimentos de origen animal, en general, presentan un escaso o nulo contenido, a excepción de algunos como el hígado (700-1400 µg/100g). En estas afirmaciones coinciden todas las tablas publicadas que se han consultado (45, 55-57),

sin embargo, existe una amplia variabilidad en los resultados entre las diferentes fuentes estudiadas para un mismo alimento o grupo de alimentos (Tabla 1). Esto es debido a numerosos factores, entre los que destaca la utilización de métodos de determinación diferentes, lo que da lugar a que la calidad y el origen de los datos sean a menudo cuestionados (16,58).

TABLA 1
Contenido en folatos en diversos alimentos en $\mu\text{g}/100\text{g}$ de peso fresco

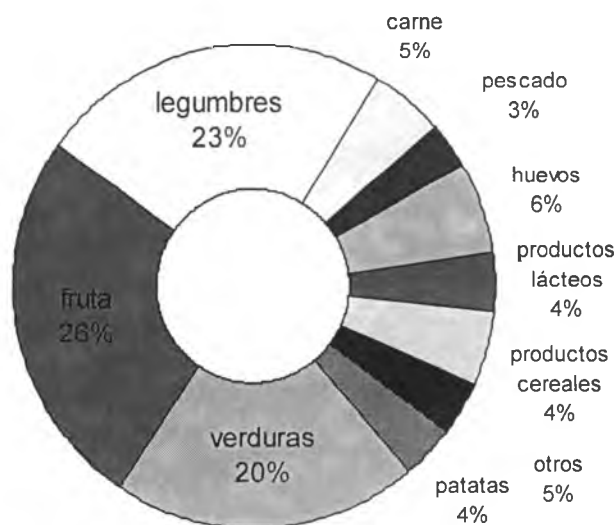
	(21) ^a	Referencia (55) ^b	(56) ^b
Soja		240	-
Hígado	227	207-1385	420-1470
Legumbres	180	17-20	-
Acelgas	140	-	-
Espinacas	140	83	48
Guisante	78	-	59
Naranja	37	18	27
Lechuga	34	43	51
Tomate	26	8	11
Queso	20	7-38	-

^a Método no especificado

^b Resultados obtenidos por cromatografía líquida (HPLC)

FIGURA 3

Contribución a la ingesta de folatos de los diferentes grupos de alimentos en la población española (76)



Tradicionalmente, los folatos procedentes de los alimentos eran determinados por el Método Microbiológico (59). Con este ensayo se obtiene el resultado de folatos totales, ya que

no discrimina entre las diferentes formas químicas de folatos. El método está basado en el crecimiento de un microorganismo, generalmente el *Lactobacillus rhamnosus* variedad *Casei*, que responde a las formas monoglutámicas así como a las di- y triglutámicas (60). No obstante, estos datos pueden ser enmascarados por la presencia en la muestra de compuestos no folatos que pueden activar o inhibir el crecimiento del microorganismo. Surge así la necesidad de investigar nuevos métodos de determinación de folatos en alimentos que permitan la diferenciación entre las diferentes formas químicas, lo que permite obtener datos más exactos y fiables (61). Para la separación de las diferentes formas se han desarrollado métodos cromatográficos de alta resolución (HPLC) que permiten diferenciar y cuantificar las distintas formas derivadas tras una extracción previa de la matriz del alimento y la posterior deconjugación por incubación con la enzima conjugasa (61). Actualmente, incluso se están perfeccionando técnicas para la determinación en cromatografía combinada de Líquidos-Masas (LC-MS), que permite una mayor certeza de la especie química que se determina. También se están realizando ensayos basados en las proteínas fijadoras de folatos (62), y son los denominados ensayo con radioproteínas fijadoras (Radio Protein Binding Assay o RPBA) y ensayo con enzimas proteicas unidoras (Enzymatic Protein Binding Assay o EPBA) (63,64). De esta manera se han conseguido mejoras considerables en la determinación de folatos, lo que ha incrementado la calidad de las tablas de composición de alimentos (TCA) en cuanto a este compuesto se refiere. Pero, aún así, la información pertinente a la identificación de las distintas formas químicas es todavía muy limitada. Esto es debido a la baja cantidad en la que están presentes en los alimentos de forma natural, a la elevada labilidad de algunos derivados folatos y a la difícil extracción de dichos compuestos de la matriz del alimento (55).

A la vista de la dificultad de obtener valores completos en la cuantificación de los folatos de los alimentos, se puede afirmar que no existe ninguna TCA que incluya datos completamente fiables en cuanto a la cantidad de folatos. Por ello, es necesario seguir desarrollando y mejorando estos métodos a fin de conseguir un consenso en cuanto a los valores de contenido de folatos de los alimentos. No obstante, resulta difícil establecer la ingesta media de folatos en alimentos para adultos, pues estudios recientes realizados entre la población de varios países europeos establecen la ingesta media en un amplio rango que oscila entre 197-326 $\mu\text{g}/\text{día}$ en hombres, y 168-320 $\mu\text{g}/\text{día}$ en mujeres (54), mientras que en España los valores estimados de ingesta en la población, se ha estimado en 205 $\mu\text{g}/\text{EDF}/\text{día}$ y 196 $\mu\text{g}/\text{EDF}/\text{día}$, para hombres y mujeres respectivamente. De acuerdo a los valores de Recomendaciones Dietéticas de Ingesta (RDI) en adultos presentados en la Tabla 2, dichas recomendaciones son

cumplidas. No obstante el término RDI describe el nivel de ingesta estimado que es suficiente para cubrir las necesidades de la mayoría de la población sana (97.5%) para ese determinado nutriente (65). Cabe destacar que en estos valores de ingesta recomendada debe tenerse en cuenta un margen de seguridad para periodos de disminución de la ingesta, aumento de la variabilidad y la utilización individual y la biodisponibilidad de los folatos naturales procedentes de los alimentos. Así, las RDI pueden ser utilizadas para la evaluación de la ingesta derivada de un estudio nutricional, por ejemplo para detectar grupos con una baja ingesta dentro de una población (65).

TABLA 2
Valores establecidos como dosis de ingesta recomendadas de ácido fólico

Edad	µg de ácido fólico/día ^a	µg EDF ^b /día ^c
Niños		
0.0-0.5	40	80
0.5-1.0	60	80
1-3	100	160
4-9	200	330-400
Hombres		
10-12	300	400
13- 60 y más	400	400
Mujeres		
10-12	300	400
13-60 y más	400	400
Gestación (2ª mitad)	+200	600
Lactancia	+100	500

^a Recomendaciones recogidas en Tablas de Composición Españolas (57)

^b DFE: equivalentes dietéticos de folato EDF

^c Recomendaciones de la FAO/WHO (53)

Enriquecimiento o fortificación de los alimentos con ácido fólico

A fin de prevenir las enfermedades derivadas del déficit de folatos (sobre todo las relacionadas con el cierre del tubo neural en neonatos) en muchos países, con Estados Unidos y Canadá a la cabeza, se ha establecido la obligatoriedad de fortificar ciertos alimentos. Según el Codex Alimentarius (66) fortificación o enriquecimiento de alimentos, es "la adición de uno o más nutrientes esenciales a un alimento con el propósito de prevenir o corregir una deficiencia demostrada de uno o más nutrientes en la población o grupo de población", definición que debe ser diferenciada de la de suplemento, definido por la FDA como "aquel producto tomado a través de la boca y que contiene uno o más ingredientes dietéticos destinados a suplementar la dieta". Estos ingredientes dietéticos pueden ser vitaminas, minerales, plantas o hierbas,

aminoácidos e incluso sustancias tales como enzimas, tejidos de órganos, tejidos glandulares y metabolitos (67).

El alimento más frecuentemente elegido en el caso del ácido fólico ha sido la harina de trigo (68). Se pretende conseguir una mayor uniformidad en los datos de ingesta, basados en el consumo de productos con una cantidad de ácido fólico conocida. Esta medida ha sido adoptada en la mayoría de los países de Centro y Sudamérica, en los que existe la obligación de fortificar la harina de trigo, como uno de los mejores vehículos para suministrar o aportar las vitaminas y minerales a un amplio número de personas. En El Salvador, Guatemala, Honduras, Costa Rica, Nicaragua y Panamá se fortifica la harina de trigo desde los años 90 (68). Las cantidades de ácido fólico con las que se fortifica son diferentes para cada país. En el caso de Guatemala que comenzó a enriquecer la harina en 1992, los niveles exigidos son de 0.35-0.45 mg/kg, muy bajos si se les compara con los niveles que se establecieron en México de 2.0 mg/kg o en Costa Rica de 1.5 mg/kg.

En Chile la fortificación fue aprobada por el Ministerio de Salud y se aplica desde el año 2000 (69) con niveles de enriquecimiento más elevados: 2.20 mg/kg de harina. Uno de los últimos países en adoptar esta medida ha sido Perú mediante el Decreto Supremo 008-2004-SA, donde los niveles se han fijado en 1.2 mg/kg. El Decreto involucra también la adición a la harina de hierro, niacina y vitaminas B1 y B2 (70).

En Estados Unidos la obligatoriedad de fortificar los alimentos con ácido fólico comenzó en 1998, mientras que en Canadá se realiza desde mucho tiempo antes, concretamente desde 1975, con niveles mínimos de 0.15 mg/100g de harina, pero fue en 1998, cuando en este país se incluyó el enriquecimiento con folatos de todos los cereales de consumo humano (71). El resultado de esta medida es muy satisfactorio en cuanto a la reducción de defectos del cierre del tubo neural en neonatos, puesto que existen estudios que afirman un 19% de reducción de la incidencia de estos defectos en Estados Unidos tras poner en práctica esta fortificación (72). Resultados todavía más satisfactorios se obtuvieron en Chile cuando a partir de la decisión de la fortificación obligatoria de la harina, se inició un estudio a fin de comprobar el efecto de dicha medida. Así los datos preliminares obtenidos entre el periodo anterior a la fortificación (años 1999-2000) y después de iniciada la misma (2001-2002) demuestran una disminución del 40% en los casos de nacimientos con defecto del tubo neural (69).

En Europa, a pesar de conocer la importancia de un correcto status de folatos, y ser conscientes de su influencia en la salud, no existe obligatoriedad de enriquecimiento de alimento alguno. De hecho, Gales tiene la incidencia más altas de casos de defectos de cierre del tubo neural, y aún así, se practica la fortificación voluntaria de alimentos (45). Existen

países muy pragmáticos a este respecto, otros contrarios a la fortificación de la harina, como es el caso de Francia, y los países Escandinavos que son reacios a la fortificación en general (73). Esta medida fue tomada por acuerdo común en la Declaración conjunta de los representantes de la Agencias de Seguridad Alimentaria y de las instituciones relacionadas con la nutrición en los países europeos y Noruega (39). Estos países reconocen la importancia del ácido fólico en la prevención de defectos de cierre de tubo neural, en mujeres en edad de concebir, así como la dificultad de alcanzar los 400 µg de folato a través de la dieta. De ahí que se hayan diseñado cuatro estrategias para afrontar este riesgo, como son: promocionar el consumo de alimentos ricos en folatos, consumo de complementos dietéticos, fortificación voluntaria de alimentos o fortificación obligatoria de alimentos. En Europa se ha optado por la fortificación voluntaria, haciendo hincapié en el hecho de supervisar las consecuencias de dicha fortificación toda vez que puede enmascarar la deficiencia de vitamina B₁₂, sobre todo en la población anciana (39). No obstante, se han realizado estudios que confirman la inocuidad de fortificar con ácido fólico. Incluso cuando se usan cantidades superiores a 15 mg/día, como se ha hecho en los últimos estudios de toxicidad, se muestra seguro (74).

CONCLUSIONES

Ante la importancia de los folatos en la salud y de su papel en el metabolismo, surge la necesidad de establecer valores adecuados de ingesta, que sean fiables y estén basados en datos contrastados. Es, por tanto, prioritario aumentar el interés y la formación de los consumidores acerca de esta vitamina, especialmente mujeres, con la finalidad de aumentar su nivel de folato, así como de explorar las posibilidades de promocionar lo beneficiosas que son para la salud algunas fuentes de folatos, teniendo en cuenta los futuros reglamentos sobre reclamaciones sanitarias de la UE. En el campo de la fortificación con ácido fólico, se puede afirmar que enriquecer la harina de trigo es una forma segura y efectiva de evitar los riesgos de aparición de enfermedades relacionadas con la deficiencia de ácido fólico, debido a que se ha comprobado que tras el consumo de alimentos fortificados se observan aumento de los niveles de folatos en suero y células rojas, disminuye el número de casos de cierre del tubo neural, y disminuye la concentración de homocisteína en plasma, lo que reduce la probabilidad de riesgo de enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer así como de la enfermedad de Alzheimer (74). Debería ser una prioridad para los países que todavía no fortifican las harinas de trigo el llevarlo a cabo, puesto que son numerosos los beneficios para la salud que se obtienen como consecuencia de esta medida.

AGRADECIMIENTOS

A la Comisión europea por la financiación del Proyecto: "Folate: From food to functionality and optimal health" (QLK1-1999-00576). Al Ministerio de Ciencia y Tecnología por los proyectos AGL2000-2482-CE y AGL2003-03598 (Funcionalidad de los folatos naturales frente a suplementos en zumos de frutas y sopas de hortalizas).

REFERENCIAS

1. Blakley L. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). Nomenclature and symbols for folic acid and related compounds. Recommendations 1986. *J Biol Chem* 1988;263(1):605-607.
2. Combs GF Jr. *The Vitamins. Fundamental aspects in Nutrition and Health.* Academic press, San Diego, CA.1992.
3. Eitenmiller RR and Landen WO Jr. *Vitamins In: Analyzing Food for Nutrition labelling and Hazardous Contaminants.* Eds. Jeon, I.J. and Ikins, W.G. Marcel- Dekker, Inc. New York. 1995. pp. 195-281.
4. Gregory JF. Chemical and nutritional aspect of folate research: analytical procedures, methods of folate synthesis, stability, and bioavailability of dietary folates. *Adv Food Nutr Res* 1989;33:1-101.
5. Vahteristo L. Food folates and their analysis: Determination of folate derivatives and their stability by high-performance liquid chromatography. Department of Applied Chemistry and Microbiology. Doctoral Thesis. University of Helsinki. 1998. pp.12-19.
6. Gregory JF. *Vitamins. In: Food Chemistry, 3rd Ed.* Fennema, O.R. Marcel Dekker, Inc. New York. 1996. pp. 531-616.
7. Selhub J, Dhar GJ, Rosenberg IH. Gastrointestinal absorption of folates and antifolates. *Pharmac Ther* 1983;20:397-418.
8. Mason JB. Intestinal transport of monoglutamyl folates in mammalian systems. In: *Folic acid metabolism in health and disease.* Eds. Picciano MF, Stokstad ELR, Gregory JF. New York: Wiley-Liss. 1990. pp. 47-64.
9. Gregory JF. The bioavailability of folate. In: *Folate in Health and Disease.* Ed. Bailey LB. Marcel Dekker, Inc. New York. 1995. pp. 95-235.
10. Halsted CH. Jejunal brush-border folate hydrolase, a novel enzyme. *West J Med* 1991;155: 605-609.
11. Steinberg SE. Mechanisms of folate homeostasis. *Am J Physiol* 1984;246:G319-G324.
12. Hanson AD, Gregory JF. Synthesis and turnover of folates in plants. *Curr Opin Plant Biol* 2002;5:244-249.
13. Lorimer GH. The carboxylation and oxygenation of ribulose 1,5-biphosphate. The primary events in photosynthesis and photorespiration. *Annu Rev Plant Physiol* 1981;32:349-383.
14. Gutteridge S, Gatenby AA. Rubisco synthesis, assembly, mechanism and regulation. *Plant Cell* 1995;7:809-819.
15. Scott J, Rébeillé F, Fletcher J. Folic acid and folates: the feasibility for nutritional enhancement in plant foods. *J Sci Food Agric* 2000;80:795-824.
16. Gregory JF. Bioavailability of folate. *Eur J Clin Nutr*

- 1997;51:S54-S59.
17. Herbert V. Biochemical and haematologic lesions in folic acid deficiency. *Am J Clin Nutr* 1967;20:562-569.
 18. Hines JD, Halsted CH, Griggs RC, Harris JW. Megaloblastic anemia secondary to folate deficiency associated with hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1968;68: 792-805.
 19. Arbage K. Vitamin B12, Folate and Folate-Binding proteins in Dairy products. Analysis, process retention and bioavailability. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. 2003. pp. 13-30.
 20. MRC vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects. Results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*. 1991;338:131-137.
 21. González AI, García M. Ácido fólico y defectos del tubo neural en Atención Primaria. *MEDIFAM* 2003;13(4):305-310.
 22. Czeizel AE, Dudás I. Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N England J Med* 1992;327:1832-1835.
 23. Clarke R, Smith AD, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998;55:1449-1455.
 24. Seshadri S, Beiser A, Selhub J. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002;346:476-483.
 25. Snowdon DA, Tully CL, Smith CD, Riley KP, Markesbery WR. Serum folate and the severity of atrophy of the neocortex in Alzheimer disease: findings from the Nun Study. *Am J Clin Nutr* 2000;71:993-998.
 26. Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: as integrated scheme. *J Nutr* 2000;130:129-132.
 27. Choi SW, Mason JB. Folate status: effects on pathways of colorectal carcinogenesis. *J Nutr* 2002;132:2413S-2418S.
 28. Giovanucci E. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. *J Nutr* 2002;132:2350S-2355S.
 29. Kim Y-I. Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of Gene-Nutrient interaction in carcinogenesis. *Nutr Rev* 2000;58(7):205-209.
 30. Kang SS, Wong PWH, Norusis M. Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987;36:458-462.
 31. The Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke. *J Am Med Ass* 2002;288:2015-2022.
 32. Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000;72:324-332.
 33. Homocysteine Lowering Trialists Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. *Brit Med J* 1998;316:894-898.
 34. Ward M, McNulty H, McPartlin J, Strain JJ, Weir DG, Scott JM. Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological doses of folic acid. *Q J Med* 1997;90:519-524.
 35. Bronstrup A, Hages M, Pietrzik K. Lowering homocysteine concentrations in elderly men and women. *Int J Vitam Nutr Res* 1999;69:187-193.
 36. Brouwer IA, van Dusseldorp M, Thomas CMG. Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine. A randomized trial. *Am J Clin Nutr* 1999;69:99-104.
 37. Brouwer IA, van Dusseldorp M, West CE. Dietary folate from vegetables and citrus fruit decreases plasma homocysteine concentrations in humans in a dietary controlled study. *J Nutr* 1999;129:1135-1139.
 38. Melse-Boonstra A. Dietary folate: Bioavailability studies in humans. Doctoral thesis 2003. Wageningen Centre for Food Science. Wageningen University.
 39. Agencia Española de Seguridad Alimentaria AESA. Ministerio de Sanidad y Consumo 2003. Declaración conjunta de las Agencias de Seguridad Alimentaria y de las Instituciones relacionadas con la nutrición en los países europeos y en Noruega.
 40. Health Council of the Netherlands. Risks of folic acid fortification. The Hague: Health Council of the Netherlands. 2000.
 41. Anónimo. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. Recomendaciones sobre suplementación con ácido fólico para la prevención de defectos del tubo neural. 1998. Vol. 22, Nº 6. pp 150-151.
 42. Lumley J, Watson L, Watson M, Bower C. Periconceptional supplementation with folate and/or multivitamins for preventing neural tube defects (Cochrane Review). En: *The Cochrane Library*, 2000. Oxford: Update Software.
 43. Bronner F. Nutrient bioavailability, with special reference to calcium. *J Nutr* 1993;123:797-802.
 44. Stokstad ELR, Shin YS, Tamura T. Distribution of folate forms in foods and folate availability. In: *Folic acid: biochemistry and physiology in relation to the human nutrition requirement*. Washington, DC: National Academy of Sciences. 1977. pp.56-68.
 45. Brouwer IA, van Dusseldorp M, West CE, Steegers-Theunissen RPM. Bioavailability and bioefficacy of folate acid in humans. *Nutr Res Rev* 2001; 14:267-293.
 46. Sauberlich HE, Kretsch MJ, Skala JH, Johnson HL, Taylor PC. Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *Am J Clin Nutr* 1987;46:1016-1028.
 47. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
 48. Tamura T, Stokstad ELR. The availability of food folate in man. *Bri J Haematol* 1973;25:513-532.
 49. Subcommittee on Folate, other B vitamins, and Choline. *Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, vitamin B6, Folate, vitamin B12, Pantothenic acid, Biotin, and Choline*. Institute of Medicine. Washington, DC. National Academy Press; 1998.
 50. Cuskelly GJ, McNully H, Scott JM. Effect of increasing dietary folate on red cell folate: implications for prevention of neural tube defects. *Lancet* 1996;347:657-659.
 51. Pfeiffer CM, Rogers LM, Bailey LB, Gregory JF. Absorption of folate from fortified cereal-grain and products and of supplemental folate consumed with or without food determined using a dual-label stable isotope protocol. *Am J Clin Nutr* 1997;66:1388-1397.

52. West Sutor C, Bailey LB. Dietary folate equivalents: Interpretation and application. *J Am Dietetic Assoc* 2000;100:88-94.
53. Joint FAO/WHO. Expert Consultation on Human Vitamin and mineral Requirements. FAO, Bangkok, Thailand. Preliminary Report on Recommended Nutrient Intakes. 1998.
54. de Bree A, van Dusseldorp M, Brower IA, van Het Hof KH, Steegers-Theunissen RPM. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:643-660.
55. Konings EJM. Dietary folates in human nutrition, analysis, intake, bioavailability and association with colorectal cancer. Doctoral thesis. 2001. Nutrition and Toxicology Research in Institute Maastricht (NUTRIM).
56. Vahteristo L, Lehtikainen K, Ollilainen V, Varo P. Application of an HPLC assay for the determination of folate derivatives in some vegetables, fruits and berries consumed in Finland. *Food Chem* 1997;59(4):589-597.
57. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. Tablas de composición de alimentos. 7ª edición. Ediciones Pirámide. Grupo Anaya S.A. Madrid. 2003.
58. Ball GFM. Bioavailability and Analysis of Vitamins in Foods. 1st ed. Chapman & Hall, London. 1998.
59. Finglas PM, Faure U, Southgate DAT. First BCR-intercomparison in the determination of folates in food. *Food Chemistry* 1993;46:199-213.
60. Martin CA. Folate analysis in foods. *BNF Nutrition Bulletin*. 1995; 20:8-15.
61. Vahteristo L, Ollilainen V, Koivistoinen PE, varo P. Improvement in the Analysis of reduced folate monoglutamates and Folic Acid in Food by high-Performance liquid Chromatography. *J Agric Food Chem* 1996;44:477-482.
62. Finglas PM, Faulks RM, Morgan MRA. The development and characterization of a protein-binding assay for the determination of folate-potential use in food. *J Micronutr Anal* 1988;4:295-308.
63. Hansen SI, Holm J. A competitive enzyme-linked ligand sorbent assay (ELISA) for quantitation of folates. *Anal Biochem* 1988;172(1):160-164.
64. Verwei M, Arkbåge K, Mocking H, Havenaar R and Groten J. The binding of folic acid and 5-methyltetrahydrofolate to folate-binding proteins during gastric passage differs in a dynamic in vitro gastrointestinal model. *J Nutr* 2004;134:31-37.
65. Bailey LB. Folate requirements and dietary recommendations. En: *Folate in Health and Disease*. Ed. LB Bailey. New York, Marcel Dekker, Inc. 1995. pp.123-125.
66. Codex alimentarius. Principios generales para la adición de nutrientes esenciales a los alimentos-CAG/GL 09-1987.
67. U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA). 1994.
68. Guamuch M. Programas de Salud pública de fortificación de alimentos en Centroamérica. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. 2003; Notas técnicas PP/NT/032.
69. Estudio INTA. Harina enriquecida con Ácido Fólico. *Nutrición XXI*. 2003;9:20-21.
70. Asociación Peruana de Consumidores y Usuarios (ASPEC). Pan será más nutritivo: harina de trigo deberá estar enriquecida con vitaminas y minerales. Food Science Technology. 2004. Oficina de Comunicaciones. Nota de prensa.
71. Montaner J. El consumo de folatos en el embarazo. *Diario de la seguridad alimentaria*. Julio de 2004.
72. Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JD, Wong LC. Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *J Am Med Association* 2001;285:2981-2986
73. Food Standards Agency and UK Health Departments. Report from the Folic acid public stakeholder meeting. 2002.
74. Quinlivan EP, Gregory JF III. Effect of food fortification on folic acid intake in the United States 2003. *Am J Clin Nutr* 2003;77(1):221-225.
75. Duthie SJ. Folic acid and ADN stability. *Br Med Bull* 1999;55:578-592.
76. Planells E, Sánchez C, Montellano MA, Mataix J, Llopis J. Vitamins B6 and B12 and folate status in a adult Mediterranean population. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:777-785.

Recibido: 05-08-2004

Aceptado: 02-02-2005

Nutritional status of endurance athletes: what is the available information?

Júlia A. D. Nogueira, Teresa H. M. Da Costa

Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition, University of Brasília, Brasília, Brazil

SUMMARY. Nutritional status is a critical determinant of athletic performance. We question whether currently available studies can give adequate information on nutritional status of endurance athletes. This paper is a critical review of articles published from 1989 to 2003 that investigate nutritional status of endurance athletes. The terms, "nutrition", "diet", or "nutrient", were combined with "endurance athletes" to perform Medline and Pubmed electronic database searches. Two inclusion criteria were considered: (a) study subjects should be adults and (b) articles should report gender-specific values for total energy expenditure and intake of energy, macro and micronutrient from food. Only seven studies fulfilled inclusion criteria. In general, the conclusions of these studies are that endurance athletes have negative energy balance, low intake of carbohydrate, adequate to high intake of protein, and high intake of fat. A critical discussion of the articles' data on vitamins, minerals and trace elements adequacy is conducted using insights and methodology proposed by the newly published assessment and interpretation of Dietary Reference Intakes (DRIs). The studies evaluated give an inappropriate evaluation of the prevalence of adequacy/inadequacy of micronutrient intake among endurance athletes. In this work we indicate potential limitations of existing nutritional data, which reflects the misconceptions found in published literature on nutritional group evaluation. This review stresses the need for a comprehensive and well-conducted nutrition assessment planning to fulfill the existing gap in reliable information about micronutrient adequacy of endurance athletes.

Key words: Endurance athletes, energy balance, nutrient adequacy, DRIs.

RESUMEN. Estado nutricional de los atletas de resistencia: ¿Cuál es la información disponible? El estado nutricional es un determinante crítico del desempeño de atletas. Nos cuestionamos si los estudios actualmente disponibles pueden dar información adecuada sobre el estado nutricional de atletas de resistencia. Este trabajo es una revisión crítica de artículos publicados desde 1989 hasta 2003 que investigaron el estado nutricional de esos atletas. Los términos "nutrition", "diet" o "nutrient" fueron combinados con "endurance athletes" en las búsquedas por Medline y Pubmed. Dos criterios de inclusión fueron considerados: (a) los sujetos de estudio tenían que ser adultos y (b) los artículos tenían que reportar valores específicos por género para gasto energético total e ingestión de energía, macro y micronutrientes. Apenas siete estudios satisficieron los criterios de inclusión. En general, las conclusiones fueron que atletas de resistencia tienen balance negativo de energía, baja ingestión de carbohidratos, ingestión de proteína adecuada a alta y alta ingestión de grasas. Una discusión crítica de los datos sobre la adecuación de vitaminas, minerales y elementos traza fue conducida usando el enfoque y la metodología propuestos por las Dietary Reference Intakes (DRIs). Los estudios analizados dan una evaluación inapropiada sobre la prevalencia de adecuación/inadecuación de la ingestión de micronutrientes en atletas de resistencia. Las informaciones nutricionales actualmente disponibles reflejan conceptos equivocados sobre la evaluación nutricional de grupos. Enfatizamos la necesidad de planear una evaluación nutricional completa y bien conducida para suplir la falta de conocimiento en el área y contribuir con información confiable sobre la adecuación de micronutrientes de atletas de resistencia.

Palabras clave: Atletas de resistencia, balance de energía, adecuación de nutrientes, DRIs.

INTRODUCTION

Few formal studies have properly assessed nutritional status of athletes despite the fact that optimal nutrition enhances physical activity, athletic performance and recovery from exercise (1-4). Therefore, it is not clear if endurance athletes are maintaining adequate diets. This review encompasses articles published from 1989 to 2003 that investigate nutritional status of endurance athletes. The terms, "nutrition", "diet", or "nutrient", were combined with "endurance athletes" to perform Medline and Pubmed electronic database searches.

In order to be considered relevant, there were two inclusion criteria for articles: (a) study subjects should be adults and (b) articles should report gender-specific values for total energy expenditure and intake of energy, macro and micronutrient from food.

From a total of 16, only 7 reviewed articles fulfill both inclusion criteria. The selected articles covered different sports including triathlon (5), running (6,7), swimming (8), cycling (9,10) and track and field (3). All track and field events are not considered to be endurance sports, but since the particular study reviewed (3) separates results between various categories

of athletes, we decided to include long-distance runner data.

This review's objectives are the following: (a) to critically evaluate past and present scientific articles on nutrient intake and nutritional status of endurance athletes and (b) to indicate potential limitations in the interpretation of existing nutritional data and (c) to serve as a call for rigorous methodological planning when conducting nutritional assessment of athletes.

Anthropometric characteristics

The foundation of an effective nutrition care plan for active individuals should integrate assessments of psychosocial, biochemical, nutritional and physical status factors (11). Body weight and composition can affect exercise performance so precise nutritional evaluation should begin with anthropometric assessments. And, since the requirements of energy and some nutrients depend on body mass and composition, they may be better expressed as kg/body weight (1,11,12).

Measurement of weight, height, and calculation of body mass index (BMI) and percentage body fat are recommended, since each has its clinical limitations. For instance, BMI does not reflect body fat content so muscular individuals may be misclassified as overweight (11). On the other hand, different body fat assessment techniques have inherent variability, thus limiting the precision with which they can be interpreted (1). The various protocols for anthropometric assessments have been previously discussed in detail (13,14).

Most of the selected studies do not report full information on anthropometric characteristics of the athletes (3,7-9). The reported mean and standard deviation values for age, anthropometric characteristics, training time, and training level of male and female athletes are outlined in Table 1.

TABLE 1
Age, anthropometric characteristics and training hours for male (M) and female (F) endurance athletes (mean values (M), standard deviation (SD))

Ref n°	Sport	Sex	n	Age (yr.)		Height (cm)		Weight (kg)		BMI (kg/m ²)		Body fat (%)		Training (h/wk)	Athletes' level
				M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	
3	Track & field ^a	M	8	25.3	2.7	174.1	7.3	60.5	4.1	20.0	NA	NA	NA	17.0	Elite
		F	7	23.7	2.4	161.9	7.7	46.9	5.2	18.0	NA	NA	NA	17.5	Elite
5	Triathlon	M	50	39.0	7.1	178.0	7.1	74.7	7.8	23.7	2.8	15.2	4.2	10.9	Recreational
		F	21	32.0	9.2	166.0	4.6	60.2	5.5	21.9	1.8	24.2	3.2	12.4	Recreational
6	Running ^b	M	18	35.8	8.0	178.8	5.4	71.2	6.2	22.8	1.8	13.4	3.2	7.0 ^c	Novice
7	Running	M	291	40.1	10.2	177.8	6.8	73.1	8.5	23.1	1.7	NA	NA	3.9 ^c	Amateur
		F	56	37.8	9.0	163.8	6.0	55.6	6.7	20.9	2.2	NA	NA	3.7 ^c	Amateur
5	Swimming ^{c,d}	M	24	19.4	0.4	180.5	1.3	75.7	2.2	23.2	0.5	NA	NA	7.5	Collegiate
9	Cycling	M	6	27.0	1.9	180.8	3.3	68.6	2.9	21.0	NA	NA	NA	20.0	Professional
		F	9	34.6	5.6	167.1	5.5	58.1	4.9	20.9	1.9	23.6	4.3	7.0 ^c	Novice
10	Cycling	F	8	22.0	5.0	165.0	6.1	60.4	5.0	22.2	NA	23.3	5.6	5.0	Trained

^{NA} Not Available ^a long-distance runners values ^b 2 weeks before the marathon event ^c values at season start ^d both long and short distance group means ^e estimated from training schedule

Mean BMI reported by the studies categorize endurance athletes as being in the normal range for BMI (15). Body fat (BF) assessment by skin fold thickness (6, 10) or bioelectrical impedance (5), apart from their intrinsic differences, showed values ranging from 13.4 to 15.2 % for male and from 23.3 to 24.2 % for female athletes. The values for %BF presented in this review are somewhat higher when compared to some studies conducted with elite athletes (16-19). Optimal body-fat levels vary depending upon the sex, age, heredity and the fitness level of the athlete, as well as the sport itself.

Training and energy expenditure

The studies reviewed (3,5-10) refer to weekly training schedules as presented in Table 1. Although most subjects were reported to be experienced and serious endurance competitors, training data, reflected by the mean number of hours per week (from 3.7 to 20h/week), and athletes' level refer mostly to non-professional athletes.

Before 2002, total energy expenditure (TEE) was commonly estimated through the factorial method, using equations to estimate basal energy expenditure (20) and then multiplying them by the time devoted to different activities

and the energy cost of each activity throughout a 24-hour period. However, there are recognized problems with the factorial method and the validity of energy requirement predictions based on it have been questioned (21). The IOM (2002) has developed more accurate prediction equations of TEE based on doubly labeled water (DLW) database through non-linear regression, which takes into account age, weight, height and physical activity level.

Therefore, it is necessary to estimate the amount of time and intensity of training sessions in order to calculate energy

expenditure (22). Only one study reported the training schedule and intensity used to calculate energy expenditure (5). Three studies (3,7,8) did not calculate the energy cost by the intensity or duration of the training session but, instead, referred to RDA approximated total energy expenditure (TEE). And, three other studies (6,9,10) did not give any information about the TEE of the athletes (Table 2). Reported mean total energy expenditure ranged between 11.3 and 14.9 MJ (2690 to 3550 kcal) for male and 8.4 and 11.8 MJ (2000 to 2800 kcal) for female athletes (Table 2).

TABLE 2
Total energy expenditure (TEE), total energy intake (TEI), and food intake values for carbohydrate, protein and fat

Ref n ^o	Sport	n	TEE (MJ)		TEI (MJ)		CHO				Protein				Fat			
			Mean	SD	Mean	SD	g	SD	%	g/kg/day	g	SD	%	g/kg/day	g	SD	%	g/kg/day
MALE																		
3	Track & field ^a	8	14.9 ^b		15.2	1.9	429	48	52	7.1	139	37	15	2.3	131	25	32	2.2
5	Triathlon	50	12.0		11.6	2.9	372	106	54	5.0	102	28	15	1.4	92	35	30	1.2
6	Running ^b	18	NI		11.3	2.8	346	NI	51	4.9	81	NI	12	1.1	111	NI	37	1.6
7	Running	291	11.3 ^d		10.6	3.1	327	119	52	4.5	105	34	17	1.4	87	36	31	1.4
8	Swimming ^c	24	12.1 ^d		15.3	3.9	501	141	54	6.6	121	28	13	1.6	134	42	33	1.7
9	Cycling	6	NA		22.4	1.7	770	44	57	11.3	176	16	13	2.6	178	31	30	2.6
FEMALE																		
3	Track & field ^a	7	11.8 ^d		11.4	1.5	337	59	51	7.2	109	18	16	2.4	98	15	33	2.1
5	Triathlon	21	9.4		9.1	2.2	290	78	54	4.8	84	32	15	1.4	73	23	30	1.2
6	Running ^c	9	NA		8.5	1.7	283	NA	54	4.9	76	NA	15	1.3	72	NA	31	1.2
7	Running	56	8.4 ^d		7.8	2.5	246	82	52	4.4	74	37	16	1.3	66	34	32	1.2
10	Cycling	8	NA		7.5	3.0	264	107	60	4.4	64	28	14	1.1	57	41	26	0.9

^{NA} not available ^a long-distance runners ^b values estimated from figure ^c values at start season ^d RDA values

The FAO/WHO/UNU Expert Consultation (20) adopted the principle of relying on estimates of TEE rather than on energy intake from dietary surveys to estimate energy requirements of adults. As a result, reporting TEE has become a necessary practice. Therefore, it is extremely important that energy expenditure is assessed correctly to determine energy intake requirements (23). Inaccurate information on TEE may lead to spurious conclusions regarding energy needs and true dietary contribution to the maintenance of good health and maximum performance. Future research on dietary practices of athletes should include precise information on training schedules and intensities, TEE calculations based on Dietary Reference Intakes for Energy (21), and, as often as possible, include the use of an external and independent marker of energy expenditure for comparison, e.g., doubly labeled water.

Energy intake and energy balance

Although, athletes tend to be high-energy consumers due to high-energy expenditure during training, the range of total energy intake (TEI) among athletes is wide. The results of TEI from the studies reviewed are summarized in Table 2. Reported mean total energy intake ranged between 10.6 and

22.4 MJ (2520 to 5330 kcal) for male and 7.5 and 11.4 MJ (1790 to 2720 kcal) for female athletes.

Maintaining energy balance (where TEE equals TEI) is extremely important to athletes since it affects, not only body weight, but also the proportion of fat to fat-free mass, glycogen stores, vitamin and mineral status, bone health, menstrual status in women, and physical performance (1,17,24). Some of the studies (6,10) did not present values for TEE but do cite data for energy balance.

For male athletes, one study (3) reported higher energy intake compared to energy expenditure. Two studies presented energy intake lower than energy expenditure (5,7). And two studies (6,8) had adequate values for energy intake compared to energy expenditure at the start of the season, but as the training volume increased, an associated increase in energy and carbohydrate (CHO) intake occurred. This increase in energy and CHO intake did not fully compensate for increased energy expenditure since the swimmers and runners lost body fat during the training season. The authors (6,8) did not report a significant change in body weight over the season. It is theoretically possible that body composition had changed (loss of body fat vs. gain of lean body mass), a question that is not

fully addressed in the articles. Interestingly, for female athletes, all the articles reported lower energy intake values compared to energy expenditure (3,5-7,10).

As seen above, some studies suggest a negative energy balance for athletes (18,25). However, mean percent body fat and BMI values reported in the various studies indicate that athletes were not abnormally lean. The use of the factorial approach to estimate energy expenditure and, thus, energy needs, may have led to overestimation. Moreover, perhaps aerobic training tends to reduce resting metabolic rate. Resting heart and respiratory rates are known to be lower in athletes than in the average population (14). Also, individuals who exercise may compensate for increased energy expenditure due to exercise by performing more low-level activities or performing less overall activity outside actual exercise sessions (24).

The question of how athletes are able to train and compete successfully while consuming what appears to be inadequate energy is still unanswered and open to future research. Dietary assessment methodologies are undoubtedly a factor for data precision. Development of reliable methods to track dietary energy intakes in different populations is needed (21).

Dietary surveys

Dietary intake studies are often used for assessing dietary adequacy because they are inexpensive and noninvasive. However, accuracy and precision of methods for assessing typical food intake in different population groups is of major concern to nutritional research scientists and are open to several criticisms (26-28). All studies reported in this review collected dietary data by food records except two (9,10) that used weighed food records. The duration of food record collection varied between two (8), three (3, 5,7,9,10) and seven days (6).

It is commonly believed that adults underestimate or under-report food intake (23, 29). Thus, the dietary information contained in this review may reflect the limitations that result when dietary records are used. None of the articles reviewed reported the use of any controls, such as food intake levels, for under-reporting of food intake (30).

Nutrients

An adequate diet for athletes should cover energy, macronutrient, micronutrient, and hydration needs (1,31). The mechanisms by which exercise influences nutrient needs are currently under investigation (32-35). Theoretically, exercise may increase or alter the need for some nutrients through increased biochemical and metabolic demands, increased turnover of nutrients, and increased needs for repair and maintenance of lean tissue mass in athletes (1). On the other hand, athletes reach their level of excellence by progressive training, which might also progressively improve the efficiency of nutrient absorption and utilization (1). Currently, the

consensus in the literature is that endurance athletes need higher energy, (CHO) and protein intake (1,4,5,20,25), compared to non-athletes. However, in general, available data are not sufficient to set specific reference values of nutrient intake for athletes (21,32- 36). Thus, it is assumed that the newly published Dietary Reference Intakes (DRIs), a set of four nutrient-based reference values (Estimated Average Requirement (EAR), Recommended Dietary Allowance (RDA), Adequate Intake (AI), and Tolerable Upper Intake Level (UL)), are appropriate for athletes unless otherwise stated (21,32- 36).

All nutrient needs of endurance athletes can generally be met by an adequate, well-balanced, and varied diet. Furthermore, the timing and frequency of food intake has implications for metabolism and nutrient availability and can be manipulated to achieve specific nutrition goals (37). Supplementation might be advised only in situations of dietary energy restriction (below 65% estimated energy requirement), elimination of one or more food groups, and intake of high-carbohydrate diets with low micronutrient density (1,7,8,38,39).

Carbohydrates

Endurance athletes should consume a high-carbohydrate diet that provides 60% to 70% TEI (4). However, rather than providing guidelines for routine CHO intake in terms of TEI, it is preferable to measure carbohydrates in terms of grams per body mass per day because it 1) assures adequate total CHO intake with respect to total energy intake and 2) allows flexibility for the athlete to meet these targets within the context of his/her energy needs and other dietary goals. CHO intake of 6 to 10 g/kg/day is suggested for the augmented needs of endurance athletes (1,40).

During successive strenuous daily exercise periods, consumption of a low-CHO diet, in combination with low energy intake relative to the activity level, results in progressive decrease in muscle glycogen and reduction of endurance (41). Frentos & Baer (18) showed that, through diet intervention, adequate energy and CHO intake improved athletes' performance.

The groups of athletes reviewed consumed CHO at levels of 51% to 57% TEI or 4.5 to 11.3 g/kg/day for males, and of 51% to 60% TEI or 4.4 to 7.2 g/kg/day for females (Table 2). These somewhat low values may result in gradual declines in performance over periods of sustained training. One of the reviewed studies (9) presented CHO intake relative to body weight above 10g/kg/day. In this study, professional cycling athletes were monitored during high intensity training periods and had high-energy consumption and dietary patterns similar to those observed during competition.

Relative CHO intake is generally below the recommended guidelines for endurance athletes (3,5,7,8,10,17,27,38,40).

This disturbing prevalence of inadequate CHO intake begs for elucidation into causes and solutions of athletes' dietary needs.

Protein

Protein intake levels can also be expressed as grams per body mass per day or as percent of total energy intake and should account for 10 to 15% TEI. Recent research suggests that active people require more than the RDA of 0.8 g/kg/day (21) and endurance athletes may need between 1.2 and 1.4 g/kg/day (42). Interestingly, the general population currently consumes at least 1.0 g/kg/day, and most athletes routinely consume 1.2 to 2.0 g/kg/day as an outcome of their high total energy intake (1). On top of that, some classes of athletes commonly use protein supplements (42).

As shown in Table 2, reported mean intakes were between 12% and 17% TEI or 1.1 and 2.6 g/kg/day for males and between 14% and 16% TEI or 1.1 and 2.4 g/kg/day for females. Therefore, as long as energy intake is adequate, protein insufficiency should not be a problem amongst most athletes, including those covered in this review. Nonetheless, there are certain subgroups of athletes that may be at risk of consuming inadequate amounts of protein. These subgroups include athletes who restrict their energy intake, are vegetarians, or those who have eating disorders (42).

Fat

Fat, in addition to CHO, is a main source of energy during exercise. Fat provides essential fatty acids and fat-soluble vitamins and should complement energy needs by providing 20-30% TEI (21,43). In contrast to glycogen stores which are limited, body reserves of fat are, practically, unlimited (17). The goal of lipid utilization during exercise is to transport lipids to the site of oxidation in muscles where it is used in the oxidative process to furnish energy, thereby sparing limited CHO stores.

Reported mean total fat intake ranged from 30% to 37% TEI for male and from 26% to 33% TEI for female athletes (Table 2). Athletes should focus on maintaining daily fat consumption to between 20-25% of total energy (1,17) and to consume CHO in adequate quantities. Fat intake should have a proportion of 1:1:1 of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids (1,21).

In summary, endurance athletes have low CHO intake, adequate to high protein intake, and high fat intake. A better selection of foods such as that obtained by following a food guide pyramid adapted for endurance athletes (44) should help athletes consume adequate diets in terms of macro and micronutrient composition. It is imperative that nutritionists act urgently to correct dietary deficiencies by emphasizing the importance of adequate CHO intake. In some cases, nutritionists may need to evaluate possible use of carbohydrate supplements for athletes who have difficulty meeting CHO intake needs through food.

Micronutrients

Adequate intake of micronutrients (vitamins, minerals and trace elements) is essential for a number of physiological functions, including energy metabolism and maintenance and repair of body tissues (1,38). Micronutrients should be consumed through selecting varied foods. Also, adequate intake of fluids and electrolytes is of fundamental importance and athletes should attempt to remain well hydrated before, during and after exercise. A discussion of adequate fluid and electrolyte intake is beyond the scope of this review. Fluid replacement for athletes has been previously discussed (45,46).

Evaluating the nutritional status of some vitamins, minerals and, in particular, trace elements is certainly not easy. Apart from the difficulty of accurately measuring all losses, there is a continuing debate as to whether micronutrient levels found in serum represent body reserves (47). At present, daily requirements for some micronutrients have not been clearly established for population sub-groups. Consequently, the Recommended Dietary Allowances (RDA) has been used and, currently, the Dietary Reference Intakes (DRIs) are used for athletes (36).

Dietary micronutrient adequacy analysis

Dietary micronutrient adequacy analysis is presented in Table 3 which shows the characteristics and duration of dietary surveys conducted in the articles reviewed. Also displayed are comments addressing validity of conclusions regarding adequacy or inadequacy of micronutrient intake. These comments take into account nutrition assessment methodology available today (36).

All studies, with the exception of one (6), present analysis for micronutrient adequacy by comparing mean intake to either the RDA (3,5,8,9,10) or to a calculated cut-off point derived from the RDA (7). Some studies used other forms of analysis such as comparing mean intake to data from previously published studies (6,7,10) or by comparing intake of food items and food groups (7,9,10). This approach estimates diet variety which, in turn, indicates micronutrient density. However, though common, it is a mistake to compare mean nutrient intake with RDAs (36) when evaluating dietary survey data. This form of comparison leads to inappropriate conclusions about nutrient adequacy and, hence, any results derived from such comparisons are also questionable.

The results reported reflect the widespread mistake perpetuated in the literature for nutritional group evaluation. Although the claim of a better interpretation of nutritional assessment has long been published in the literature (48), few have since addressed correct interpretation of dietary research data until 2000, when the Institute of Medicine (36) published comprehensive and effective methodology to assess food intake by individuals and groups.

TABLE 3
Previously published dietary assessment studies of vitamins and minerals in endurance athletes

Year	Ref N°	Dietary survey		Intake comparison		General comments on conclusions drawn from results
		Type	Duration (days)	Mean to RDA	to food groups	
1989	6	FR	7	No	No	Determination of micronutrients adequacy is not possible using the methods and results provided. Study conclusions are well-supported by comparing dietary intake during the period of study.
1989	7	FR	3	Yes	Yes	Determination of micronutrients adequacy is not possible using the methods and results provided Study conclusions are based on well-conducted analysis. It shows that, with training-related behavioral changes, dietary intake is improved as compared to the general population.
1989	10	WFR	3	Yes	Yes	Determination of micronutrients adequacy is not possible using the methods and results provided Good evaluation of marginal consumption of micronutrients through intake of some food items was performed.
1990	5	FR	3	Yes	No	Determination of micronutrients adequacy is not possible using the methods and results provided Conclusions of inadequacy cannot be drawn from percentage of athletes with intake below RDA.
1992	8	FR	2	Yes	No	Determination of micronutrients adequacy is not possible using the methods and results provided
1999	3	FR	3	Yes	No	Determination of micronutrients adequacy is not possible using the methods and results provided, especially since extremely high micronutrient intake biased average intake. Conclusions of inadequacy cannot be drawn from percentage of athletes with intake below RDA.
2000	9	WFR	3	Yes	Yes	Determination of micronutrients adequacy is not possible using the methods and results provided A well-structured analysis of food choices is presented which illustrates variability of food intake.

FR – Food Record

WFR – Weighed Food Record

In short, any comparison of nutrient intake to reference values should consider the characteristics of the distribution of usual intake and requirement distributions. The prevalence of nutrient inadequacy depends on the shape and variation of usual intake distribution, not on mean intake. For most nutrients, to have an acceptably low prevalence of inadequate nutrient intake, group mean intake must exceed the RDA. Moreover, in any group, the greater the variability in usual intake relative to the variability in requirements, the greater the mean usual intake must be relative to the RDA to ensure that only a small proportion of the group has inadequate intake (36). If group mean intake equals or even exceeds the RDA, there could still be a substantial proportion of subjects with inadequate intake. This can be true for athletes, especially when supplement usage is counted towards total usual nutrient intake calculations, since extremely high nutrient intake levels by a minority of subjects may bias the average intake of the population due to the large variability of usual intake (3). Comparing mean or median intake either to EAR or RDA or simply looking at mean intake levels is not an adequate approach to assess or imply relative nutrient adequacy of a population group. For this reason, close examination and appropriate utilization of the methodology described in the IOM report (36) is now required by nutrition scientists.

As discussed, to compare mean group intake to the RDA does not determine adequacy of intake. From the results published in the literature, it is not possible to know what proportion of athletes is consuming an adequate amount of vitamins, minerals and trace elements.

As a consequence, there is widespread unease among athletes and coaches when it comes to micronutrient intake. It is advisable to regularly assess athletes' diets and other measures of nutritional status to prevent accumulated seasonal deficiencies (10,17). Certainly, inadequate food intake may cause deficiency in one or more nutrients resulting in deleterious effects, such as impaired physical performance. Possibly, for this reason, there is widespread use of nutrient supplementation, a habit that is prevalent among this population (5,9). Until present, there is no evidence that this practice can improve athletic performance in individuals eating a well-balanced diet (39).

In this regard, the introduction of the Tolerable Upper Intake Level - UL (36) is a new contribution to nutritional evaluation, especially for population groups, such as athletes, that use nutrient supplements on a daily basis over a long period. The UL will help ensure that usual micronutrient intake levels are not so high as to pose adverse health risks to an individual or group of individuals (36). Improved knowledge in

this area is certainly important to control supplement abuse.

As with the RDA, it is not correct to compare mean or median intake to the UL since it will not give the true prevalence of the proportion of athletes at risk of toxicity. The variability of intake distribution must be taken into consideration. Many of the studies reported here were done in the beginning of the 1990's, so it is possible that today's greatly amplified offering of food supplements may result in higher intake of some nutrients in detriment to others. This question is still open for research.

Concluding remarks

There is limited information available on dietary intake and nutrient adequacy of athletes. At present, the studies reporting dietary intake and nutritional status of endurance athletes are insufficient to resolve whether these athletes are maintaining nutritionally adequate diets (3,5-10). This review is directed to the nutrition-minded sport researcher as a call for well-designed research on nutritional needs and habits of male and, particularly, female athletes.

A good model for studying nutrient intake of athletes should integrate dietary assessment methods, physical activity questionnaires, physical performance indicators, body composition measurements and, if possible, the use of an external and independent marker for comparison. Such studies, together with better knowledge of the principles and application of reference intakes (DRIs) for assessing dietary nutrient adequacy would fill the existing gap in reliable information about food intake and nutrient adequacy of athletes. This would allow for more fruitful conclusions and would make possible the establishment of conclusive nutritional recommendations for athletes. The future holds an exciting new perspective in this area.

ACKNOWLEDGMENTS

Júlia A. D. Nogueira gratefully acknowledges the scholarship from CAPES (Ministry of education, Brazil). We thank Dr. José G. Dórea for helpful discussion.

REFERENCES

- American College of Sports Medicine, American Dietetic Association and Dietitians of Canada. Joint Position Statement: nutrition and athletic performance. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32:(12): 2130-2145.
- Grandejan AC. Macronutrient intake of US athletes compared with the general population and recommendations made for athletes. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 1070-1076.
- Sugiura K, Suzuki I, Kobayashi K. Nutritional intake of elite Japanese track and field athletes. *Int J Sport Nutr* 1999; 9: 202-212.
- Williams C. Dietary macro and micronutrient requirements of endurance athletes. *Proc Nut Soc* 1998; 57: 1-8.
- Worme JD, Doubt TJ, Singh A, Ryan CJ, Moses FM, Deuster PA.. Dietary patterns, gastrointestinal complaints, and nutrition knowledge of recreational triathletes. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 690-697.
- Janssen GME, Graef CJJ, Saris WHM. Food intake and body composition in novice athletes during a training period to run a marathon. *Int J Sports Med* 1989; 10: S17-S21.
- Nieman DC, Butler JV, Pollett LM, Dietrich SJ, Lutz RD. Nutrient intake of marathon runners. *J Am Diet Assoc* 1989; 89: 1273-1278.
- Barr SI, Costill DL. Effect of increased training volume on nutrient intake of male collegiate swimmers. *Int J Sports Méd* 1992; 13: 47-51.
- García-Rovés PM, Terrados N, Fernández S, Patterson AM. Comparison of dietary intake and eating behavior of professional road cyclists during training and competition. *Int J Sport Nutr Exerc. Metab* 2000; 10: 82-98.
- Keith RE, O'Keeffe KA, Alt LA, Young KL. Dietary status of trained female cyclists. *J Am Diet Assoc*; 1989; 89: 1620-1623.
- Storlie J. Nutrition assessment of athletes: A model for integrating nutrition and physical performance indicators. *Int J Sport Nutr* 1991; 1: 192-204.
- American Dietetic Association and Canadian Dietetic Association, Position of The American Dietetic Association and The Canadian Dietetic Association: Nutrition for physical fitness and athletic performance for adults. *J Am Diet Assoc* 1993; 93:691-696.
- Marcus JB (Ed.). *Sports Nutrition: A guide for the professional working with active people*. Chicago: Sports and cardiovascular nutrition practice group, The American Dietetic Association, 1986.
- McArdle WR, Katch FI, Katch VL. *Exercise physiology: energy, nutrition and human performance*. Williams & Wilkins, 1996, 850p.
- World Health Organization (WHO). *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 1997.
- Avlonitou E, Georgiou E, Douskas G, Louizi A. Estimation of body composition in competitive swimmers by means of three different techniques. *Int J Sports Med* 1997; 18:363-368.
- Economos CD, Bortz S, Nelson ME. Nutritional practices of elite athletes, practical recommendations. *Sports Méd* 1993; 16 (6): 381-99.
- Frentsos JA, Baer JT. Increased energy and nutrient intake during training and competition improves elite triathletes' endurance performance. *Int J Sport Nutr* 1997; 7: 61-71.
- Van Erp-Baart AMJ, Saris WHM, Binkhorst RA, Vos JA, Elvers JWH. Nationwide survey on nutritional habits in elite athletes. Part I. energy, carbohydrate, protein and fat intake. *Int J Sports Méd* 1989; 10: S3-S10.
- FAO/ WHO/ UNU Expert Consultation: Energy and protein requirements. WHO technical report series 724. Geneva: World Health Organization, 1985, 220p.
- Institute of Medicine (IOM). *Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrates, fiber, fat, protein and amino acids (Macronutrients)*. Washington DC: National Academy Press, 2002, 936p.

22. Baeck JAH, Burema J, Frijters JER. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 936-942.
23. Hill JR, Davies PSW. The validity of self-reported energy intake as determined using the doubly labeled water technique. *Br J Nutr* 2001; 85: 415-430.
24. Thompson JL. Energy balance in young athletes. *Int J Sport Nutr* 1998; 8: 160-174.
25. Khoo C, Rawson NE, Robinson ML, Stevenson RJ. Nutrient intake and eating habits of triathletes. *Annals of Sports Méd* 1987; 3: 144-150.
26. Bingham SA, Gill C, Welch A, Day K, Cassidy A, Khaw KT, Sneyd MJ, Key TJA, Roe L, Day NE. Comparison of dietary assessment methods in nutritional epidemiology: weighed records v. 24h recalls, food-frequency questionnaires and estimated-diet records. *Br J Nutr* 1994; 72: 619-643.
27. Hill AJ, Rogers PJ, Blundell JE. Techniques for the experimental measurement of human eating behavior and food intake: a practical guide. *Int J Obesity* 1995; 19: 361-375.
28. Sorenson AW, Calkins BM, Connolly MA, Diamond E. Comparison of nutrient intake determined by four dietary intake instruments. *J Nutr Educ* 1985; 17 (3): 92-99.
29. Heitmann BL, Lissner L, Osler M. Do we eat less fat, or just report so? *Int J Obesity* 2000; 24: 435-442.
30. Goldberg GR, Black AE, Jebb SA, Cole TJ, Murgatroyd PR, Coward WA, Prentice AM. Critical evaluation of energy intake data using fundamental principals of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. *Eur J Clin Nutr* 1991; 45: 569-581.
31. Delvin JT, Williams C. Foods, nutrition and sports performance; a final consensus statement. *J Sports Sci* 1991; 9 suppl. 9, iii.
32. Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for thiamin, riboflavin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin and coline. Washington DC: National Academy Press, 1999. 592p.
33. Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluorid. Washington DC: National Academy Press, 1999. 448p.
34. Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. Washington DC: National Academy Press, 2000. 506p.
35. Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington DC: National Academy Press, 2001. 650p.
36. Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes: Applications in Dietary Assessment. National Academy Press, 2000. 285p.
37. Burke LM, Slater G, Broad EM, Haukka J, Modulon S, Hopkins WG. Eating patterns and meal frequency of elite Australian Athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2003; 13: 521-538.
38. Brotherhood JR. Nutrition and sports performance. *Sports Med* 1984; 1: 350-389.
39. Weight LM, Myburgh KH, Noakes TD. Vitamin and mineral supplementation: effect on the running performance of trained athletes. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 192-195.
40. Burke LM, Cox GR, Culmings NK, Desbrow B. Guidelines for daily carbohydrate intake: do athletes achieve them? *Sports Med* 2001; 31(4): 267-299.
41. Costill DL. Carbohydrates for exercise: Dietary demands for performance. *Int J Sports Med* 1988; 9: 1-18.
42. Lemon PWR. Effects of exercise on dietary protein requirements. *Int J Sport Nutr* 1998; 8: 426-447.
43. FAO/ OMS. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Série de informes técnicos n° 797, 1990. 228p.
44. Nogueira JAD, Da Costa THM. Nutrient intake and eating habits of triathletes on a Brazilian diet. *Int. J. Sport. Nutr. Exerc. Metab* 2004; 14: 684-697.
45. American College of Sports Medicine. Position Stand: Exercise and fluid replacement. *Med. Sci. Sports Exerc* 1996; 28: i-vii.
46. Casa DJ, Armstrong LE, Hillman SK, Montain SJ, Reif RV, Rich BSE, Roberts WO, Stone JA. National Athletic Trainers' Association Position Statement: Fluid replacement for athletes. *J. Athletic Training* 2000; 35(2): 212-224.
47. Nuviala RJ, Lapieza MG, Bernal E. Magnesium, zinc and copper status in women involved in different sports. *Int J Sports Nutr* 1999; 9: 295-309.
48. Beaton GH. Criteria of an adequate diet. In: Shils ME, Olson JA and Shike M. (eds.) *Modern nutrition in Health and disease*, 8th ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1994. pp. 1491-1505.

Recibido: 22-07-2004

Aceptado: 14-04-2005

Effect of a rice bran fiber diet on serum glucose levels of diabetic patients in Brazil

Cecilia Rodrigues Silva, José Eduardo Dutra de Oliveira, Rui Augusto Hudari Gonçalves de Souza, Hugo Candido Silva

Department of Toxicological, Bromatological and Clinical Analysis, Faculty of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, Department of Medicine, Medical School of Ribeirão Preto, Division of Nutrology, Department of Medicine, Medical School of Ribeirão Preto. University of São Paulo - Brazil

SUMMARY. Eleven diabetic patients: 5, type 1 and 6, type 2 received a low-fiber diet (I) during 1 week and during the next 7 days the same diet, enriched with 40g of fiber (30,6% insoluble and 11,7% soluble components) from rice bran (II) per day. Results showed that mean fasting and postprandial serum glucose levels were reduced, but values of high fiber diet were significantly lower ($p < 0,001$) than that of the lower fiber diet. For all patients, the high-fiber diet increased fecal weight. This increase was due to the fiber excreted, rather than water retained. There was no relationship between the increase in fiber intake and its fecal excretion. Sucrose and raffinose were found in the bran, but not in the feces. Lactose was present in the stools of the patients receiving enriched diet.

Keywords: Fiber, rice bran, diabetes.

RESUMEN. Efecto del salvado de arroz como dieta en fibra en los niveles séricos de glucosa de pacientes con Diabetes Mellitus en Brasil. Once pacientes diabéticos: 5, tipo 1 y 6, tipo 2 ingirieron durante una semana una dieta baja en fibra (I) y durante otros siete días, otra enriquecida con 40 g por día de fibra (30,6% insoluble y 11,7% soluble) del salvado de arroz (II). Los resultados mostraron que el valor medio de las glucemias de ayuno y posprandial fue reducido ($p < 0,001$) cuando fueron sometidos la dieta II. En cada paciente, la dieta alta en fibra provocó aumento en el peso fecal. Este aumento se debió mas a la fibra excretada que al agua retenida. No hubo correspondencia entre el aumento en el consumo de fibra y la excreción fecal. Se constató la presencia en el salvado de arroz, de sacarosa y rafinosa, pero no en las heces. Se registró la presencia de lactosa en heces cuando los pacientes ingirieron dieta alta en fibra.
Palabras clave: Fibra, salvado de arroz, diabetes.

INTRODUCTION

'Dietary fiber' includes a complex association of different plant polysaccharides, such as cellulose, hemicellulose, pectin, gums, mucilage and lignin, which are resistant to hydrolysis caused by the endogenous enzymatic secretions from human digestive tract (1). Cellulose, hemicellulose and lignin constitute the insoluble fibers, while pectin, gums, and mucilage are soluble fibers.

It is important to know these components in order to understand and explain the physiological and therapeutic effects associated to fiber intake, which has great importance for diabetic patients. Diabetes incidence was rare among African people from small towns,

eating high amounts of fiber, while this disease is common on Western populations, whose diet is low in fiber (2,3).

Traditionally low carbohydrates diets of diabetic patients has been altered during the last 20 years based on the a beneficial action of increased fiber intake on the glucose levels (4-6). Supplement or natural fiber added to the diets decreases these serum levels (7,8). This action is more pronounced when food is rich in dietary fiber (35-45g per day) as in complex carbohydrates (55-65% per day) (9-11).

There is an increased interest on the effect of cereal bran on serum glucose levels (12-15). Epidemiological studies support that high intake of whole grain foods protects against the development diabetes mellitus, type 2 (14). Diets high in rapidly absorbed carbohydrates and low in cereal fiber are associated with an increased risk of type 2 diabetes (13). Some studies emphasize that rice bran should be used not only because of its high levels of protein, fat, carbohydrates and minerals, but also of its indigestible residue (12). Additionally, there are studies (16-19) demonstrating that rice bran has a hypocholesterolemic effect on patients who had high levels of serum lipids. Researchers at University of Tohoku, Japan, fragmented the rice bran components and found that polysaccharides (fiber components) isolated from watery extract played a hypoglycemic role on mice with normal serum glucose as well as on those alloxan-induced hyperglycemics (17).

The present paper studied the composition of Brazilian rice bran fiber (insoluble and soluble compounds), the serum glucose levels of selected diabetic patients attended at the University Hospital of Ribeirão Preto, Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo - Brazil, fed a high rice bran fiber diet and the patients' fecal excretion of monosaccharides and oligosaccharides.

MATERIALS AND METHODS

Eleven diabetic patients, 5 insulin-dependent (type 1) and 6 type 2 (4 treated with oral hypoglycemic agents and 2 controlled by diet) participated in the study. Patients were of both gender, aged between 45-60 years old, were selected according to the following criteria: diabetes controlled by insulin, diabetes controlled by oral hypoglycemic agents and or diabetes controlled by diet. Patients were selected through the University Hospital of Ribeirão Preto, Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo – Brazil. Ethical approval of the study was obtained from the Hospital Ethics Review Committee. Patients signed an informed consent form agreement to participate in the study. An information document was given to each participant.

The diets offered were referred as I and II, according to the amount of rice bran added to them, that is low-fiber and high-fiber diets. Food content of diet I were: corn starch, skimmed milk, banana, bean (broth), meat, lettuce, tomato, pineapple juice, roast chicken, French bread, orange juice, apple juice, cooked rice, mashed potatoes, margarine and soy oil. Food components of diet II were the same, except for corn starch and margarine, which were caloric replaced by rice bran. Potatoes and soy oil were reduced in the 2 diets to 50g and 5g, keeping them isocaloric. The diet II included 40g of fiber a day (2g / 100Kcal), four times more than diet I.

All patients under study were admitted to the University Hospital for 16 days. They were fed with one of the diets during 1 week in alternating sequence. Patients 1, 3, 5, 7, 9, and 11 were initially given the diet I and then on the 2nd week diet II, while patients 2, 4, 6, 8, and 10 were initially given on the first week diet II and on the 2nd diet I. Fasting (7:00 A. M.) and postprandial (2 hours after lunch) blood was drawn daily, from each patient. Blood was sent to the Hospital Laboratory, where the serum was separated and glucose measured.

The feces were collected daily after the appearance of fecal carmine markers until the 7th day of period I and II. After being collected they were packaged separately in plastic bags and frozen. Afterward they were sent to the laboratory of Bromatology of Faculty of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto (FCFRP – São Paulo University) where were analyzed.

Availability of rice bran

Rice bran was bought on a specific place at the local market. It is obtained as a subproduct of white rice processing produced by rice processing machine. Its quality was checked by an Institute specialized in microbiological analysis of food. Therefore, the analyzed rice bran was used on the meals prepared at the Dietetic Kitchen of the University Hospital to be eaten by the patients.

Components of rice bran

Water, fixed mineral residues, oils and proteins were determined according to the techniques of the Association of Official Analytical Chemists - AOAC (20). The total amount of carbohydrates was calculated by difference, subtracting 100 from the sum of other fractions.

Analysis of dietary fiber insoluble components in rice bran and feces

Methodologies proposed by Van Soest (21) and Van Soest & Wine (22) were employed to measure cellulose, lignin and hemicellulose.

Analysis of dietary fiber soluble in rice bran and feces

The modified procedure proposed by Mc Ready & Mc Comb (23) was employed to determine the total of pectic substances.

Identification of monosaccharides and oligosaccharides in rice bran and feces

Using the thin layer chromatography (24), monosaccharides and oligosaccharides were identified in the extracts.

Assessment of blood glucose levels

The glucose serum levels of the patients were evaluated through a commercial kit, enzymatic method of glucose oxidase (25), using the Automatic Equipment Tecnicon RA -1000.

Statistical analysis

Tukey's test (DIXON & MASSEY JR.) (26) and T-Student were employed in order to analyze fasting or postprandial serum glucose data as well as the relationship of fiber intake and excreted.

RESULTS

Rice bran components

The product had high protein and oil content (15.96% - 14.95%), as well as 14.39% of carbohydrate, in a proportion of 1:1:1.

Dietary fiber components

Rice bran had the following amounts of insoluble components: cellulose 5.50%, hemicellulose 18.21% and lignin 6.95%. Of soluble fractions represented by pectic substances was found 11.71%, amounting to a total of 42.37% of dietary fibers.

Serum glucose during low and high dietary fiber periods

It was found lower fasting glucose levels in the serum, more evident in patients 4 and 8, both treated with oral hypoglycemic agents. The same happened to patient 1, an insulin-dependent. Patients 7 and 9, both treated with diet only, the glucose reduction was smaller compared to that of other patients (Table 1).

The postprandial serum glucose in patient 11 - the oral hypoglycemic one - showed the highest glucose reduction, followed by patients 8 and 3. The same reduction was observed in patients 9 and 10. It was also found that patients 4 and 5 receiving oral hypoglycemic drug and the insulin-dependent one, showed the lowest serum glucose reduction (Table 1).

TABLE 1
Fasting and postprandial serum glucose (mean $X \pm SD$) values in diabetic patients:
high-fiber period versus low-fiber period

Patient	¹ Fasting serum glucose (mmol/L)		Mean glycemic serum reduction*	² Post prandial serum glucose (mmol /L)		Mean glycemic serum reduction*
	period I	period II		period I	period II	
1 - C.C.T. 25*U insulin NPH 100	11,43	7,66	3,77	11,82	10,15	1,67
2 - N.P.F. 60U insulin NPH 100 (7:00 A. M.) and 15U insulin NPH 100 (5:00 P.M.)	6,99	4,82	2,17	7,27	6,21	1,06
3 - D.P.F. oral hypoglycemic	6,54	5,60	0,94	9,21	6,16	3,05
4 - A.P.L. oral hypoglycemic	10,54	6,10	4,44	7,71	7,04	0,67
5 - M.A.C. 50 U insulin NPH 100	13,37	11,43	1,94	16,65	15,98	0,67
6 - R.O.D. 20 U insulin NPH 100	17,87	14,93	2,94	17,87	15,60	2,27
7 - L.R.S. diet	7,27	5,88	1,39	8,66	7,43	1,23
8 - N.A.W. oral hypoglycemic	10,04	6,21	3,83	12,82	9,54	3,28
9 - A.L.N. diet	7,27	5,93	1,34	12,60	10,60	2,00
10 - M.G.M. 25 U insulin NPH 100	7,38	5,10	2,28	9,77	7,77	2,00
11 - S.A.S. oral hypoglycemic	7,16	4,71	2,45	13,76	9,10	4,66
$X \pm SD$	$9,60 \pm 3,5$ 0,40	$7,10 \pm 0,90$ $p < 0.001$		$11,65 \pm 3,5$ 0,28	$9,10 \pm 2,7$ $P < 0.001$	

1 = normal values: 3,89 - 6,11 mmol/L

2 = normal values: 3,89 - 8,89 mmol /L

period I = low-fiber diet

period II = high-fiber diet

*period I value minus period II value

Dietary fiber excreted

In order to evaluate the total amount of fiber excreted and the amount of each component, the data and the average, in grams, of both ingested and excreted material by each patient per day (Table 2) shows that the proportion of increased fiber intake and fecal excretion was not maintained. The former increased a fourfold average and the later increased much less.

TABLE 2
Average dietary fiber content (g/day) ingested and excreted by diabetic patients treated with diet I or II

	cellulose	hemicellulose	lignin	total
diet I				
ingested	1.89	6.50	1.90	10.29
excreted	0.26 ± 0.30	3.51 ± 2.21	2.30 ± 1.65	6.03 ± 3.93
T-Student	15.88**	4.47**	0.80*	3.59*
diet II				
ingested	7.39	24.0	8.85	40.24
excreted	0.68 ± 0.40	5.37 ± 2.50	5.03 ± 1.79	11.09 ± 4.30
T-Student	55.06**	24.48**	7.06**	22.47**

diet I: low-fiber diet

diet II: high-fiber diet

**p < 0.001 *p < 0.05

Monosaccharides and oligosaccharides in the rice bran

The methodology applied to alcoholic extracts allowed us to identify both sucrose and raffinose in the rice bran.

Monosaccharides and oligosaccharides in fecal material

The qualitative fecal analysis of fecal material from the 11 patients showed that the alcoholic extracts obtained from the high-fiber period of four patients had increased amounts of glucose, galactose and lactose. Furthermore, it was observed an increased elimination of oligosaccharides with greater molecular weight in four patients.

DISCUSSION

Blood glucose during low and high dietary fiber periods

In period II, the fasting and postprandial glucose mean values were lower than those of period I. It happened in all patients of this study. Considering fasting normal serum glucose values as 3.89-6.11 nmol/L, none of the patients receiving the low-fiber diet reached these levels. On the other hand 7 out of 11 patients showed normal serum glucose levels on high-fiber diet (Table 1).

The mechanism to explain the fiber role on the improving of the glucose metabolism is unknown. Insulin might play a role on diabetic patients by increasing their sensibility to this drug (27). Other studies of glucemic response (28, 29) suggest that the fiber might act on starch assimilation. One can

speculate whether the basic mechanisms of the fiber inhibitory effect on starch absorption can be, in part due to mechanical action, through changes on the intestinal transit-times or by interference of digestive enzymes.

These results indicate that diet containing rice bran, which is rich in both soluble and insoluble fibers, contributed to the reduction of glucose in diabetic patients.

Dietary fiber excreted

Values reported by WALTERS et al. (30) and SOUTHGATE et al. (31) regarding the "apparent digestibility" of cellulose by human body show a large variation. This could be explained by the different intestinal flora found in each individual. WILLIAM & OLMSTED (32) have demonstrated that normal individuals who had ingested a high-fiber diet excreted less cellulose than that consumed suggesting that part of it had been digested.

Results regarding the variation factor "periods" (Table 2), revealed statistically significant difference ($p < 0.001$ or $p < 0.05$) between periods I and II. According to these data, there seems to be a probable bacterial digestion greater for some cellulose residues than for others. Higher intake, higher cellulose residue degraded. Knowing the products from such degradation, which involves short-chain fatty acids, one can speculate on their possible increased absorption. This absorption may be responsible for the effects observed in glucose serum levels; such a mechanism has been accepted by some authors (33,34).

Monosaccharides and oligosaccharides

Non-reductor saccharides like sucrose and raffinose found in rice bran could be confirmed (28). In the present study it could also be observed the non-existence of glucose and stachyose.

The qualitative analysis of fecal extracts from the 11 patients showed that lactose elimination occurred in some cases following an increased fiber intake. Thus, one can admit that such an increase has hindered the biological utilization of part of the milk sugar. Also, the majority of patients treated with high-fiber diet had excreted glucose and galactose under this circumstance.

A study by SCHNEEMAN (35) shows that carbohydrates involved by dietary fibers can be protected against digestive enzymes. In this mechanic action, the fiber nutrients do not suffer complete digestion and absorption because they are not so accessible to the enzymes. Furthermore, the fiber may inactivate partially the digestive enzymes.

In conclusion, it was demonstrated that rice bran is rich in both soluble and insoluble dietary fiber. All the diabetic patients of this study receiving the bran showed, on average, a significant decrease in both fasting and postprandial glucose levels. In terms of absolute value, more components of soluble fiber were excreted in the feces (g/day) following the high-

fiber diet. According to the data on ingestion, however, the values of cellulose excretion in both periods (I and II) were quite similar, while the excretion values for hemicellulose and lignin decreased following the high-fiber diet. Both sucrose and raffinose were identified in rice bran. Glucose, galactose, and lactose (mainly) were found in the fecal material excreted during the high-fiber diet period.

REFERENCES

1. Trowell HC. Definition of dietary fiber and hypothesis that is a protective factor in certain diseases. *Am J Clin Nutr* 1976; 29: 417-427.
2. Trowell HC. Dietary fiber hypothesis of the etiology of Diabetes mellitus. *Diabetes* 1975; 24: 762-765.
3. Marlett JÁ, Mc Burney MI, Slavin JI. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *J Am Diet Assoc* 2002; 102: 993-1000.
4. Miranda PM, Horwitz DL. High fiber diets in the treatment of Diabetes Mellitus. *Ann Intern Med* 1978; 88: 482-486.
5. Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, Von Bergmann K, Grundy SM, Brinkley LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2000; 342:1392-1398.
6. Franz MJ. Carbohydrate and diabetes is the source or the amount of more importance? *Curr Diab Rep* 2001; 1: 177-186.
7. Tabatabai A, Li S. Dietary fiber and type 2 diabetes. *Clin Excell Nurse Pract* 2000; 4: 272-276.
8. Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Vuksan V. High-complex carbohydrate or lente carbohydrate foods? *Am J Med* 2002; Suppl 9B: 30S-37S.
9. Parillo M, Riccardi G. Diet composition and the risk of type 2 diabetes: epidemiological and clinical evidence. *Br J Nutr* 2004; 7-19.
10. Anderson JW, Randles KM, Kendall CW, Jenkins DJ. Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: a quantitative assessment and meta-analysis of the evidence. *J Am Coll Nutr* 2004; 23: 5-17.
11. Campbell L. Diabetes – the best diet? *Asia Pac J Clin Nutr* 2004; 13: S 8.
12. Tomlin J, Read NW. Comparison of the effects on colonic function caused by feeding rice and wheat bran. *Eur J of Clin Nutr* 1988; 42: 857-861.
13. Schulze MB, Liu S, Rimm EB, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 348-356.
14. Venn BJ, Mann JI. Cereal grain, legumes and diabetes. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58: 1443-1461.
15. Montonen J, Knekt P, Jarvinen R, Aromaa A, Reunanen A. Whole-grain and fiber intake and the incidence of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 622-629.
16. Barber S, De Barber CB. Rice bran: Chemistry and Technology. En: Luh BS. Rice: production and utilization. West Port: Avi; 1980. p. 790-862.
17. Hikino H, Takahashi M, Oshima Y, Konno C. Isolation and hypoglycemic activity of orizabrans A, B, C and D glyicans of *Oriza sativa* bran. *Planta Medica* 1988; 54: 1-3.
18. Gerhardt A L, Gallo NB. Full-fat rice bran and oat bran similarly reduce hypercholesterolemia in humans. *J Nutr* 1998; 128: 865-869.
19. Truswell AS. Cereal grains and coronary heart disease. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 1-14
20. Association of Official Analytical Chemists. Official Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC. 14th ed. Washington, D.C., The Association; 1984. p. 1141.
21. Van Soest PJ. Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. I A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J Assoc Off Anal Chem* 1963; 46: 829-835.
22. Van Soest PJ, Wine RH. IV Use of detergents in the analysis of fibrous feed. Determination of plant cell wall constituents. *J Assoc Off Anal Chem* 1967; 50:50-55.
23. Mc Cready RM, Mc Comb EA. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. *Anal Chem* 1952; 24: 1986-1988.
24. Lato M, Brunelli B, Ciuffini G. Analysis of carbohydrates in biological fluids by means of thin layer chromatography. *J Chromatogr* 1968; 36: 191-197.
25. Young DS. Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests. 1° ed. Washington. AACC Press: 1993.
26. Dixon WJ, Massey Jr., FJ Several populations analysis of variance. En: Introduction to statistical analysis. 14 Ed. Singapore, Mc Graw – Hill; 1983. p.161-208.
27. Ylonen K, Saloranta C, Kronberg-Kippila C, Groop L, Aro A, Virtanen SM. Associations of dietary fiber with glucose metabolism in nondiabetic relatives of subjects with type 2 diabetes: the Botnia Dietary Study. *Diabetes Care* 2003; 26: 1979-1985.
28. Blackburn NA, Redfern JS, Jarjis H, Holgate AM, Hanning I, Scarpello JHG et al. The mechanism of action of guar gum in improving glucose tolerance in man. *Clin Sci* 1984; 66: 329-336.
29. Hamberg O, Rumessen JJ, Gudmand-Hoyer E. Inhibition of starch absorption by dietary fibre. A comparative study of wheat bran, sugar-beet fibre, and pea fibre. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 103-109.
30. Walters RL, Baird IMcL, Davies PS, Hill MJ, Drassar BS, Southgate DAT et al. Effects of two types of dietary fiber on faecal steroid and lipid excretion. *Br Med J* 1975; 2: 536-538.
31. Southgate DAT, Branch WJ, Hill MJ, Drassar BS, Walters RL, Davies PS et al. Metabolic responses to dietary supplements of bran. *Metabolism* 1976; 25:1129-1135.
32. William R, Olmsted WH. The effect of cellulose, hemicellulose and lignin on the weight of the stool: a contribution to the study of laxation in man. *J Nutr* 1936; 11: 433-449.
33. Kumar C, Rachappaji K, Nandini C, Sambaiah K, Salimath P. Modulatory effect of butyric acid a product of dietary fiber fermentation in experimentally induced diabetic rats. *J Nutr Biochem* 2002; 13: 522
34. Chethankumar M, Salimath PV, Sambaiah K. Butyric acid modulates activities of intestinal and renal disaccharidases in experimentally induced diabetic rats. *Nahrung* 2002; 46: 345-348.
35. Schneeman BO. The effect of plant fiber on trypsin and chymotrypsin activity in vitro. *Fed Proc* 1977; 36: 1118.

Recibido:13-03-2003

Aceptado: 28-03-2005

Efecto de la suplementación con las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico en los niveles de homocisteína y lípidos plasmáticos en pacientes con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV

Alba Rosa Morón de Salim y Antonio Garcés Pasamontes

Departamento de Bioquímica. Escuela de Medicina. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo.
Valencia. Estado Carabobo. Venezuela

RESUMEN. Los casos de hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV se manifiestan por una marcada elevación de triglicéridos, colesterol normal o elevado y homocisteína ligeramente elevada. Se investigó el efecto del suplemento de las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico, sobre los niveles de homocisteína y lípidos plasmáticos, en 24 pacientes masculinos, edad de 35-68 años inclusive, con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV e isquemia del miocardio, sin previo tratamiento con hipolipemiente. Los pacientes fueron suplementados con dosis terapéuticas en tabletas de vitamina B₁₂, (500 µg/día), B₆, (600 mg/día) y ácido fólico (20 mg/día), durante 120 días. Se determinó homocisteína, triglicéridos, colesterol total y fraccionado, a (basal), 30, 60, 90 y 120 días. Se aplicaron análisis estadísticos descriptivos, coeficiente de correlación de Pearson, prueba de "t", grado de confianza p<0.005; con programa estadístico SPSS versión 8.0. Los resultados mostraron disminución de homocisteína (basal) de 17,1±0,7 µmol/L a 13,18±0,83 µmol/L. Los triglicéridos (TG), colesterol total (CT), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) disminuyeron (21,8 mg/dl; 8,5 mg/dl; 5,87 mg/dl; respectivamente) por µmol/L de homocisteína reducido, con (p<.001) para los triglicéridos, al final del período experimental. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) incrementaron 1,1 mg/dl y el riesgo coronario disminuyó en un 24%. Se concluye, que dosis terapéuticas de las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico, pueden ser efectivas para reducir las concentraciones de homocisteína y lípidos en plasma, con una disminución del riesgo coronario, en este tipo de pacientes, sin que ocurran efectos colaterales de neuropatías.

Palabras clave: Hiperlipoproteinemia, homocisteína, vitamina B₁₂, vitamina B₆, ácido fólico, triglicéridos, riesgo coronario

INTRODUCCION

Reducir los lípidos plasmáticos ha sido uno de los objetivos principales de los clínicos médicos e investigaciones clínicas. La mayoría de las alteraciones lipídicas son tratadas con hipolipemiantes farmacológicos, inhibidores competitivos de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA) que interrumpe la biosíntesis del colesterol en

SUMMARY. Effect of the supplementation of vitamins B₁₂, B₆ and folic acid on homocysteine and plasmatic lipids in patients with hyperlipoproteinemic secondary type IV. The cases of hyperlipoproteinemic secondary type IV are manifested by elevation of triglycerides, with normal or high cholesterol and lightly high homocysteine. The effect of vitamins B₁₂, B₆ and folic acid, on homocysteine and lipids, in 24 male patients, 35-68 years, with hyperlipoproteinemia secondary type IV with myocardial ischemic, and without previous treatment of hypolipemiant, was investigated. The patients were supplemented with therapeutic doses tablets of vitamin B₁₂, 500 (µg/day); B₆, (600 mg/day) and folic acid (20 mg/day), during 120 days. Homocysteine, triglycerides, total and fractional cholesterol, at (basal), 30, 60, 90 and 120 days, were determined. Descriptive statistical analyses were applied, coefficient of correlation of Pearson and proves of "t", with a p <0.005; the data were processed by statistical program SPSS version 8.0. The results showed a decrease in the levels of homocysteine from basal 17,1±0,7 µmol/L to 13,18±0,83 µmol/L, at the end of experimental period. The triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein (LDL), very low density lipoprotein (VLDL) showed a reduction of (21,8 mg/dl; 8,5 mg/dl; 5,87 mg/dl; respectively) for every µmol/L of reduced homocysteine, with (p <0,001) for triglycerides. High density lipoprotein (HDL) increased 1,1 mg/dl and coronary risk descent in 24%. We concluded that therapeutic doses of vitamins B₁₂, B₆ and folic acid, may is effective in decreased plasmatic homocysteine levels and lipids, mainly triglycerides, with a reduction of coronary risk, to these type of patients, with not collateral effects of neuropathy

Key words: Hiperlipoproteinemia, homocysteine, vitamin B₁₂, vitamin B₆, folic acid, triglycerides, coronary risk.

células hepáticas y periféricas (1). Se ha sugerido que los hipolipemiantes farmacológicos pueden provocar un incremento en los niveles plasmáticos de homocisteína aminoácido éste proveniente del catabolismo de la metionina (2).

Individuos con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV se caracterizan por presentar una marcada elevación de los triglicéridos plasmáticos, colesterol normal o elevado, una concentración de homocisteína ligeramente elevada, así como

una resistencia de la insulina al metabolismo de la glucosa (3). La homocisteína ha sido relacionada con enfermedades cardiovasculares, y es un factor de riesgo modificable a través de la dieta. Las deficiencias en los cofactores vitamínicos, principalmente ácido fólico, vitamina B₆ y vitamina B₁₂, requeridos en el metabolismo de este aminoácido, son los factores que se han asociado con las concentraciones elevadas de homocisteína, demostrado en estudios retrospectivos, de casos control y de cohorte prospectiva (4 -7). En este mismo orden de ideas, la elevación de los niveles de homocisteína en plasma se ha relacionado con los niveles elevados de colesterol y triglicéridos plasmáticos (8). Esto permite adelantar que, ciertos factores son potencialmente modificables, entre ellos la deficiencias de estas vitaminas, por los que en el presente trabajo, se investigó el efecto de la suplementación de las vitaminas B₆, B₁₂ y ácido fólico en los lípidos y homocisteína plasmática en un grupo de 24 pacientes con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV, con isquemia al miocardio y sin tratamiento con hipolipemiente.

METODOLOGIA

Con el previo consentimiento informado de cada voluntario que aceptó participar en el estudio, para beneficio de su salud, se logró una muestra de 24 pacientes adultos masculinos, entre 35 y 68 años inclusive, caracterizados por presentar hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV, según estudio previo (9). Todos con isquemia al miocardio, sin tratamiento previo con hipolipemiantes. El tipo de investigación fue clínica, longitudinal y de carácter correlacional.

Procedimiento. Los 24 pacientes recibieron tabletas en dosis terapéutica de: 600 mg de vitamina B₆, 500 µg de vitamina B₁₂ y 20 mg de ácido fólico diarios y durante 120 días, indicados por el médico tratante. Estas dosis vitamínicas permitirían inducir la máxima actividad de las enzimas responsables del catabolismo de la homocisteína que posiblemente pudiesen estar deficientes en estos pacientes. Cantidades de hasta 750 mg/día de piridoxina han sido administradas en individuos homocigotos para el tratamiento de la hiperhomocisteinemia sin que se presentasen problemas de neuropatía, así como la suplementación de elevadas dosis de ácido fólico y vitamina B₁₂ no han producido efectos adversos (10-12). Todos los pacientes mantuvieron restringido el consumo de excesiva cantidad de carbohidratos, controlados mensualmente mediante la Hb-glucosilada, para mantener el valor de glicemia entre 90 y 140 mg/dl; dado que se ha podido demostrar que una modificación del patrón dietético se refleja en la composición del perfil lipídico (13).

El grupo cumplió con los siguientes criterios de inclusión (9): aumento de triglicéridos (>160 mg/dl); aumento del nivel de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL > 30 mg/dl);

normalidad o elevación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL \pm 150 mg/dl); normalidad o poca elevación del colesterol total \pm 220 mg/dl); tolerancia a la glucosa alterada, infarto al miocardio; Hb-glucosilada inferior a 9.

Se mantuvo en estricta confidencialidad la identificación de los participantes y los datos recolectados durante el estudio fueron utilizados para fines científicos y beneficios de los participantes.

Laboratorio. Se extrajo sangre con un ayuno previo de 12 horas y se obtuvo mediante punción venosa periférica (10 ml), se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min; el suero se repartió en dos tubos; uno para la determinación de homocisteína y el otro para cuantificar los lípidos.

Homocisteína total. Se determinó por inmuno-ensayo enzimático (14); se siguieron las instrucciones y procedimientos descritos para el Kit de reactivos producidos por Bio-Rad Laboratories, California USA. (Valor de referencia (V.R.): 6,5 - 14,5 µmol/L).

Triglicéridos. (TG) Determinados por el método enzimático, de lectura fotolorimétrica (15); se siguieron las instrucciones y procedimientos descritos para el Kit de reactivos, producido por la Boehringer Mannheim GMBH Diagnostica, Alemania. (V.R: 40 -160 mg/dl).

Colesterol total. (CT) Se determinó por el método enzimático, de lectura fotolorimétrica (16); se siguieron las instrucciones y procedimientos descritos para el Kit, producido por Reagents Applicatios, Inc. USA. (V.R. 150 - 220 mg/dl).

Colesterol fraccionado (LDL, VLDL y lipoproteínas de alta densidad (HDL)). La separación de las diferentes lipoproteínas del plasma se efectuó según el método de Camejo y col (17). Se usó el Kit de Wiener Lab. (V.R en hombres: HDL-C: 38-55 mg/dl; VLDL-C: 11-30 mg/dl; LDL-C: 90-150 mg/dl).

Análisis estadísticos. Los resultados obtenidos son la media aritmética de los valores individuales obtenidos por duplicados. Se aplicaron estadísticos descriptivos, (máximos y mínimos), desviación estándar, prueba de "t", y matriz de correlación de Pearson. Grado de confianza de $p < 0.005$. Todos los datos fueron procesados mediante el programa estadístico SPSS versión 8.0.

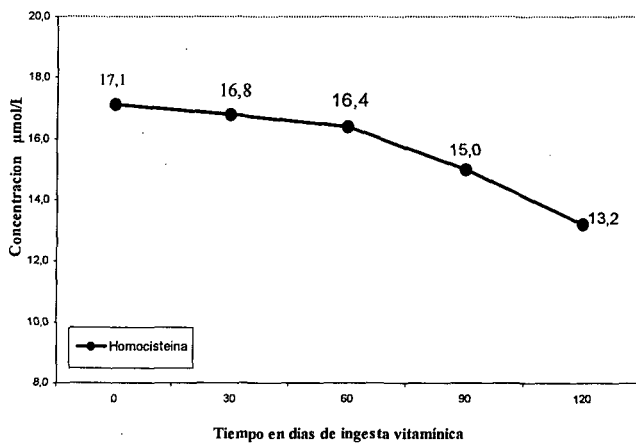
RESULTADOS

La Figura 1 muestra la concentración promedio basal (0 días) de homocisteína de $17,13 \pm 0,70$ µmol/L, antes del inicio de la ingesta vitamínica, para disminuir a $13,18 \pm 0,83$

μmol/L a los 120 días de ingesta vitamínica; se observa que el cambio de concentración de homocisteína fue significativo desde los primeros 30 días ($p < 0,005$) de iniciada la suplementación vitamínica; posterior a los 60 días y hasta los 120 días los cambios fueron mucho mas significativos ($p < 0,001$).

FIGURA 1

Variación en la concentración de homocisteína total plasmática en el grupo de pacientes (n=24) a los 30,60,90 y 120 días posteriores al suplemento en la dieta de las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico



La Figura 2 muestra la variación de concentración de colesterol y triglicéridos durante el período experimental, cuyas variaciones en ambos casos empezaron a ser significativos después de los 30 días de iniciado el suplemento vitamínico. Entre los 30 y 60 días la concentración disminuyó lentamente hasta los sesenta días; posteriormente, los niveles de colesterol declinaron hasta alcanzar valores por debajo de 220 mg/dl. En cuanto a los triglicéridos, la concentración media basal fue de 394 ± 94 mg/dl disminuyendo hasta $289 \pm 47,43$ mg/dl. ($p > 0,005$).

La Figura 3 muestra las variaciones de concentración para las lipoproteínas LDL, VLDL y HDL. Para la LDL, la concentración media basal (0 días), fue de $151,27 \pm 28,74$ mg/dl disminuye hasta $129,74 \pm 20,77$ mg/dl a los 120 días; se puede observar que durante los 30 primeros días no hubo variación de la concentración y poco significativa a los 60 días ($p = 0,02$), pero posteriormente se observa una reducción muy significativa hasta los 120 días ($p < 0,001$). Las VLDL de una media basal de $69,57 \pm 9,34$ mg/dl, con el suplemento vitamínico disminuyeron a $55,8 \pm 8,56$ mg/dl; no hubo variación significativa durante los primeros 60 días, sin embargo las variaciones fueron muy significativas entre los 30 y 120 días ($p < 0,001$). Para las HDL, las concentraciones medias fueron $23,32 \pm 2,90$ mg/dl, antes de la fase experimental, y alcanzaron un nivel de $27,78 \pm 3,03$ mg/dl, después de 120 días de la suplementación

vitamínica; se puede observar que los niveles de HDL posteriores a la ingesta vitamínica, a excepción de los primeros 30 días fue significativa en todos los lapsos ($p < 0,005$).

FIGURA 2

Variación en la concentración de colesterol total y triglicéridos en el grupo de pacientes (n=24) a los 30, 60, 90 y 120 días posteriores al suplemento en la dieta de las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico

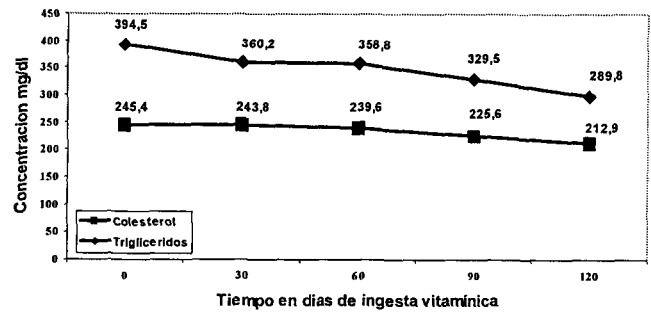
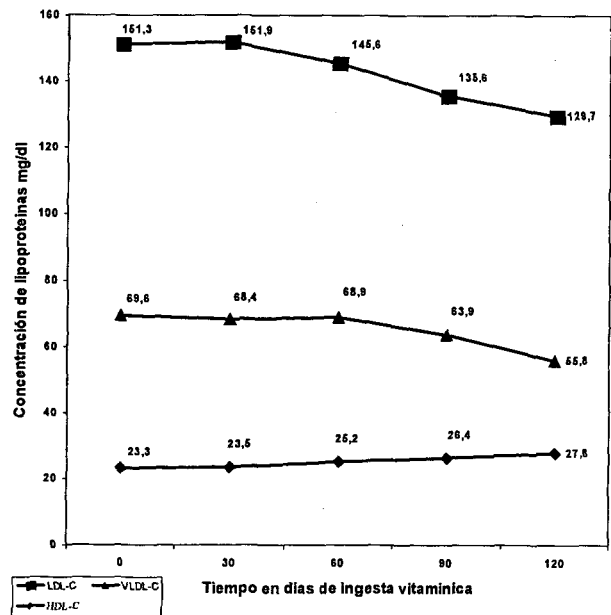


FIGURA 3

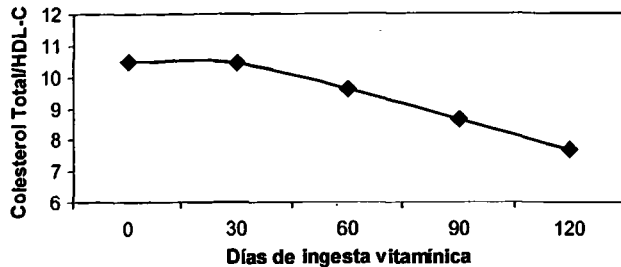
Variación en la concentración de las lipoproteínas plasmáticas LDL, VLDL, y HDL en el grupo de pacientes (n = 24) a los 30, 60, 90 y 120 días, posteriores al suplemento en la dieta de las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico



En la Fugura 4 se presenta la relación Colesterol Total/HDL (Riesgo Coronario), durante el período de ingesta vitamínica, en estos pacientes hay un valor promedio de riesgo coronario de $10,59 \pm 1,30$ hasta un valor promedio de $7,73 \pm 1,02$ a los 120 días.

FUGURA 4

Riesgo Coronario en el grupo de pacientes después del suplemento en la dieta por 120 días de las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico



DISCUSION

En el presente estudio se determinaron las concentraciones de plasmáticas de homocisteína total, CT, TG, LDL, VLDL y HDL mediante métodos enzimáticos directos en pacientes con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV e isquemia al miocardio, suplementados con dosis terapéuticas de las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico, durante 120 días. Los resultados mostraron que en estos pacientes los valores de concentración plasmática basal de homocisteína son elevados (17,13 ± 0,70 μmol/L) lo que concuerda con otros investigadores quienes demostraron que la hiperhomocisteinemia es prevalente en pacientes con CAD (7,18). De igual forma nuestros resultados muestran que la concentración plasmática de homocisteína disminuyó significativamente en un 24%, por la suplementación con ácido fólico en combinación con las vitaminas B₁₂ y B₆ en estos pacientes, resultados que concuerdan con los reportados por otros investigadores, quienes utilizaron las vitaminas B₁₂, B₆ y ácido fólico para disminuir los niveles de homocisteína plasmática en pacientes con enfermedad cardiovascular (20,21); una reducción más elevada (33%) de homocisteína plasmática fue reportada por Julios y col (22) al tratar pacientes con vitaminas e hipolipemiantes; mientras que otros redujeron los niveles de homocisteína en casi un 25% al suministrar de ácido fólico a pacientes con hiperhomocisteinemia sin enfermedad vascular (23). Las dosis usadas por los investigadores citados son relativamente bajas en comparación con la "dosis terapéutica" del presente estudio, usada no sólo para observar la reducción de la concentración de homocisteína sino también para estudiar el efecto de estas vitaminas sobre los lípidos plasmáticos, en este tipo de pacientes.

Dado que, en este trabajo los resultados demuestran que el efecto del suplemento vitamínico sobre la disminución de la concentración plasmática de homocisteína es significativo ($p < 0.001$), es poco probable que una mutación de la cistationina beta sintetasa sea la responsable de la hiperhomocisteinemia moderada presentada en los pacien-

tes, por lo que podemos inferir que la elevación de la homocisteína es de orden nutricional por deficiencia vitamínica y no genético. Una posible explicación ha sido atribuida al rol de la S-adenosilmetionina en la regulación del metabolismo de la homocisteína. La S-adenosilmetionina es un activador para la enzima cistationina β-sintetasa, que favorece la remetilación de homocisteína a metionina, dependiente de ácido fólico y vitamina B₁₂, en estado basal. La vitamina B₆ afecta principalmente a la homocisteína sólo en el estado post-prandial. (19). Los elevados niveles de colesterol basal observados en este estudio pudieran deberse a que la homocisteína estimula la producción y secreción de colesterol en las células hepáticas humanas explicándose así el efecto de la disminución tardía del colesterol observada (24).

Con respecto a los triglicéridos, la franca hipertrigliceridemia basal encontrada en estos pacientes concuerda con lo establecido por Quarfordt y col. (25) quienes describen una hipertrigliceridemia en las hiperlipoproteinemias secundarias tipo IV, debido a un desequilibrio entre la síntesis de VLDL y su catabolismo, al conjugarse una serie de factores que pudieran explicar su incremento, como son la repetición anormal de períodos post-prandiales y la hiperglicemia prolongada debido a un manejo homeostático alterado en el metabolismo de la glucosa (26). Por otro lado, estudios epidemiológicos afirman, que niveles elevados de homocisteína incrementan la concentración de triglicéridos en el plasma, lo que pudiera justificar que no se lograran alcanzar los niveles normales de triglicéridos totales en plasma (40-160 mg/dl) (15,27). La imposibilidad de reducir los niveles de triglicéridos a niveles normales pudiera deberse al carácter insulino-resistente al metabolismo de la glucosa, presentada por estos pacientes (9).

Para las LDL, los valores encontrados concuerdan con lo reportado por Olsewski y col (20), demostrándose que el ácido fólico tiene efectos protectores sobre la oxidación de las LDL, independientemente de los efectos que tiene en la disminución sobre los niveles de homocisteína (28). La concentración basal elevada de VLDL confirma que un incremento de los triglicéridos plasmáticos se traduce en un aumento de las VLDL.

En las HDL no se observaron cambios significativos, lo que concuerda con lo observado en otros estudios (20). No se alcanzó el nivel normal de HDL, (38-55 mg/dl) para hombres (17), esto podría explicarse basándonos en las investigaciones que han apuntado que la concentración de HDL es inversamente proporcional a la concentración de triglicéridos plasmáticos, lo cual incide negativamente en la síntesis de HDL (29).

El factor de riesgo coronario (FRC) representa la fracción de colesterol total, que habiendo sido transportado desde el hígado hacia los tejidos extra hepáticos excede la utilización celular y no puede ser regresado hacia el hígado mediante la

utilización de las HDL. Este excedente de colesterol está representado por la relación colesterol total/HDL-C, relación que se encuentra elevada en estos pacientes al inicio del período experimental. Por otro lado, se pudo observar, que habiéndose reducido el FRC en más de un 24%, aún persistió un estado de riesgo alto [>7] (17) condición ésta que pudiera explicarse en base a la lentitud en el incremento de la concentración de HDL probablemente debido al factor patológico (hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV) y condición de infartados, así como a la duración de la fase experimental.

El FRC no representa la condición fisiológica de las arterias del paciente, ya que el FRC puede alcanzar niveles normales al disminuir el colesterol total sin alterar el proceso ateromatoso. El uso de las vitaminas (B_{12} , B_6 y ácido fólico), las cuales consideramos anti-aterogénicas, permite un uso controlado del colesterol para su función específica en las membranas celulares y una utilización del colesterol remanente en la vía de degradación biliar, lo que puede llevar a la reducción del riesgo coronario, con un aumento de las HDLs y una disminución de las LDLs; en consecuencia, el colesterol total plasmático disminuye. Por lo que podemos inferir, que la variabilidad del perfil lipídico es consecuencia del efecto de las vitaminas en la disminución de la concentración de homocisteína durante período experimental. El suplemento vitamínico terapéutico no ejerció efectos secundarios en estos pacientes, lo que concuerda con estudios realizados por otros investigadores (10,30,31).

El número pequeño de pacientes fue la principal limitación en este estudio, nuestros resultados pudieron haber aportado más información sobre lo ya conocido en homocisteína y dislipidemias y el efecto de las vitaminas B sobre éstas.

En conclusión, se pudo demostrar que en las condiciones descritas en el trabajo, el suplemento en la dieta de dosis terapéutica de las vitaminas B_6 , B_{12} y ácido fólico, en individuos con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV, pueden normalizar las concentraciones de homocisteína en plasma, con un descenso significativo de la concentración de CT, TG, LDL y VLDL. No obstante, a pesar de que ocurre un incremento en la concentración de las HDL, no se logran normalizar sus niveles, lo que mantiene el factor riesgo coronario, por encima de los valores normales.

REFERENCIAS

1. McKenney JM. Pharmacotherapy of dyslipidemia. *Cardiovas Drugs Ther* 2001; 15(5):413-22.
2. Lorigeril M, Salen P, Paillard F, Lacan P and Richard G Lipid-lowering drugs and homocysteine. *The Lancet* 1999; 353(16):209-10.
3. Hoogveen y col. 1997(4),
4. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of fasting plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-1057
5. Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE, Gaziano JM, Allen RH, Stabler SP, Reynolds RD, Kok FJ, Hennekens CH, Willet WC. Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: relation with vitamin B-6, B-12, and folate. *Am. J. Epidemiol.* 1996; 143:845-859
6. Bautista LE, Arenas IA, Panuela A, Martinez LX. Total plasma homocysteine level and risk of cardiovascular disease: a meta analysis of prospective cohort studies. *J. Clin. Epidemiol.* 2002; 55:882-887
7. Ford ES, Smith SJ, Stroup DF, Steinberg KK, Mueller PW, Thacker SB. Homocysteine and cardiovascular disease: a systematic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case-control studies. *Int. J. Epidemiol.* 2002; 31:59-70
8. Olszewski A, Szostak W, Bialkowska M, Rudnicki S and McCully K Reduction of plasma lipid and homocysteine levels by pyridoxine, folate, cobalamin, riboflavin and troloxerutin in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1989; 75:1-6.
9. Garcés A y Gonzalez W Composición de los ácidos grasos de cada una de las fracciones lipoproteicas en pacientes con hiperlipoproteinemia secundaria tipo IV. Trabajo de ascenso para Asociado. Departamento de Bioquímica. Escuela de medicina. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. 1992
10. Mpofus C., Alani S., Whitehouse C., Fowler B and Wraith J No sensory neuropathy during pyridoxine treatment in homocystinuria. *Arch Dis Chil* 1991; 66:1081-82.
11. Charles J and Glueck M. Detection and treatment of homocysteinemia in patients with hyperlipidemia. *Nutrition & the M.D.* 1995; 21(12):1-8.
12. Woo K, Chook P, Lolin Y, Sanderson J, Matrewli C, Celermajer D. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocysteinemia. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34(7):2002-06.
13. Connor WE. and Connor SL. The dietary treatment of hyperlipidemic, the medical Clinics of North America 1982; 66(2):485-518.
14. Frantzen F, Faaren AL, Alfheim I, Nordhei AK. Enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum. *Clin Chem* 1998; 44:311-316.
15. Fossati P; Principe L. Colorimetric determination of tryglicerides in plasma *Clin Chem* 1982; 28:2077-81.
16. Allain CC., Poon LS., Chan CS., Richmond W., and Fu P. Enzymatic method for cholesterol analysis in plasma. *Clin Chem* 1974; 20:470-475.
17. Camejo G., Cortez MM., Lópèz C y Mosquera B Photometric measurement of lipoprotein-cholesterol after agarose electrophoresis: comparison with Single-spin ultracentrifugation analysis. *Clin Chim Acta* 1981; 111:239-43.
18. Genest Jr JJ, McNamara JR, Salem DN, Wilson PW, Schafer EJ, Malinow MR. Plasma homocys(e)ine levels in men with premature coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1990; 16:1114-1119
19. Lee B-J, Huang M-C, Chung L-J, Cheng C-H, Lin K-L, Su K-H, Huang Y-Ch. Folic acid and vitamin B_{12} are more affective than vitamin B_6 in lowering fasting plasma homocysteine con-

- centration in patients with coronary artery disease. *Eur J Clin Nutr.* 2004 Mar;58(3):481-487
20. Olszewski A, Szostak W, Bialkowska M, Rudnicki S and McCully K Reduction of plasma lipid and homocysteine levels by pyridoxine, folate, cobalamin, riboflavin and troxerutin in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1989; 75:1-6.
 21. László M, Ferenc E, János M, András K, András K. Effect of treatment with folic acid and vitamin B6 on lipid and homocysteine concentrations in patients with coronary artery disease *Nutrition* 2002; 18 (5): 428-429.
 22. Julius U., Pietzsch J., Gromeier S., Schorr H., Herrmann W. Homocysteine levels in patients treated with lipid apheresis: effect of a vitamin therapy. *Eup J. Clin. Invest.* 2001; 31(8):667-71.
 23. Guo H, Lee JD, Xing Y, Cheng J, Ueda T, Toyoda K, Geshi T. Changes of homocysteine levels and arterial endothelial function in patients with high risk of coronary artery disease after 6-month folic acid supplementation. *Acta Cardiol.* 2004; 59(5):503-06.
 24. Karmin O., Lynn, E., Chung, YH., Soiw, YL., Man RY., Choy PC Homocysteine stimulates the production and secretion of cholesterol in hepatic cells *Bioch. Biophys. Acta* 1998;1393:317-24.
 25. Quarfordt SH, Frank A, Schames DM, Berman M, Steinberg D. Very low density lipoprotein triglycerides transport in type IV hyperlipoproteinemia and the effects of carbohydrate-rich diets *J Clin Invest* 1970; 49:2281-97.
 26. Bassett DR., Block WD., Dean EN., White AA Recognition of borderline carbohydrate-lipid metabolism disturbance; an incipient form of type IV hyperlipoproteinemia. *J Cardio Vasc. Pharmacol.* 1990; 15 suppl. 5:8-17.
 27. Tonstad S. Correlates of plasma total homocysteine in patients with hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest.* 1997; (12):1025-29.
 28. Nakano E., Higgins JA., Powers HJ. Folate protects against oxidative modification of human LDL. *Br. J. Nutr.* 2001; 86(6):637-39.
 29. Mathley RN. The cellular and molecular biology of plasma lipoproteins; altered by dietary fat and cholesterol. *Med Clin of North America* 1982; 68:212-18.
 30. Woo K, Chook P, Lolin Y, Sanderson J, Matrewli C, Celermajer D. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocysteinemia. *J Am Coll Cardioil* 1999; 34(7):2002-06.
 31. Bender, DA Non-nutritional uses of vitamin B₆. *Br J Nutr.* 1999; 81(1):7- 20.

Recibido:22-12-2004

Aceptado: 20-04-2005

La diarrea inducida con lactosa estimula la condición oxidativa y es más severa en ratas deficientes en vitamina E

Graciela Dellán, Diamela Carías, Anna M. Cioccia, Eduardo González y Patricio Hevia

Decanato de Medicina. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto, Venezuela.
Laboratorio de Nutrición. Universidad Simón Bolívar. Caracas Venezuela

RESUMEN. La diarrea es una enfermedad con alta frecuencia en el mundo y es causa de mortalidad y desnutrición en los niños de países en desarrollo. Esto justifica el estudio de la alimentación durante la diarrea. Debido a las dificultades económicas y éticas del estudio de la diarrea infantil, es conveniente usar modelos de diarrea en animales. En estudios previos, se demostró que la diarrea inducida con lactosa en ratas, está asociada con una reducción de los niveles tisulares de vitamina E y también con evidencias de una respuesta inflamatoria a nivel intestinal. En consecuencia, en este estudio se produjo esta diarrea en ratas suficientes y deficientes en vitamina E, con el fin de establecer su efecto en los niveles de estrés oxidativo. Los resultados mostraron que en un lapso de 23 días la concentración de vitamina E tisular disminuyó en todas las ratas con diarrea, pero esta disminución fue sustancialmente mayor en las ratas deficientes en esta vitamina. Al mismo tiempo se observó que la severidad de la diarrea en las ratas deficientes en vitamina E fue un 60% mayor que en las ratas con diarrea pero suficientes en vitamina E. Tanto la diarrea como la deficiencia de vitamina E se asociaron con cambios en las concentraciones de malonaldehído y en la actividad de la superóxido dismutasa en varios tejidos. Sin embargo, los cambios más resaltantes asociados con la diarrea estuvieron relacionados a un aumento en los niveles plasmáticos de malonaldehído de casi 100% y una actividad de la superóxido dismutasa en los eritrocitos de las ratas con diarrea, que fue entre 8 y 11 veces mayor que la detectada en las ratas controles. Estos cambios no invasivos correlacionaron directamente con la severidad de la diarrea. El estudio muestra que la diarrea inducida con lactosa aumenta los niveles de estrés oxidativo y que la deficiencia de vitamina E se asocia con diarreas más severas.

Palabras clave: Diarrea, ratas, vitamina E, estrés oxidativo, malonaldehído, superóxido dismutasa, eritrocitos.

INTRODUCCION

En estudios recientes se ha reportado que en ratas, el emplazo de parte de los carbohidratos dietarios por lactosa,

SUMMARY. Lactose-induced diarrhea increases oxidative stress and it is more severe in rats deficient in vitamin E. Diarrhea is the disease with high incidence in the world and causes infant mortality and malnutrition in the developing world. This justifies the study of nutrition and diarrhea. Due to ethical and financial considerations it is difficult to study nutrition and diarrhea in children thus animal models have become a convenient alternative. In previous studies it was shown that lactose induced diarrhea in rats was associated with a reduction in tissue levels of vitamin E and also with evidence of an inflammatory response of the intestine. Accordingly, in this study, in order to determine the effect of this type of diarrhea on the level of oxidative stress, diarrhea was induced in vitamin E sufficient and deficient rats. The results showed that after 23 days the tissue concentration of vitamin E decreased in all the rats with diarrhea but this reduction was substantially greater in the vitamin E deficient group. Moreover, diarrhea was 60% more severe in the vitamin E deficient rats than in the vitamin E sufficient group that also had diarrhea. Both diarrhea and vitamin E deficiency altered malonaldehyde and superoxide dismutase levels in various tissues. However, the most outstanding changes associated with diarrhea were a 100% increment in plasma malonaldehyde and erythrocyte superoxide dismutase activities which were 8 to 11 times higher than those seen in the rats without diarrhea. These non-invasive changes correlated well with the severity of diarrhea. The study shows that vitamin E deficiency results in diarrheas which are more severe and that lactose induced diarrhea is associated with higher levels of oxidative stress.

Key words: Diarrhea, rats, vitamin E deficiency, severity of diarrhea, oxidative stress, plasmatic malonaldehyde, erythrocyte superoxide dismutase.

produce diarrea (1). Esta diarrea se asemeja a la diarrea infantil (2,3) y cursa con alteraciones tanto de la morfología como la función absorbente del intestino. Así, ratas con diarrea inducida por lactosa, presentan intestinos de mayor peso y longitud sin alteraciones en la altura de las vellosidades, cuando se comparan con animales que reciben igual cantidad de alimento, pero que no tienen diarrea. Este efecto trófico de la diarrea inducida por lactosa, también se manifiesta en un aumento de la actividad de la lactasa y la sacarasa en las ratas con diarrea,

Financiado por el Grupo de Nutrición y Bioquímica del Decanato de Investigación y Desarrollo y por el Decanato de Estudios de Postgrado de la Universidad Simón Bolívar.

con relación a las ratas que consumen la dieta control libre de lactosa *ad libitum* (4,5). En contraste con este efecto que pudiera considerarse como ventajoso, en el yeyuno de estas ratas se observan indicios de una respuesta inflamatoria caracterizada por una infiltración celular, principalmente linfocitos, tanto en la mucosa, la submucosa y el epitelio de revestimiento. Además, se observó rompimiento de la chapa estriada y un aumento importante en el número de figuras mitóticas y en el número de células caliciformes. Esto último, es un hallazgo frecuente cuando el intestino está expuesto a sustancias irritantes que producen inflamación (4,5).

Adicionalmente a estos cambios en la morfología intestinal, la diarrea inducida por lactosa también afecta su función absorbente. Así, tal como ocurre en la diarrea infantil (6), esta diarrea en ratas, está asociada con una reducción en la digestibilidad tanto de los macronutrientes como de algunos micronutrientes y esta disminución es proporcional a la severidad de la diarrea (1,2). Según Liuzzi y col. (1) la diarrea disminuyó la absorción aparente de la vitamina A por un período más prolongado que en el caso de la absorción aparente de la vitamina E. Sin embargo, el estado nutricional respecto de la vitamina E, resultó más afectado por lo que estos autores sugieren que en el caso de esta vitamina, la diarrea no solo causó una disminución de la digestibilidad, sino que además, estimuló su utilización probablemente debido a un aumento en el estrés oxidativo, que ocurre en respuesta al proceso inflamatorio que causa (1).

La relación entre los procesos infecciosos e inflamatorios y el estrés oxidativo, se sustenta en la observación que las células fagocitarias del sistema inmune, producen radicales libres derivados del superóxido y óxido nítrico para neutralizar la acción de las células invasoras y la eliminación de los tejidos afectados del huésped (7). Además, tal como se indicó anteriormente (1) existen numerosos estudios que han relacionado la diarrea y otros problemas inflamatorios del intestino con un aumento en el estrés oxidativo y una disminución en los niveles de antioxidantes. También se ha demostrado que compuestos con propiedades antiinflamatorias, como es el caso de los aceites de pescado, tienen un efecto benéfico en el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino que pueden cursar con diarrea como son la enfermedad de Crohns, la enfermedad celíaca y las diarreas inflamatorias (8). Existe también evidencia que señala que la vitamina E además de sus propiedades antioxidantes puede tener una función directa en la regulación del proceso inflamatorio, ya que inhibe tanto a la enzima 5-lipoxigenasa como a la ruta de señalización mediada por la proteína quinasa C y que está involucrada en la producción de superóxido en algunas células del sistema inmune (9,10). Toda esta evidencia sugiere que la Vitamina E puede jugar un papel importante en el curso de la diarrea, ya sea inhibiendo directamente el proceso inflamatorio del epitelio intestinal o actuando sobre los radi-

cales libres que genera la respuesta inflamatoria.

La concentración de aldehídos es uno de los indicadores más utilizados en la determinación del daño oxidativo y se basa en la reacción del ácido tiobarbitúrico con aldehídos producidos de la descomposición de los hidroperóxidos generados en el proceso de oxidación de los lípidos (7). La enzima superóxido dismutasa actúa sobre el superóxido que es uno de los iniciadores del proceso oxidativo y que puede originarse por la reducción parcial del oxígeno en la cadena respiratoria o en las propias células inflamatorias fagocitarias en el proceso conocido como estallido respiratorio (11). Esta enzima genera peróxido de hidrógeno a partir del superóxido, compuesto que es menos reactivo y además puede ser convertido a agua por la acción de la catalasa. Así, esta enzima que se encuentra en el citosol, mitocondria y en el espacio extracelular, es una enzima determinante en la regulación de la respuesta inflamatoria (12).

En consecuencia, se diseñó un experimento que incluyó ratas sin diarrea y ratas con diarrea inducida con lactosa, que consumieron dietas suficientes y deficientes en vitamina E por un período de 23 días. Los parámetros más importantes que se midieron en este experimento, fueron el efecto de la deficiencia de esta vitamina sobre la severidad de la diarrea y el estado nutricional respecto de la vitamina E, así como el grado de estrés oxidativo medidos como niveles de malonaldehído en suero y la actividad de la enzima superóxido dismutasa en eritrocitos. Esta enzima, se midió en los glóbulos rojos, ya que estas células son muy susceptibles al estrés oxidativo debido a que manejan altas concentraciones de oxígeno.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas machos, de la cepa "Sprague-Dawley", con un peso promedio inicial de $95,80 \pm 1,16$ g. Las ratas fueron colocadas individualmente en jaulas metabólicas de acero inoxidable, y mantenidas en períodos alternos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Se acondicionaron a este ambiente experimental por un período de 4 días con la dieta (13) control (Tabla 1). Al final de este período, se distribuyeron al azar en 6 grupos de 7 ratas cada uno. El experimento fue un diseño 2x2 factorial que incluyó un grupo que recibió una dieta control que satisfacía todos los requerimientos nutricionales de la rata, otro que recibió una dieta idéntica a la anterior pero deficiente en vitamina E, un grupo que consumió una dieta similar a la control pero en la que un 68% del almidón se reemplazó por lactosa para inducir diarrea, y un grupo que se alimentó con una dieta idéntica a la anterior, pero deficiente en vitamina E (Tabla 1). Sin embargo, como la diarrea produce una reducción voluntaria del consumo, se incluyeron dos grupos adicionales para descartar los efectos producidos por esta reducción de consumo. De estos, uno re-

cibió la dieta control y el otro la deficiente en vitamina E, ambos sin lactosa pero cuya ingesta de alimento se restringió de manera que consumieran lo mismo que los grupos asignados a estas mismas dietas pero con lactosa (con diarrea). Para lograrlo, a estos grupos (restringidos) se les ofreció diariamente el promedio de la cantidad de alimento consumida por

los grupos con diarrea (suficientes o deficientes en vitamina E), el día anterior. Con el fin de mantener la descripción de los resultados lo más simple posible, estos grupos no se incluyeron en las tablas ni gráficos sino que se hace referencia a ellos sólo en el texto.

TABLA 1
Composición de las dietas (g/100g dieta)

Ingredientes	Dieta Control (+ vitamina E)	Dieta Control (- vitamina E)	Dieta Diarrea (+ vitamina E)	Dieta Diarrea (- vitamina E)
Caseína	16.3	16.3	16.3	16.3
Aceite de maíz	5	0	5	0
Aceite de maíz sin vitamina E	0	5	0	5
Mezcla vitaminas ¹	1	0	1	0
Mezcla vitaminas ¹ sin vitamina E	0	1	0	1
Minerales				
AIN-76 ¹	3.5	3.5	3.5	3.5
Colina bitartrato	0.2	0.2	0.2	0.2
L-Metionina	0.3	0.3	0.3	0.3
Almidón de maíz	73.7	23.7	73.7	23.7
Lactosa	0	50	0	50

Las dietas se prepararon de acuerdo a las recomendaciones del American Institute of Nutrition (13).

1. Las mezclas de vitaminas tanto con vitamina E como sin vitamina E, se prepararon en el laboratorio en base a la fórmula de la mezcla vitamínica AIN-76 (13) y la vitamina E presente en el aceite de maíz se eliminó extrayéndola con hexano en presencia de carbón activado (14). La mezcla mineral, caseína, bitartrato de colina y la metionina se compraron en Harlan Teklad (Madison WI) y la lactosa de ICN (Cleveland OH).

En el caso de las dietas deficientes en vitamina E, al aceite de maíz utilizado en la formulación se le redujo el contenido de esta vitamina, extrayéndola con hexano en presencia de carbón activo tal como recomiendan Mohr y colaboradores (14). Con este sistema, la concentración de α -tocoferol del aceite de maíz se redujo de 11.45 mg/100ml a 1.45 mg/100 ml.

Se mantuvo un registro diario de consumo de alimento y crecimiento de los animales y se realizaron dos recolecciones de heces de 48 horas, la primera durante los días 10-11 y la segunda durante los días 21-22 del experimento, para la determinación de la masa fecal y severidad de diarrea. Para la colección de heces, se utilizaron rejillas y embudos y a las jaulas se les adaptó una rejilla adicional que permite coleccionar heces diarreicas (1).

El experimento duró 23 días, durante los cuales, las ratas con excepción de las asignadas a los grupos restringidos, recibieron las dietas y agua *ad libitum*. Al día 23 del experimento, y después de una noche de ayuno, las ratas se anestesiaron con éter y se sacrificaron por decapitación. Se tomaron muestras de sangre en tubos heparinizados, y a continuación se disecó el hígado, riñón y testículos y se mantuvieron conge-

lados a -20°C. El plasma y los glóbulos rojos se separaron por centrifugación, a 2500 r.p.m. por 15 minutos, entre 0-4°C. Los glóbulos rojos se lavaron 3 veces con solución salina isotónica y el plasma y los glóbulos rojos así obtenidos se guardaron congelados.

La concentración de Vitamina E en el aceite de maíz, en el plasma y los tejidos, se determinó por HPLC usando el método de Chow y Omaye con las modificaciones descritas por Liuzzi (1). La actividad de la enzima superóxido dismutasa en eritrocitos, hígado, riñón y testículos se midió usando el método de McCord and Fridovich (15) y los niveles de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico se midieron usando el método de Ohkawa y colaboradores (16) y se expresaron en unidades de malonaldehído. Los niveles de proteína y hemoglobina presentes en los tejidos en que se midieron los niveles de este aldehído o la superóxido dismutasa, se determinaron usando los métodos de Lowry (17) y Drabkin (18) respectivamente. Tanto el manejo, la alimentación como la toma de las muestras de las ratas utilizadas, se hizo conforme a los lineamientos recomendados por el National Research Council para el uso y cuidado de animales de laboratorio (19).

Los resultados obtenidos se analizaron usando análisis de varianza de dos vías y las medias se compararon usando el test de los rangos múltiples de Duncan. En estos análisis el nivel de significancia se mantuvo en un 5%. Para estos análisis se utilizó el programa SPSS versión 7.5.

RESULTADOS

La Tabla 2 muestra que independientemente del consumo de vitamina E, las ratas sin diarrea consumieron entre un 30% y un 40% más que las con diarrea, y crecieron casi el doble. Este mismo comportamiento se observó en las ratas a las que se les restringió el consumo de la dieta control con vitamina E y en aquellas deficientes en vitamina E (no se muestra en la Tabla). Asimismo, la tabla muestra que el consumo de lactosa fue similar en los dos grupos con diarrea y que el consumo de

vitamina E de las ratas asignadas a las dietas deficientes en vitamina E fue sustancialmente menor que el de las ratas asignadas a las dietas con vitamina E. Esto lo confirman los resultados que se muestran en la Tabla 3 que señalan que las ratas asignadas a las dietas sin vitamina E tenían al final del experimento menos vitamina E tanto en el plasma, como en el hígado y el riñón. En la Tabla 3 se observa además, que las ratas con diarrea tenían una concentración menor de vitamina E en el hígado y el riñón que las sin diarrea. Es importante indicar que los grupos asignados a las dietas exentas del laxante (lactosa) pero cuya ingesta se igualó al medido en las ratas con diarrea (grupos restringidos), también redujeron los niveles de vitamina E en el hígado y el riñón pero estas reducciones fueron menos severas que las detectadas en las ratas con diarrea.

TABLA 2

Peso inicial, consumo de dieta, lactosa, vitamina E y crecimiento en ratas que recibieron dietas con lactosa (Diarrea) o sin lactosa (Controles), suficientes (+E) o deficientes en vitamina E (-E) durante 23 días

Dieta	Peso Inicial	Consumo Dieta	Consumo Vit E	Consumo Lactosa	Crecimiento
	g	g/23 días	g/23 días	g/23 días	g/23 días
Control + E	95.53±10.0 ^a	301.3±25.2 ^a	12.6±1.1 ^a	0	144.6±11.8 ^a
Diarrea + E	94.91±10.8 ^a	211.8±19.4 ^b	8.36±0.8 ^b	105.9±9.3 ^a	69.25±15.6 ^b
Control - E	96.43±10.6 ^a	285.7±26.2 ^a	1.46±0.13 ^c	0	128.83±12.1 ^a
Diarrea - E	97.52±10.3 ^a	213.0±25.4 ^b	1.22±0.12 ^c	106.5±12.7 ^a	68.16±13.5 ^b

Las cifras muestran medias± la desviación standard de 7 ratas. Medias con letras distintas son diferentes ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de los rangos múltiples de Duncan. Las ratas suficientes en vitamina E recibieron una mezcla vitamínica que satisfacía todos sus requerimientos vitamínicos (AIN-76). Las deficientes en E recibieron una mezcla idéntica pero deficiente en vitamina E tanto en la mezcla como en el aceite de maíz. La diarrea se indujo reemplazando parte del almidón de maíz por lactosa. El experimento duró 23 días. Las dietas utilizadas se muestran en la Tabla 1.

TABLA 3

Concentración de vitamina E en plasma, hígado y riñón en ratas que recibieron dietas con lactosa (Diarrea) o sin lactosa (Controles), suficientes (+E) o deficientes (-E) en vitamina E durante 23 días

Dieta	Concentración de α -Tocoferol		
	Plasma μ /dl	Hígado μ g/g	Riñón μ g/g
Control + E	1149.8±275.2 ^a	19.54±3.51 ^a	4.18±1.33 ^a
Diarrea + E	1011.2±192.7 ^a	7.01±1.94 ^b	2.55±0.81 ^b
Control - E	87.5±4.9 ^b	0.83±0.32 ^c	1.00±0.15 ^c
Diarrea - E	75.7±12.2 ^b	0.56±0.04 ^d	0.97±0.12 ^d

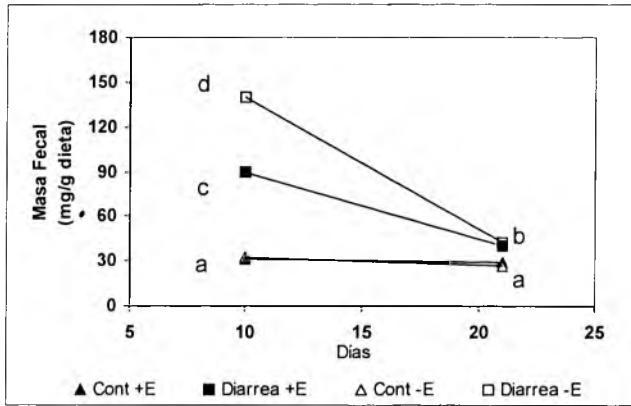
Las cifras muestran medias ± la desviación estándar de 7 ratas. Medias con letras distintas son diferentes ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de los rangos múltiples de Duncan.

Para más detalles ver las notas al pie de la Tabla 2.

La Figura 1 muestra la masa fecal excretada entre los días 10-11 y 21-22 en los cuatro grupos de ratas estudiadas. Se observa que las ratas sin diarrea (Δ vacíos y llenos) mantuvieron una producción fecal uniforme y baja (≈ 30 mg/ g dieta consumida), tanto en la primera como en la segunda recolección. Sin embargo, las ratas con diarrea mostraron excreciones fecales sustancialmente mayores en la primera recolección y estas disminuyeron hasta que casi alcanzaron a las medidas en las ratas controles durante la segunda recolección. Destaca en la figura que durante la primera recolección, las ratas con diarrea pero deficientes en Vitamina E tuvieron diarreas mucho más severas ($\approx 60\%$) que las suficientes en vitamina E ($p < 0.05$).

FIGURA 1

Masa fecal¹ medida en ratas que recibieron dietas con lactosa (Diarrea) o sin lactosa (Controles) suficientes (+E) o deficientes (-E) en vitamina E durante 23 días



Las colecciones fecales se realizaron entre los días 10-11 y 21-22 del experimento que duró 23 días. Los símbolos muestran la masa fecal promedio de 7 ratas y símbolos con letras diferentes son diferentes ($p < 0.05$). La diarrea se indujo reemplazando parte del almidón dietario por lactosa. Las ratas (+E) recibieron una mezcla vitamínica que satisfacía todos sus requerimientos vitamínicos y las (-E) recibieron una mezcla idéntica pero sin vitamina E ni en la mezcla ni en el aceite de maíz. La composición de las dietas se muestra en la Tabla 1.

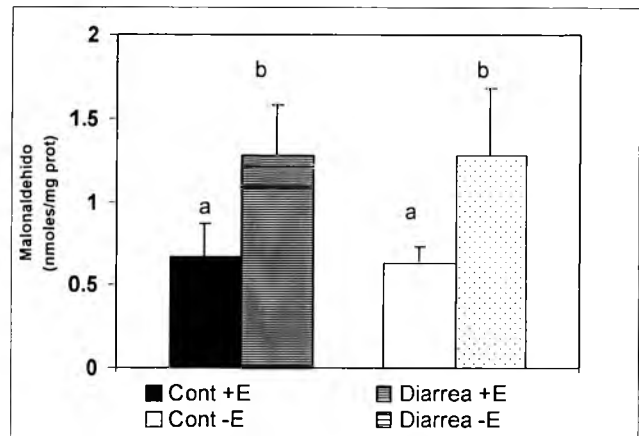
La Figura 2 muestra el efecto de la diarrea y la vitamina E dietaria sobre los niveles de malonaldehído en plasma. Se observa que independientemente de la vitamina E dietaria, las ratas con diarrea tenían concentraciones de malonaldehído circulantes que eran casi el doble de las sin diarrea. Sin embargo, la concentración de malonaldehído en suero también aumentó en el caso de las ratas sin diarrea a las que se les restringió el consumo, pero este aumento fue menor que en las con diarrea y consumos similares; sugiriendo que el consumo de alimento también fue importante en relación con los niveles de malonaldehído circulante. Los niveles de malonaldehído en hígado no variaron ni en respuesta a la diarrea ni al consumo de vitamina E, pero en testículos y riñón se detectó una relación inversa entre la concentración de malonaldehído y el consumo de vitamina E con coeficientes de correlación lineal de $r = -0.72$ y $r = -0.37$ respectivamente.

La Tabla 4 muestra el efecto de la diarrea y del contenido de vitamina E en la dieta sobre la actividad de la enzima superóxido dismutasa en los eritrocitos, el hígado y los testículos de las ratas estudiadas. Los resultados señalan que la diarrea estuvo asociada con un aumento sustancial en la actividad de esta enzima en los eritrocitos (8-10 veces) y que este fue más pronunciado en las ratas deficientes en vitamina E ($p < 0.05$). En las ratas con consumos restringidos no se estimuló la actividad de la superóxido dismutasa, lo que demues-

tra que este efecto se debió exclusivamente a la diarrea. En el caso de la actividad de la superóxido dismutasa en testículos, se observó que aumentó en el caso de las ratas que consumieron las dietas deficientes en vitamina E y dentro de este grupo, el mayor aumento se detectó en las ratas que eran deficientes en E y al mismo tiempo tenían diarrea. En el caso del hígado se observó lo contrario, ya que la actividad disminuyó en las ratas deficientes en vitamina E y esta disminución fue más evidente en las ratas deficientes en vitamina E con diarrea.

FIGURA 2

Concentración de malonaldehído plasmático en ratas que recibieron dietas con lactosa (Diarrea) o sin lactosa (Controles), suficientes (+E) y deficientes (-E) en vitamina E durante 23 días



Ver detalles en la Figura 1.

TABLA 4

Actividad de la enzima Superóxido Dismutasa en eritrocitos, hígado y testículos, en ratas que recibieron dietas con lactosa (Diarrea) o sin lactosa (Controles), suficientes (+E) o deficientes (-E) en vitamina E durante 23 días

Dieta	Actividad Superóxido Dismutasa		
	Eritrocitos U/mg Hb	Hígado U/mg prot	Testículos U/mg prot
Control + E	1848.8±337.7 ^c	379.3±65.4 ^a	388.0±98.0 ^c
Diarrea + E	7925.2±1476.3 ^b	451.7±82.8 ^a	324.9±13.7 ^c
Control - E	1725.4±215.9 ^c	239.5±100.9 ^b	591.7±80.9 ^b
Diarrea - E	11849.6±2526.8 ^a	173.6±96.2 ^c	713.9±264.7 ^a

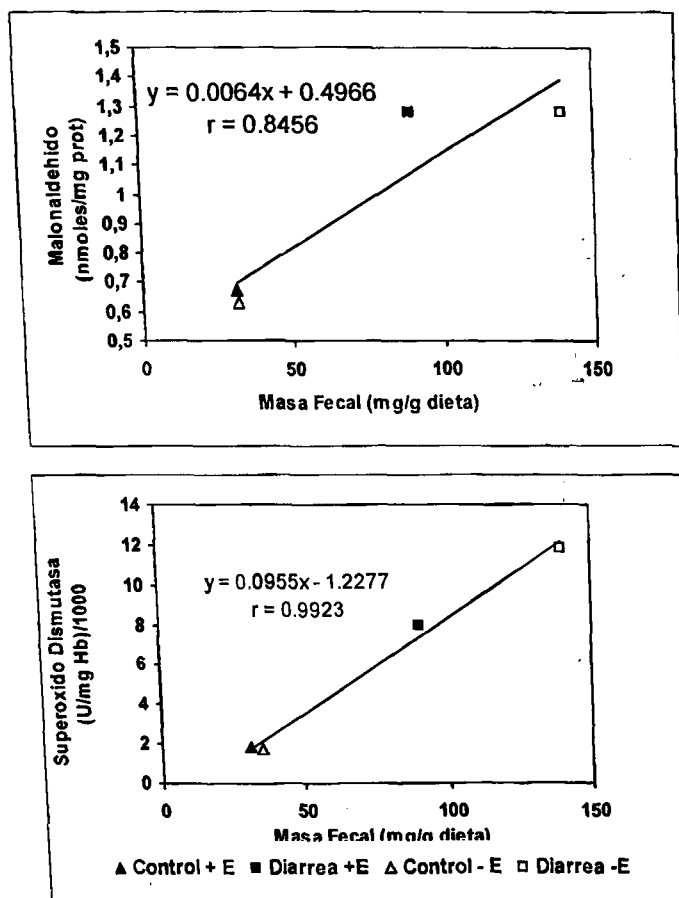
Las cifras muestran medias ± desviación estándar de 7 ratas. Medias con letras distintas son diferentes ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de los rangos múltiples de Duncan.

Para más detalles ver las notas al pie de la Tabla 2

La Figura 3 muestra la relación entre la masa fecal recolectada entre los días 10 y 11 y la concentración de malonaldehído plasmático y la superóxido dismutasa en eritrocitos. En ambos casos hubo buenas correlaciones entre estas variables, pero en el caso de la superóxido dismutasa, se observaron aumentos en su actividad que presentaron mayor correlación ($r = 0.99$) con la excreción fecal.

FIGURA 3

Relación entre la concentración de malonaldehído plasmático o la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) en eritrocitos con la masa fecal excretada en ratas que recibieron dietas con lactosa (Diarrea) o sin lactosa (Controles), suficientes (+E) o deficientes (-E) en vitamina E durante 23 días



La masa fecal corresponde a la colección realizada entre los días 10 y 11 del experimento.

DISCUSION

El propósito de lograr una deficiencia de vitamina E, eliminándola de la mezcla vitamínica y del aceite de maíz se logró, ya que al finalizar el experimento, las concentraciones

de vitamina E en las ratas asignadas a las dietas deficientes en esta vitamina, fueron muy bajas comparadas con las de las ratas suficientes. Es importante indicar que esta reducción se logró en 23 días y no tuvo consecuencias significativas ni en el consumo de alimento ni en el crecimiento de las ratas estudiadas. Así, las ratas que consumieron las dietas deficientes en vitamina E crecieron lo mismo que las suficientes en esta vitamina, aun cuando sus reservas endógenas se consumieron hasta el punto que al finalizar el experimento, tenían respectivamente unas 13, 18 y 3 veces menos vitamina E en el plasma, el hígado y riñón que las suficientes.

Una observación importante de este estudio fue que la diarrea a pesar que no tuvo efectos en los niveles circulantes de la vitamina E ni en las ratas suficientes ni en las deficientes, si causó una reducción significativa en la concentración tisular de esta vitamina. Esto confirma observaciones anteriores (1) y señala que durante la diarrea, es importante aportar una fuente exógena de vitamina E con el fin de mantener niveles tisulares adecuados.

Uno de los hallazgos más relevantes de este estudio fue que la deficiencia de vitamina E estuvo asociada con diarreas más severas. Esto se detectó en la primera recolección fecal, realizada entre los días 10 y 11 del experimento, pero no en la segunda recolección que se hizo entre los días 21 y 22 del experimento. Esto se explica, ya que la diarrea inducida con lactosa es severa en los primeros días de exposición a este disacárido, pero luego las ratas se adaptan al consumo de lactosa y dejan de tener diarrea (1,4,20), probablemente por acción de la microflora del ciego y colon, que fermenta la lactosa. Así, durante el período en el que la lactosa fue efectiva como laxante, las ratas asignadas a las dietas deficientes en vitamina E tuvieron diarreas más severas que las que consumieron dietas suficientes en esta vitamina. Como el consumo de lactosa en las ratas suficientes y deficientes en vitamina E fue similar, se puede suponer que el efecto osmótico que ejerció este disacárido en el intestino, debió haber sido similar en ambos grupos y en consecuencia las severidades de las diarreas también deberían haber sido parecidas. Como esto no fue así y las ratas deficientes en Vitamina E tuvieron diarreas más severas, se puede concluir que la vitamina E por sus conocidas funciones antioxidantes y antiinflamatorias reduce la severidad de la diarrea. Esto puede tener aplicaciones prácticas en lo que se refiere a la alimentación durante la diarrea y coincide con observaciones anteriores en las que se reportó que en ratas con diarrea inducida con lactosa, el aporte de aceite de maíz, se asoció con diarreas menos severas que la registrada en animales que recibieron una alimentación con grasa de leche o de cochino (20). Aunque estos tres tipos de lípidos dietarios son diferentes en muchos aspectos, el aceite de maíz es el que aporta más vitamina E de los tres.

Los elevados niveles de malonaldehído plasmáticos detectados en las ratas con diarrea, refuerzan la idea de que este

tipo de gastroenteritis puede estar asociado con un aumento en el daño oxidativo. Se debe destacar sin embargo, que este aumento en los niveles de malonaldehído en respuesta a la diarrea se observó sólo en el plasma. De los demás tejidos estudiados, los niveles de malonaldehído aumentaron en el riñón y testículos pero el aumento se debió principalmente a la deficiencia de vitamina E más que a la diarrea. Sólo en el riñón se observó que las ratas que tenían diarrea y al mismo tiempo eran deficientes en vitamina E tenían los niveles más elevados de este aldehído comparado con los demás grupos ($\approx 70\% \uparrow$). Sin embargo, el hecho de haber encontrado una asociación entre la diarrea y niveles elevados de malonaldehído en el plasma y riñón, es indicativo de que la diarrea redujo la capacidad antioxidante en estos animales, ya que la formación de aldehídos es una consecuencia de la oxidación peroxidativa de los lípidos (7,11).

Un factor importante para mantener un apropiado equilibrio antioxidante, lo constituyen sistemas enzimáticos capaces de neutralizar especies reactivas de oxígeno antes de que ellas puedan ejercer su ataque oxidativo. Dentro de estos sistemas enzimáticos, la superóxida dismutasa (SOD) juega un papel primordial ya que actúa sobre uno de los primeros oxidantes que se producen en el organismo como es el superóxido, que es el generador de prácticamente todas las especies reactivas de oxígeno que amenazan las estructuras celulares (21). Adicionalmente, el superóxido tiene una función estimuladora de la transcripción de citoquinas en las células inflamatorias y esta especie reactiva de oxígeno se ha asociado con el daño de varios órganos como el riñón, estómago, intestino, y corazón en condiciones de isquemia-reperusión (21). La superóxida dismutasa juega un papel muy importante en aliviar patologías asociadas con inflamación y estrés oxidativo. Animales transgénicos que sobreexpresan esta enzima se han visto protegidos de patologías pulmonares mediadas por radicales libres (22), y compuestos que inducen su actividad (23), son efectivas en el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino. Además, la enzima de bovino se ha utilizado con cierto éxito en el tratamiento de la enfermedad de Crohns (24) y miméticos no proteicos de la enzima capaces de neutralizar el superóxido, se han usado para prevenir daños pulmonares (25) y se los ha propuestos como fármacos importantes en el tratamiento del paciente crítico (21). En el organismo existen tres formas de esta enzima, una esta ubicada en el citosol y contiene cobre y cinc, otra en la mitocondria que contiene manganeso y recientemente se ha identificado una forma extracelular que también tiene cobre y cinc, que está presente en la mayoría de los órganos y a la que se le atribuye un papel compensatorio al estrés oxidativo en el ambiente extracelular (21-26). Las tres formas conocidas de esta enzima aumentan su actividad en casos de inflamación y estrés oxidativo, pero la que contiene manganeso y la extracelular son las más sensibles (27-28).

En este estudio no se discriminó entre las diferentes isoenzimas de la superóxida dismutasa, pero su actividad estuvo fuertemente influenciada tanto por la diarrea como por el estado nutricional de la vitamina E. Así, la actividad de esta enzima en eritrocitos, aumentó sustancialmente (8 a 10 veces) en respuesta a la diarrea, en los grupos suficientes y deficientes en vitamina E, y aumentó en testículos, sólo en los grupos con diarrea y deficiencia de vitamina E. Sorprendentemente en el hígado la deficiencia de vitamina E estuvo asociada con actividades menores, particularmente en el grupo deficiente en vitamina E con diarrea.

En otros estudios que han discriminado entre los diferentes tipos de SOD, han encontrado que una de las isoformas responde más a la respuesta inflamatoria que otras en diferentes tejidos (27). Así, como aquí no se hizo la discriminación entre isoenzimas, se vio la resultante de los cambios en todas las formas. Sin embargo, el hecho que haya aumentado tan claramente en los eritrocitos y la importancia que se le da a esta enzima en el control de la inflamación y el estrés oxidativo (21-28), es sugestivo que en este estudio la diarrea y particularmente la diarrea con deficiencia de E causó un proceso inflamatorio que estimuló la actividad de la SOD como respuesta compensatoria. Las altas correlaciones entre la severidad de la diarrea y la actividad de la SOD en eritrocitos y los niveles de malonaldehído en plasma apoyan esta hipótesis. Estos resultados están de acuerdo con los de Laskowska-Klita y Chelchowska (29) que detectaron altas actividades de superóxida dismutasa en pacientes con fibrosis quística y bajos niveles de vitamina E en estas mismas células y sugieren que tanto los niveles de malonaldehído en plasma como la actividad de la superóxida dismutasa en eritrocitos, pudieran ser indicadores no invasivos, útiles en establecer los niveles de inflamación y estrés oxidativo asociados con la diarrea.

En general, este estudio indica que la diarrea inducida con lactosa es sensible al estado nutricional de la vitamina E y que consumos adecuados de esta vitamina resultan en diarreas menos severas. Además, los resultados sugieren que el efecto favorable de la vitamina E en el manejo de este tipo de gastroenteritis puede estar asociado con un mejor control del daño oxidativo que produce la inflamación del tracto gastrointestinal en respuesta al proceso diarreico y que difunde a otros tejidos y se detecta tanto en el plasma como en los eritrocitos. Estos hallazgos están de acuerdo con las observaciones de Nieto y colaboradores (21) que señalaron que la diarrea inducida por lactosa reduce la capacidad antioxidante a nivel intestinal.

Desde un punto de vista práctico, los resultados sugieren que la vitamina E debería considerarse como un nutriente importante en la alimentación durante la diarrea y su eficacia debería estudiarse en la diarrea infantil. Es posible que así como la suplementación con vitamina A ha demostrado ser eficaz en reducir la incidencia de diarrea (31), la vitamina E pudiera ser útil en el control de su severidad.

REFERENCIAS

1. Liuzzi JP, Cioccia AM, Hevia P. In well fed young rats lactose induced chronic diarrhea reduces the apparent absorption of vitamin A and E and affects preferentially vitamin E status. *Journal of Nutrition* 1998; 128: 2467-72.
2. Hevia P, Carías D, Cioccia AM, González E. Diarrea y Nutrición: experiencia en niños y ratas. *Anales Venezolanos de Nutrición* 1998; 11: 28-36.
3. Bueno J, Torres M, Almendros A, Carmona R, Núñez MC, Ríos A, Gil A. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhoea. *Histological and ultrastructural changes. Gut* 1994; 33: 926-33.
4. De Lima M, González E, Cioccia AM, Hevia P. Efecto de la diarrea osmótica y secretora sobre la función y morfología del intestino en ratas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2002; 52: 20-8.
5. Carías D. Utilización de nutrientes y estado nutricional calórico proteico en niños y ratas con diarrea [tesis doctoral]. Caracas: Universidad Simón Bolívar; 2000.
6. Carías D, Cioccia AM, Hevia P, Romer H, Guerra M, Brito O. Utilización de nutrientes en niños con diarrea aguda alimentados con fórmula a base de pollo y de soya. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 1999; 49: 130-7.
7. Thomas JA. Oxidative stress and oxidant defense. En: Shills ME, Olson JA, Shike, M, Ross C, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease. Ninth ed.* Philadelphia: Williams and Wilkins; 1999. p.751-60.
8. Teitelbaum JE, Walker WA. Review: the role of omega 3 fatty acids in intestinal inflammation. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2001; 12: 21-32.
9. Devaraj S, Traber MG. ?-Tocopherol, the new vitamin E. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 530.
10. Rimbach G, Minihane AM, Majewicz J, Fischer JP, Pallauf J, Virgli F, Weinberg P. Regulation of cell signaling by vitamin E. *Proceedings of the Nutrition Society* 2002; 61: 415-425
11. German JB, Traber MG. 2001 Nutrients and oxidation: Actions, Transport, and metabolism of dietary antioxidants. En: Rucker RB, Suttie JW, McCormick DB, Machlin LJ, editors. *Handbook of Vitamins. Third ed.* New York: Marcel Decker p. 569-88.
12. Kruidenier L, Kuiper I, vanDuijn W, Mieremet-Ooms MAC, van Hogezaand Ra, Lamers CBHW, Verspaget H W. *The Journal of Pathology* 2003; 201: 17-27.
13. American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 1977; 107:1340-48.
14. Mohri K, Dohmoto C, kesu H, Igarashi O. A simple elimination method of vitamin E from vegetable and fish oils for the preparation of vitamin E deficient diets. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 1983; 36:122-24.
15. McCord JM, Fridovich I. The reduction of cytochrome C by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 1968; 243: 5753-60.
16. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-58.
17. Lowry OH, Rosebrough, NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
18. Drabkin DL, Austin JH. Spectrophotometric studies: spectrophotometric constants for common hemoglobin derivatives in human, dog and rabbit blood. *J Biol Chem* 1932; 719- 35.
19. National Research Council 1996. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy Press. Washington DC.
20. González E, Sánchez G, Cioccia AM, Hevia P. Absorción de grasa proveniente de tres fuentes dietarias en ratas con diarrea inducida con lactosa. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2001; 51: 244-49.
21. Salvemini D, Cuzzocrea S. Therapeutic potential of superoxide dismutase mimetics as therapeutic agents in critical care medicine. *Crit Care Med* 2003; S29-38.
22. Ahmed MN, Suliman HB, Folz RJ, Nozik-Grayck E, Golson ML, Mason SN, Auten RL. Extracellular superoxide dismutase protects lung development in hyperoxia-exposed newborn mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 400-5.
23. Valentine JF. Mesalamine induces manganese superoxide dismutase in rat intestinal epithelial cell lines and in vivo. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1044-1050.
24. Emerit J, Pelletier S, Tosoni-Verlignue D, Mollet M. Phase II trial of copper zinc superoxide dismutase (Cu-Zn SOD) in treatment of Crohn's disease. *Free Radic Biol Med* 1989; 7: 145-9.
25. Bowler RP, Arcaroli J, Abraham E, Patel M, Chang LY, Crapo JD. Evidence for extracellular superoxide dismutase as a mediator of hemorrhage-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284: L680-7.
26. Ookawara T, Imazeki N, Matsubara O, Kiozaki T, Oh-Ishi S, Nakao C, Sato Y, Ohno H. Tissue distribution of immunoreactive mouse extracellular superoxide dismutase. *Am J Physiol* 1988; C840-7.
27. Sugino N, Telleria CM, Gibori G. Differential regulation of Copper-zinc superoxide dismutase and manganese superoxide dismutase in the rat corpus luteum: induction of manganese superoxide dismutase messenger ribonucleic acid by inflammatory cytokines. *Biol Reprod* 1988; 59: 208-15.
28. Ookawara T, Egushi H, Nishimura M, Kizaki T, Takayama E, Sayito D, Ohno H, Suzuki K. Effect of oxidative stress on the nuclear translocation of extracellular superoxide dismutase. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303: 914-9.
29. Laskowska-Klita T, Chechowska M. Antioxidant status in erythrocytes of cystic fibrosis children. *Acta Biochimica Polonica* 2001; 48: 283-5.
30. Nieto N, López-Pedroza JM, Mesa MD, Torres MI, Fernández MI, Ríos A, Suarez MD, Gil A. Chronic diarrhea impairs intestinal antioxidant defense system in rats at weaning. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 2044-50
31. Barreto ML, Santos LM, Assis AM, Araujo MP, Farenza GG, Santos PA, Fiaccone RL. Effect of vitamin A supplementation on diarrhoea and acute lower- respiratory tract infections in young children in Brazil. *Lancet* 1994; 344(8917): 228-31.

Recibido: 22-07-2004

Aceptado: 01-03-2005

Efectividad del índice de masa corporal en el diagnóstico nutricional de gestantes

Ingrid Rached-Paoli, Gladys Henríquez-Pérez, Arelis Azuaje-Sánchez

Centro de Atención Nutricional Antímamo (CANIA). Caracas - Venezuela

RESUMEN. Con el fin de analizar las concordancias de la clasificación nutricional en gestantes al aplicar diferentes criterios de clasificación basado en el índice de masa corporal y evaluar su efectividad se estudiaron 314 gestantes adultas, sanas, en el primer trimestre, de estrato socioeconómico IV. En todas se aplicaron dos metodologías para la clasificación nutricional: el diagnóstico nutricional integral y el índice de masa corporal utilizando los valores de referencia del Instituto de Medicina, FAO/OMS, Frisancho, Bray y Atalah. Se calculó Kappa y se determinaron las concordancias y no concordancias. Se calculó sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo. El mayor grado de acuerdo entre el diagnóstico nutricional integral y los criterios de clasificación analizados en las comparaciones con cuatro y tres categorías nutricionales fue con Frisancho con los siguientes resultados 89,2%, kappa = 0,81 en el primer caso y 91,4%, Kappa = 0,84, en el segundo. En el rango de déficit la sensibilidad de los criterios de clasificación de Bray y de Atalah fue mas alta que la del resto de los criterios estudiados. En el rango de exceso FAO/OMS, Frisancho y Bray tuvieron una sensibilidad alta (entre 1 y 0,99); de ellos, Frisancho tuvo además una alta especificidad en relación a FAO/OMS y Bray. Los criterios de clasificación de Frisancho fueron los mejores para diagnosticar el estado nutricional de gestantes en el primer trimestre, por lo que se recomienda su uso en grupos de población con estas características.

Palabras clave: Embarazada, antropometría, índice de masa corporal, criterios de clasificación.

SUMMARY. Effectiveness of body mass index in the nutritional diagnosis of pregnant women. Our goal was to analyze the concordances and non-concordances of the nutritional classification in pregnant women and to evaluate their effectiveness when different BMI classification methodologies were applied. The study consisted of 314 adult healthy pregnant women in their first trimester, of socioeconomic status IV. In all of them, two nutritional classification criteria were applied: the integral nutritional diagnosis (IND) and different BMI reference values (Institute of Medicine, FAO/OMS, Frisancho, Bray, and Atalah). Kappa, concordance and non-concordance, sensitivity, specificity, positive and negative predictive values were calculated. The highest frequency of concordance between IND and the analyzed classification criteria in comparing four and three nutritional categories was Frisancho's with the following results 89.2%, Kappa = 0.81 in the first case, and 91.4, Kappa = 0.84 in the second case. In deficit, the Bray and Atalah classification criteria were the highest sensitivities. In excess, FAO/OMS, Frisancho, and Bray had a high sensitivity (1-0.99). Frisancho, in addition, had a high specificity with respect to FAO/OMS and Bray. Frisancho's classification criteria are the best choice for diagnosing adult pregnant women's nutritional status during the first trimester within population groups with these characteristics.

Key words: Pregnancy, anthropometric, body mass index, classification criteria.

INTRODUCCION

El índice de masa corporal (IMC), también llamado índice de Quetelet, es un indicador mixto, elaborado a partir de variables que miden dimensiones corporales globales como son el peso y la talla (1). Este índice es una medida de peso corregida para la talla (P/T^2). Es un indicador de masa corporal con alta independencia de la talla y según muchos autores, un buen indicador de grasa corporal total (2).

En líneas generales el IMC es aplicado en la clasificación del estado nutricional, bien sea en déficit o en exceso (3); el

hecho de que el IMC refleje reservas corporales energéticas le permite describir tanto presencia de obesidad como de deficiencia energética crónica en adultos (4). Por otra parte, es muy utilizado en la categorización del estado nutricional pre-concepcional (5) y en las embarazadas, tanto para la clasificación de su estado nutricional al inicio de la gestación así como para el monitoreo nutricional a lo largo de la misma (6).

Para categorizar el estado nutricional en la edad adulta utilizando el IMC existen varios valores de referencia para dicho indicador (5,7-10), de los cuales los utilizados con mayor frecuencia en la evaluación nutricional de las gestantes al inicio del embarazo son los del Instituto de Medicina de los Estados Unidos, subcomité del estado nutricional y ganancia de peso de la embarazada (5); sin embargo, ninguno de dichos valores

Esta investigación fue subvencionada por el Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo (CANIA).

de referencia han sido validados a escala nacional e internacional, por lo que se propone una investigación con los siguientes objetivos:

Analizar las concordancias de cinco criterios de clasificación basados en el IMC para la categorización del estado nutricional de gestantes.

Analizar las concordancias de los criterios de clasificación utilizados con el diagnóstico nutricional integral.

Analizar la efectividad de los criterios de clasificación considerados.

MATERIALES Y METODOS

De un total de 816 embarazadas evaluadas en la consulta "Atención Nutricional de la Gestante" en el Centro de Atención Nutricional Infantil Antfmano (CANIA) (11), en el lapso comprendido entre agosto de 1998 y mayo de 2002, se seleccionaron para ingresar al grupo de estudio ($n = 314$) aquellas que cumplieron los siguientes criterios de inclusión: edad > 19 años, embarazo simple, ausencia de patología asociada, edad gestacional ≤ 13 semanas según fecha de última regla (FUR) validada por el ecosonograma obstétrico, donde la diferencia entre ambos métodos para el cálculo de la edad gestacional no podía ser mayor de 2 semanas. Todas ellas pertenecieron al estrato socioeconómico IV de Graffar modificado para Venezuela (12).

La clasificación nutricional de las gestantes se hizo aplicando dos metodologías: el diagnóstico nutricional integral (DNI) y el IMC utilizando los valores de referencia del Instituto de Medicina (5), FAO/OMS (7), Frisancho R. (8), Bray G. (9) y Atalah E. (10). La primera consistió en la aplicación del diagnóstico nutricional integral de las gestantes fundamentada en indicadores clínicos, antropométricos, dietéticos y bioquímicos según metodología previamente establecida (13); considerando las siguientes categorías nutricionales: desnutrición actual clínica, desnutrición actual subclínica, eutrófica, sobrepeso y obesidad. Este método constituyó el patrón de oro. La segunda consistió en la utilización del IMC aplicando diferentes criterios de clasificación según diversos autores que se resumen en la Tabla 1. El IMC se calculó sobre la base del peso y la talla medidos en el primer trimestre de la gestación por técnicos antropometristas previamente entrenados y estandarizados semestralmente, siguiendo las técnicas recomendadas por el Programa Biológico Internacional (14).

El análisis estadístico incluyó el cálculo de la frecuencia relativa con un intervalo de confianza de 95% (IC_{95%}) para cada categoría nutricional del DNI y de cada uno de los criterios de clasificación según IMC analizados. Así mismo, una vez clasificadas las gestantes según el IMC para cada valor de referencia, se realizaron todas las posibles combinaciones por pares de dichos valores, para el análisis de las concordancias

y no concordancias de los criterios de clasificación contrastados. Todos los criterios de clasificación según IMC analizados, excepto los de Atalah, incluyen 5 categorías de estado nutricional (muy bajo, bajo, normal, alto y muy alto). Para poder comparar los criterios de clasificación de Atalah con el DNI y con el resto de los criterios estudiados, se unieron en una sola categoría nutricional los dos grados de desnutrición del DNI y el nivel bajo y muy bajo del Instituto de Medicina, FAO/OMS, Frisancho y Bray, formando de esta manera cuatro categorías nutricionales para cada uno de ellos. Posteriormente, se calcularon las concordancias entre el DNI (patrón de oro) con cada uno de los criterios de clasificación según IMC analizados.

TABLA 1
Criterios de clasificación del IMC (kg/m²)
según diversos autores

Clasificación Nutricional	Criterios de clasificación				
	Instituto Medicina	FAO/OMS	Frisancho	Bray	Atalah
Bajo	$\leq 19,7$	$\leq 18,5$	$\leq P_{15}$	≤ 20	*
Normal	19,8-26,0	18,6-24,9	$>P_{15} - \leq P_{75}$	20,1-25,0	*
Alto	26,1-29,0	25,0-29,9	$>P_{75} - \leq P_{85}$	25,1-30,0	*
Muy alto	$> 29,0$	$> 29,9$	$> P_{85}$	$> 30,0$	*

* El punto de corte varía según la edad gestacional (10)

A los resultados de concordancia y no concordancia estudiados para cada objetivo se les aplicó un análisis de frecuencia, el cálculo del coeficiente Kappa (K), así como el error estándar (EE) y el IC_{95%} de este último. El coeficiente Kappa mide el grado de acuerdo entre el resultado de las dos clasificaciones nutricionales y se interpreta de la siguiente manera: valor del coeficiente Kappa $\leq 0,00$ indica total desacuerdo, 0,01-0,20 acuerdo leve, 0,21 - 0,40 acuerdo regular (mediano), 0,41-0,60 acuerdo moderado, 0,61 -0,80 acuerdo importante y 0,81-1,00 casi total acuerdo entre los diagnósticos (15).

Para determinar la efectividad de cada uno de los criterios de clasificación en relación con el patrón de oro (DNI) se indagaron las siguientes cualidades: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo (16), considerando para ello tres categorías nutricionales: a) malnutridos en déficit: al unir los niveles bajo y muy bajo, b) eutróficos y c) malnutridos en exceso: al unir los niveles alto y muy alto. El procesamiento de los datos se realizó con el programa SPSS (Versión 9,0).

RESULTADOS

La frecuencia de cada categoría nutricional según el diagnóstico nutricional integral y los diferentes criterios de clasificación analizados se señala en la Tabla 2. El porcentaje de gestantes eutróficas según el IMC osciló entre 47,1% y 58,9%, este porcentaje fue mayor cuando se utilizó el DNI (61,8%).

TABLA 2
Frecuencia de las categorías nutricionales según el diagnóstico integral y los diferentes criterios de clasificación del IMC

Categoría Nutricional	DNI*		IM**		Indice de masa corporal							
					Frisancho	Atalah	FAO/OMS	Bray				
	n	%	n	%	n	%	n	%				
Bajo	34	10,8	37	11,8	27	8,6	52	16,6	16	5,1	45	14,3
	(7,37-14,23)		(8,23-15,37)		(5,50-11,70)		(12,48-20,72)		(2,67-7,53)		(10,43-18,17)	
Normal	193	61,5	185	58,9	184	58,6	151	48,1	175	55,7	149	47,5
	(56,42-67,17)		(53,46-64,34)		(52,85-63,75)		(42,57-53,63)		(50,21-61,19)		(41,58-52,62)	
Alto	38	12,1	35	11,1	46	14,6	70	22,3	80	25,5	78	24,8
	(8,23-15,37)		(7,62-14,57)		(10,69-18,51)		(17,70-26,90)		(20,68-30,32)		(20,02-29,58)	
Muy alto	49	15,6	57	18,2	57	18,2	41	13,0	43	13,7	42	13,4
	(11,59-19,61)		(13,93-22,47)		(13,93-22,47)		(9,37-16,83)		(9,90-17,50)		(9,63-17,17)	

* DNI = diagnóstico nutricional integral, IM** = Instituto de Medicina

La Figura 1 muestra las concordancias y no concordancias en los resultados de las comparaciones con cuatro categorías nutricionales aplicando los criterios de clasificación según IMC considerados.

Frisancho y Bray tuvieron una sensibilidad alta (entre 1 y 0,99); de ellos, Frisancho tuvo además una alta especificidad en relación a FAO/OMS y Bray.

FIGURA 1

Concordancia y no concordancia entre los criterios de clasificación del IMC con cuatro categorías nutricionales

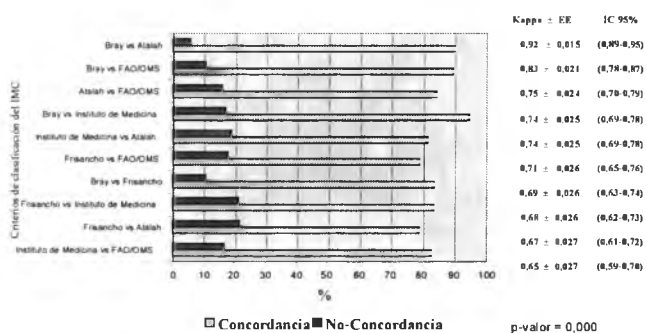
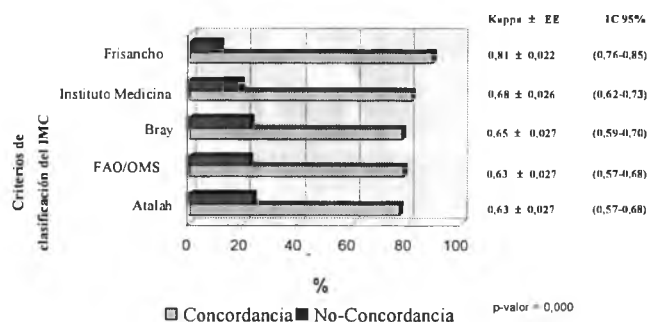


FIGURA 2

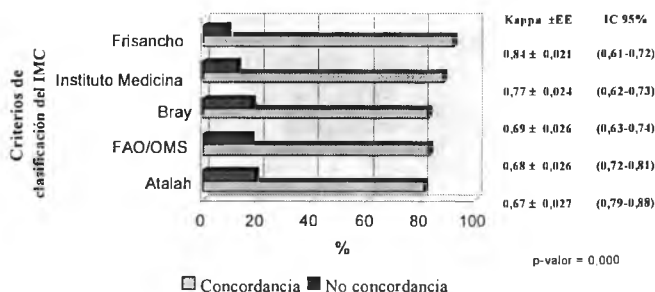
Concordancia y no concordancia entre el diagnóstico integral y los criterios de clasificación del IMC con cuatro categorías nutricionales



Las Figuras 2 y 3 evidencian las concordancias y no concordancias en los resultados de las comparaciones entre el diagnóstico nutricional integral y los criterios de clasificación con cuatro y tres categorías nutricionales, respectivamente.

FIGURA 3

Concordancia y no concordancia entre los criterios de clasificación del IMC con tres categorías nutricionales



En las Tablas 3 y 4 se observan los resultados de sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivo y negativo de cada uno de los criterios de clasificación analizados en el rango de déficit y de exceso respectivamente. En el rango de déficit la sensibilidad de los criterios de clasificación de Bray y de Atalah fue más alta que la del resto de los criterios estudiados, con el valor predictivo positivo mas bajo para Atalah. En el rango de exceso FAO/OMS,

TABLA 3
Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de los criterios de clasificación del IMC en el rango de déficit

Criterios de clasificación	S	E	VPP	VPN
Instituto de Medicina	0,79	0,95	0,85	0,96
Frisancho	0,76	0,99	0,96	0,96
Atalah	0,85	0,86	0,56	0,97
FAO/OMS	0,47	1,00	1,00	0,90
Bray	0,85	0,90	0,64	0,97

S = sensibilidad, E = especificidad, VPP = valor predictivo positivo, VPN = valor predictivo negativo

TABLA 4
Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de los criterios de clasificación del IMC en el rango de exceso

Criterios de clasificación	S	E	VPP	VPN
Instituto de Medicina	0,90	0,92	0,85	0,95
Frisancho	0,99	0,91	0,83	0,99
Atalah	0,95	0,84	0,75	0,97
FAO/OMS	1,00	0,81	0,71	1,00
Bray	0,99	0,81	0,72	0,99

S = sensibilidad, E = especificidad, VPP = valor predictivo positivo, VPN = valor predictivo negativo

DISCUSION

La mayor frecuencia de gestantes eutróficas según el DNI coincide con lo reportado en dos investigaciones nacionales y en una internacional (13,17,18), todas ellas realizadas en embarazadas de igual estrato socioeconómico.

El Instituto de Medicina de los Estados Unidos, Subcomité del Estado Nutricional y Ganancia de Peso de la Embarazada recomienda la utilización del índice de masa corporal preconcepcional para la clasificación del estado nutricional de gestantes en el primer trimestre (5); sin embargo, existen numerosos trabajos que demuestran la influencia que tienen los criterios de clasificación seleccionados en el diagnóstico nutricional antropométrico (3,7,19), por lo que resulta importante probar cuál de los existentes para este indicador antropométrico sería el más efectivo en la clasificación nutricional de la gestante en el primer trimestre.

El mayor grado de acuerdo en las comparaciones con cuatro categorías nutricionales entre Bray y Atalah ($Kappa = 0,92$), se explica por que los criterios de clasificación seleccionados por ambos autores para definir cada categoría nutricional son muy similares. Esta aproximación viene dada por los siguientes

elementos: a) en la categoría normal los criterios de clasificación utilizados por Atalah fueron $= 20,0$ y $< 25,0$, que eran los recomendados por FAO/OMS antes de ser sometidos a discusión por el Comité de Expertos de dichas organizaciones, a partir de allí se bajó el límite inferior a $18,6$ (7), b) la categoría nutricional resultante de la unión del nivel bajo y muy bajo quedó definida por el valor $= 20,0$ para Bray y $= 19,9$ para Atalah y c) en el nivel alto y muy alto los criterios de clasificación recomendados en ambos estudios fueron bastante semejantes como se observa en la Tabla 1.

El menor grado de acuerdo en las comparaciones con cuatro categorías nutricionales entre FAO/OMS y el Instituto de Medicina ($Kappa = 0,66$), se explica porque los puntos de corte recomendados por ambas instituciones son diferentes como se observa en la Tabla 1, lo cual se debe a las diferentes metodologías empleadas en la selección de los mismos (5,7). Por una parte, un Comité de Expertos de FAO/OMS en 1992, posterior a una extensiva revisión de los valores de referencia utilizados en múltiples países, definió un sistema para la categorización nutricional en adultos de ambos sexos (20) que se originó de los establecidos por Garrow en 1981 para caracterizar la presencia de adiposidad (21) y del señalado por James y col. en 1988 para definir deficiencia energética crónica (22), lo que ha sido probado en otros grupos poblacionales (23). Estos últimos autores tomaron en cuenta el metabolismo basal, la ingesta energética y la actividad física para establecer los criterios de clasificación; mientras que los recomendados por el Instituto de Medicina son producto de la transformación de los valores de peso y talla de las tablas del Metropolitan Life Insurance Company de 1959, en valores numéricos puntuales del IMC que corresponden a los valores porcentuales que establecen las distintas categorías nutricionales ($< 80\%$, $80-90\%$, $91-120\%$, $121-135\%$ y $> 135\%$) (5).

Los valores de Kappa en el rango de acuerdo moderado ($Kappa = 0,67 - 0,71$) en las comparaciones con cuatro categorías nutricionales entre Frisancho y el resto de los criterios de clasificación analizados, se explica por la utilización de pautas de comparación completamente diferentes. Frisancho aplica criterios de clasificación determinados por percentiles desagregados según grupos de edad (8), mientras el Instituto de Medicina, FAO/OMS, Bray y Atalah recomiendan valores puntuales del IMC. Los criterios de clasificación de Frisancho fueron: $= P_5, > P_5 - \leq P_{15}, P_{15} - \leq P_{75}, > P_{75} - \leq P_{85}, > P_{85}$ (8).

La mayor concordancia entre el diagnóstico nutricional integral y los criterios de clasificación de Frisancho, así como el valor de sensibilidad y buen nivel de especificidad de los mismos, catalogan a estos como los más efectivos en la identificación de mujeres adultas gestantes con malnutrición por déficit o por exceso en el primer trimestre del embarazo. En el resto de los criterios de clasificación estudiados estuvo

presente un máximo de dos cualidades, de las que determinan la efectividad del criterio seleccionado para diagnosticar de manera correcta dicha problemática. Este hecho hace pensar, que en esta población un porcentaje considerable de gestantes malnutridas en déficit o en exceso no serían diagnosticadas como tal al utilizar dichos criterios de clasificación y por ende, quedarían privadas de una intervención nutricional oportuna. Este riesgo sería menor si la clasificación nutricional antropométrica en el primer trimestre se realizara utilizando los de Frisancho, lo cual resultaría de gran utilidad en los niveles de atención primaria y en la consulta gineco-obstétrica, por ser el IMC una medida antropométrica de fácil aplicación e interpretación. Estos resultados caracterizan a los criterios de clasificación de Frisancho como de gran utilidad en la práctica diaria, debido a que permiten no solo ajustar las recomendaciones dietéticas de la gestante a su condición nutricional, sino hacer un seguimiento adecuado de la ganancia de peso a fin de prevenir complicaciones metabólicas, ya que algunas investigaciones han demostrado que la obesidad pre-concepcional representa un factor de riesgo de enfermedades maternas como son hipertensión, pre-eclampsia, diabetes mellitus, dislipidemia y de ocurrencia de fetos macrosómicos que presentan mayor frecuencia de alteraciones en el trabajo de parto y cesárea, así como una mayor mortalidad perinatal e infantil (6).

En general, se concluye utilizar los criterios de clasificación de Frisancho para diagnosticar el estado nutricional de gestantes adultas en el primer trimestre, en grupos de población con estas características, debido a que los mismos demostraron ser los más efectivos. De igual manera, se recomienda validar estos resultados en otros grupos de población.

REFERENCIAS

- Ávila-Rosas H. Evaluación del estado de nutrición. En: Casanueva E, Kaufer-Horwitz M, Pérez-Lizaur A, Arroyo P, editores. *Nutrología Médica*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1995.p.470-538.
- Henriquez G, Hernández Y, Correa C. Evaluación nutricional antropométrica. En: López-Blanco M, Landaeta-Jiménez M, editores. *Manual de Crecimiento y Desarrollo*. Caracas:FUNDACREDESA; Serono 1991. p.16-23.
- World Health Organization. "Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry". Geneva:WHO; 1995.p. 37-120.
- Monterrey-Gutiérrez P, Porrata-Maury C. Procedimiento gráfico para la evaluación del estado nutricional de los adultos según el índice de masa corporal. *Rev Cubana Aliment Nutr* 2001;15(1):62-7.
- Institute of Medicine. Subcommittee of nutritional status and weight. Gain during pregnancy. Nutrition during pregnancy. Pat 1: Weight gain and nutrient supplements. Washington, DC: National Academy Press; 1990.
- World Health Organization. Memoranda/Memorandums. Maternal anthropometry for prediction of pregnancy outcomes: Memorandum from a USAID/WHO/PAHO/Mother care meeting. 1991; 69(5): 523-32.
- Shetty PS, James WPT. Body mass index: A measure of chronic energy deficiency in adults. *FAO Food and Nutrition Paper*, 56. Rome: FAO, 1994:17-9.
- Frisancho AR editor. *Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status*. United States of America: The University of Michigan Press; 1993.p.168.
- Bray G. Overweight is risking fate: definition, classification, prevalence, and risk. *Ann N Y Acad Sci* 1987;14-28.
- Atalah E, Castillo C, Castro R, Aldea A. Propuesta de un nuevo estándar de evaluación nutricional en embarazadas *Rev Med Chil* 1997;125:1429-36.
- Bol Nutr Infantil CANIA*. 1998; (1):1.
- Méndez-Castellano H, Méndez MC. *Sociedad y Estratificación. Método Graffar Méndez-Castellano*. Caracas: FUNDACREDESA 1994; 1-206.
- Rached I, Azuaje A, Henriquez G. Estado nutricional en gestantes de una comunidad menos privilegiada de Caracas. *An Venez Nutr* 2002; 15(2):94-104.
- Weiner JS, Lourie JA. *Human Biology: A guide to field methods*. In: Tanner JM, Hiernaux J, Jarman S editors. *Growth and Physique*. Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1969.
- Landis J, Koch G. The Measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1997; 33:159-174.
- Peláez M, Torre P, Usunza A. Elementos prácticos para el diagnóstico de la desnutrición. Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán". Centro de Capacitación Integral para Promotores Comunitarios. México. 1993; 1-70.
- Santos C, Henriquez G, Rached I, Azuaje A. Evaluación dietética en mujeres gestantes y su relación con el peso del recién nacido. *An Venez Nutr* 2003 (en prensa)
- Neggens Y, Goldenberg R, Tamura T, Cliver S, Hoffman H. The relationship between maternal dietary intake and infant birth weight. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;165 6):71-7.
- López-Blanco M, Hernández-Valera Y, Torún B, Fajardo L. Taller sobre evaluación nutricional antropométrica en América Latina: informe de la reunión. Meeting on anthropometry. Caracas 1.995.
- Bailey KV, Ferro-Luzzi A. Use of body mass index of adults in assessing individual and community nutritional status. *Bulletin of the World Health Organization* 1995; 73(5):673-80.
- Garrow JS. *Treat obesity seriously: a dynamical manual*. London: Churchill Livingstone, 1981.
- James WPT, Ferro-Luzzi A, Waterlow JC. Definition of chronic energy deficiency in adults. *Eur J Clin Nutr* 1988;(42):969-81.
- Ferro-Luzzi A, Sette S, Franklin M, James WPT. A simplified approach to assessing adult chronic energy deficiency. *Eur J Clin Nutr* 1992;46:173-86.

Recibido : 24-05-2004

Aceptado : 02-02-2005

Leptina sérica en niños y adolescentes venezolanos obesos y eutróficos

Miguel Eduardo Viso González, Liseti Solano R., Armando Sánchez, Zulay Portillo, Daisy Llovera

Centro de Investigaciones en Nutrición, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo-Valencia, Venezuela

RESUMEN. La leptina está íntimamente relacionada con la obesidad y sus complicaciones. Para determinar los niveles de esta hormona en niños y adolescentes, y su asociación con edad, género, nivel socioeconómico, estado nutricional antropométrico y consumo dietario, se evaluaron 166 niños y adolescentes (91 eutróficos y 75 obesos, edades 2-15 años), de bajo nivel socio-económico. Se realizó valoración socioeconómica (Graffar-Méndez C método), dietaria (recordatorio 24 horas), nutricional antropométrica y de laboratorio (leptina por ELISA). Se definió eutrófico por peso para la talla (P/T) o índice de masa corporal (IMC) y el área grasa entre percentil 10 y 90, y obesidad cuando eran superiores al percentil 90. La hormona fue significativamente mayor en los obesos que en los eutróficos, sin diferencias por género o edad. La distribución percentilar mostró el percentil 90 para la leptina en 11,53 µg/L en eutróficos y 24,29 µg/L en obesos. Hubo tendencia a correlación inversa entre leptina sérica y aporte de grasas y relación cintura/muslo (RCM). El consumo excesivo de grasas se asoció a la disminución de la leptina sérica. Los resultados sugieren que los niños y adolescentes obesos presentaron resistencia a la leptina, independientemente de su edad o género. Se recomienda establecer programas de educación nutricional que incluyan evitar el elevado consumo dietario de grasas para prevenir y controlar la obesidad infantil.

Palabras clave: Leptina, niños, adolescentes, obesidad, antropometría, resistencia a la leptina, aporte dietario.

SUMMARY. Serum leptin in eutrophic and overweight Venezuelan children and adolescents. Leptin is closely related to obesity and its complications. In order to determine serum levels of this hormone in children and adolescents, and its associations to age, gender, socioeconomic status, nutritional anthropometrical status and dietary intake, 166 children and adolescents (91 normal and 75 obese, aged 2 to 15 years), from low socioeconomic status were assessed. A socioeconomic evaluation (Graffar-Mendez C method), dietary intake (24 hour recalls), anthropometrical assessment and leptin by ELISA were performed. Normal or eutrophic was defined as weight for height (W/H) or Body mass index (BMI) and fatty area between 10th and 90th percentile. Obesity when indicators were over 90th percentile. Leptin was significantly higher in obese than in normal, without differences by gender or age. Leptin percentile distribution showed 11,53 µg/L and 24,29 µg/L as 90th percentile for normal and obese children, respectively. There was a tendency to inverse correlation among leptin, fat dietary intake and waist-thigh ratio. Excessive fat intake was associated to lower serum leptin. Results suggest that obese children had leptin resistance, independently of age and gender. It is recommended to develop nutritional education programs regarding obesity and dietary intake in order to prevent and control infantile obesity.

Keywords: Leptin, children, adolescents, obesity, anthropometrics, leptin resistance, dietary intake.

INTRODUCCION

La obesidad humana es de origen multifactorial, resultando no sólo de un balance positivo entre el ingreso de calorías y el gasto energético, sino del producto de la conjunción de múltiples factores ambientales en una persona genéticamente predispuesta (1-3).

Para la obesidad familiar, el factor de riesgo más importante es la malnutrición por exceso infantil. La herencia es capaz de contribuir entre un 25 por ciento y un 40 por ciento a las diferencias interindividuales en adiposidad. En la mayoría de los casos, los genes involucrados en la ganancia de peso no

causan directamente este trastorno sino que condicionan la susceptibilidad a aumentar las reservas lipídicas en individuos con exposición ambiental específica (4).

Entre los factores que actualmente se conocen como involucrados en la regulación de la grasa corporal está la leptina, la cual es una proteína producto del gen *ob*, descubierta mediante clonación posicional en ratones en el año de 1994. Se trata de una hormona secretada por el tejido adiposo que suprime el apetito y estimula el gasto energético (5,6). Los niveles son superiores en obesos, lo cual sugiere algún tipo de resistencia en el sistema nervioso central postulándose que actúa mediante receptores específicos en el hipotálamo y que es factible que su regulación esté bajo control neuroendocrino (7-9).

Existe evidencia de que los niveles séricos de leptina en el neonato y en el adulto son superiores en el sexo femenino, independientemente del estado de adiposidad, en comparación

con el sexo masculino; en la infancia, luego del período de recién nacido, y para la época de la adolescencia es controversial el dimorfismo sexual, en cuanto a las concentraciones circulantes de leptina.

Se refiere que las concentraciones de leptina se elevan en la pubertad temprana en ambos sexos lo cual se ha interpretado como una "resistencia fisiológica a la leptina", y como la elevación del producto del gen *ob* precede al incremento de las gonadotropinas se ha dicho que esta hormona puede constituir un "factor permisivo" para el inicio de la pubertad (10).

Los valores de leptina en la etapa prepuberal pueden definirse con mayor especificidad por la grasa corporal, y durante la pubertad, la leptina también está influida por factores hormonales adicionales (efecto supresor de los andrógenos y estimulante de los estrógenos) (11).

Una dieta rica en grasas puede contribuir a ganar peso por reducción en la secreción de leptina lo cual conduce a un aumento del apetito y se ha observado una disminución de la leptinemia durante el ayuno o cuando hay restricción energética (12-14). De tal manera que hay evidencia de que la obesidad, los niveles de leptina y de insulina están íntimamente interrelacionados (15).

Ante la evidencia recopilada y la carencia de información sobre estos aspectos en la población venezolana, se propuso esta investigación la cual tiene como objeto evaluar el comportamiento de los niveles séricos de leptina en niños y adolescentes obesos entre 2 y 15 años atendidos, entre los años 2002 y 2003, en el Centro de Investigaciones en Nutrición "Dr. Eleazar Lara Pantín" de la Universidad de Carabobo (CEINUT) ubicado en Valencia, estado Carabobo (Venezuela).

METODOLOGIA

Se realizó un estudio de tipo transversal, prospectivo y de campo (16,17) a fin de evaluar los niveles séricos de leptina en niños y adolescentes obesos y eutróficos, relacionándolo con la edad cronológica, el género y el consumo dietario. La población estuvo constituida por niños y adolescentes, entre 2 y 15 años, atendidos entre el año 2002 y 2003 en el Centro de Investigaciones en Nutrición "Dr. Eleazar Lara Pantín" de la Universidad de Carabobo (CEINUT) ubicado en el área del Hospital Universitario "Dr. Ángel Larralde", Valencia, Venezuela.

Después de excluir a aquellos niños o adolescentes que hubieran recibido algún tipo de medicamento tipo corticoesteroides, agonistas beta-adrenérgicos, insulina, estrógenos, andrógenos, hormona del crecimiento y/o tiroxina; o que presentaran diabetes, cáncer, SIDA, síndrome de Cushing o patología tiroidea (hipertiroidismo o hipotiroidismo) o que estuvieran recibiendo medicaciones como quimioterápicos, anticonvulsivantes o antibióticos, la muestra quedó conformada por 166 niños y adolescentes (75 obesos y

91 eutróficos (grupo control)).

Los sujetos fueron evaluados en una sola oportunidad mediante interrogatorio que forma parte de la historia clínica de la consulta. La recolección de la información incluyó evaluación socioeconómica, evaluación dietaria y valoración de datos personales, biomédicos y del estado nutricional por antropometría así como extracción de muestra de sangre para la determinación de leptina en el laboratorio.

El nivel socioeconómico se determinó por el método Graffar-Méndez Castellano, realizándose este último solo en 154 individuos. El citado método de evaluación socioeconómica clasifica a la población en cinco niveles o estratos (I o Alto, II o Medio-Alto, III o Medio, IV o Pobreza Relativa y V o Pobreza Crítica) (18).

El consumo dietario de energía, proteínas, carbohidratos y grasas se determinó mediante recordatorio de 24 horas, para lo cual se obtuvo información detallada sobre el tipo y la cantidad de los alimentos consumidos en el período de 24 horas inmediatamente anterior a la entrevista (19). Los datos del recordatorio de 24 horas fueron procesados usando el programa de análisis dietario "Food Processor" ampliado con bases de datos modificadas con la Tabla de Composición de Alimentos Venezolanos 1991 (20,21). La evaluación dietética, se realizó sólo en 97 individuos.

Para la evaluación antropométrica se determinó el peso, la talla, la circunferencia de brazo izquierdo, la circunferencia de cintura, la circunferencia de muslo y el pliegue del tríceps con el objeto de determinar el estado nutricional, según técnicas descritas por López y Landaeta (22). Con los datos obtenidos se construyeron indicadores antropométricos como el índice de masa corporal, el área grasa, la relación peso/talla y el índice cintura/muslo, utilizando para el diagnóstico nutricional, los valores de referencia del Proyecto Venezuela (23):

Los criterios diagnósticos aplicados se presentan en el cuadro a continuación:

Índice de masa corporal	Dentro de la norma (entre percentil 10 y 90) Sobre la norma (superior al percentil 90). Este indicador se utilizó cuando la talla fuera superior a 135 cm. en el sexo femenino y a 140 cm. en los varones.
Área grasa	Dentro de la norma (entre percentil 10 y 90) Sobre la norma (superior al percentil 90).
Relación Peso/talla	Dentro de la norma (entre percentil 10 y 90) Sobre la norma (superior al percentil 90).
Índice cintura/muslo	No hay valores de referencia.

Se consideraron obesos todos los pacientes con un peso para la talla o un índice de masa corporal sobre la norma (superior al percentil 90) unido a un área grasa también sobre la norma (superior al percentil 90). Los eutróficos fueron aquellos con un peso para la talla o un índice de masa corporal y un área grasa entre percentil 10 y 90.

La evaluación bioquímica se realizó previo ayuno de doce horas. Se procedió a hacer una extracción de 5 ml. de sangre por punción venosa el mismo día de la evaluación antropométrica. Posteriormente a la retracción del coagulo, se procedió a centrifugar separando el suero, congelándose a -70°C hasta el momento de determinar la concentración de leptina, mediante prueba de Enzimo inmuno análisis (ELISA) por duplicado, siguiendo el metodo descrito por el fabricante (24), realizándose las lecturas en un lector de ELISA marca Labsystems Multiskan, contra la curva de calibración correspondiente, expresándose los valores de leptina en $\mu\text{g/L}$.

Para el análisis estadístico se construyeron tablas de distribución de frecuencias con valores absolutos y porcentajes. Para variables cualitativas como sexo, se clasificó la información según categorías preestablecidas de género (masculino o femenino). Cuando se trató de la edad se construyeron tres categorías o grupos de edad, así: 2-6, 7-9, 10-15. Para las medidas cuantitativas se estableció la tendencia central (media, mediana y moda) y la dispersión de dichos valores alrededor del promedio usando para ello la desviación estándar y la varianza. Además, se comprobó la normalidad o no de la distribución de la muestra (16).

Las diferencias entre las medidas se establecieron mediante las comparaciones de medias por grupo por "t de Student" y las asociaciones se evaluaron con los análisis de correlación de Pearson y de Spearman. El nivel de significado estadístico se estableció en un nivel del 5 por ciento o menos ($p < 0,05$). Se empleó el paquete computarizado de análisis estadístico SPSS ver 10.0, 1999 en español.

RESULTADOS

El análisis estadístico mostró una distribución asimétrica para las concentraciones séricas de la leptina por lo cual se utilizaron pruebas no paramétricas en las comparaciones entre los grupos y los valores de la hormona se expresan como promedio geométrico \pm DE, en las Tablas.

La población estudiada fue de 166 niños, con una edad promedio de $6,32 \pm 1,60$ años. Según el género, 96 (57,8%) eran varones y 70 (42,2%) hembras. De acuerdo al estado nutricional, 91 (54,8%) eran eutróficos y 75 (45,2%) obesos. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los sujetos para la edad según el sexo ($p = 0,545$) pero de acuerdo al estado nutricional, los niños obesos tenían mayor edad que los eutróficos ($p = 0,038$).

Los 166 niños estudiados fueron subdivididos en tres

grupos según la edad: 2 a 6 años con 92 niños (55,4%), 7 a 9 años con 30 niños (18,1%) y 44 adolescentes (26,5%) de 10 a 15 años.

Un 1,3 por ciento del grupo estudiado pertenecía al nivel socio-económico alto (I), el 44,2 por ciento al medio-alto (II), el 20,8 por ciento al medio (III), el 29,2 por ciento a la pobreza relativa (IV) y el 4,5 por ciento al nivel socio-económico de pobreza crítica (V). No hubo asociación significativa al comparar los niños y adolescentes según el nivel socio-económico por género ($p = 0,532$) o estado nutricional ($p = 0,227$) (datos no mostrados).

En la Tabla 1, se presentan los niveles séricos de leptina según la clasificación por grupo etario, y por género. Se observa que a pesar de no encontrarse diferencias significativas por edad ($p = 0,149$), se presenta una tendencia a valores más altos en los niños de mayor edad. En los grupos etarios de 7 a 9 años y de 10 a 15 años no se demostraron diferencias significativas en los niveles séricos de leptina según el género, no obstante, en los niños de 2 a 6 años se observó tendencia ($p = 0,059$), a valores mayores en los varones.

TABLA I

Leptina sérica ($\mu\text{g/L}$) en niños y adolescentes venezolanos según grupos etarios y género

	Total (n = 166)	Grupos de edad		
		2 a 6 años (n = 92)	7 a 9 años (n = 30)	10 a 15 años (n = 44)
	3,33 \pm 2,99	2,95 \pm 2,70	3,23 \pm 3,34	4,37 \pm 3,32
Género				
Masculino (n=96)	3,54 \pm 2,99	3,54 \pm 2,76	2,83 \pm 3,10	4,12 \pm 3,35
Femenino (n=70)	3,05 \pm 3,01	2,34 \pm 2,55	4,06 \pm 3,85	4,83 \pm 3,37
t (p)	0,85 (0,394)	1,91 (0,059)	-0,78 (0,438)	-0,42 (0,677)

ANOVA para múltiples grupos por edad. $f = 1,929$. $p = 0,149$ n.s

ANOVA para múltiples grupos por edad y por genero (masculino: $f = 0,666$. $p = 0,516$ n.s; femenino: $f = 2,945$. $p = 0,059$ n.s)

t de student para muestras independientes por grupos etarios (no significativa)

El valor promedio de la leptina en el grupo estudiado fue de $3,33 \pm 2,99 \mu\text{g/L}$, existiendo diferencias significativas al comparar los niños, tanto niñas como varones eutróficos ($2,27 \pm 2,59 \mu\text{g/L}$) con los obesos ($5,29 \pm 2,97 \mu\text{g/L}$, $t = 5,317$. $p = 0,000$).

En la Tabla 2 se muestran los niveles séricos de leptina en niños y adolescentes obesos según el género y según grupo etario. Se encontró que los niveles séricos de leptina en niños y adolescentes obesos presentaron valores significativamente mayores en edades mayores, especialmente entre el grupo de 10 a 15 años al comparar con el de 2 a 6 años ($p = 0,035$). Los incrementos también se observaron para cada género pero no alcanzaron diferencias significativas entre los grupos etarios.

TABLA 2
Niveles séricos de leptina ($\mu\text{g/L}$) en niños y adolescentes venezolanos obesos. Comparaciones según grupo etario y género

	Total	2 a 6 años (n = 36)	7 a 9 años (n = 15)	10 a 15 años (n = 24)
Edad	5,29 \pm 2,97	3,94 \pm 2,70**	5,39 \pm 3,22	8,12 \pm 2,94
Género	Masculino (n = 41)	5,00 \pm 2,57 (n = 19)	5,48 \pm 2,90 (n = 9)	8,00 \pm 3,04 (n = 13)
	Femenino (n = 34)	3,02 \pm 2,73 (n = 17)	5,27 \pm 4,16 (n = 6)	8,26 \pm 2,98 (n = 11)
	t (p)	1,55 (0,130)	0,061 (0,952)	-0,071 (0,944)

ANOVA para múltiples grupos por edad. (f = 3,351. p = 0,041 significativa). Bonferroni (** 2 a 6 años vs 10 a 15 años p = 0,035 significativo)

ANOVA para múltiples grupos por edad y género: (masculino: f = 0,836. p = 0,441 n.s.; femenino f = 2,788. p = 0,077 n.s)

t de student para muestras independientes por grupos etarios (no significativa)

La distribución percentilar de los niveles séricos de leptina en los niños y adolescentes del estudio según el estado nutricional, mostró que en los eutróficos, el percentil 90 correspondió a una concentración de 11,53 $\mu\text{g/L}$, mientras que en los obesos fue de 24,29 $\mu\text{g/L}$. Los niños obesos tuvieron 3,0 veces más riesgo de presentar una concentración sérica de leptina igual o mayor al percentil 90 que los eutróficos (Pearson $\text{Chi}^2 = 9,107$; p = 0,003, significativo; Odd ratio obesos/eutróficos: 3,0 (0,120-0,662).

La Tabla 3 muestra la correlación de Pearson entre el nivel sérico de leptina y las otras variables estudiadas que alcanzaron diferencias estadísticamente significativas, tanto en las niñas como en los varones.

TABLA 3
Correlación de Pearson entre el nivel sérico de leptina y variables dietéticas (n = 97) y antropométricas (n = 166) en niños y adolescentes de Venezuela

Variables	Leptina sérica ($\mu\text{g/L}$)	
	Correlación Pearson	Significado estadístico
Aporte de grasas (g/día)	-0,200	0,05
Peso (kg)	0,349	0,000
Talla (cm)	0,196	0,012
Circunferencia brazo izquierdo (cm)	0,419	0,000
Pliegue tríceps brazo izquierdo (mm)	0,419	0,000
Relación cintura/muslo	-0,162	0,055
Índice de masa corporal (kg/m^2)	0,441	0,000
Area grasa (cm^2)	0,431	0,000

La concentración sérica de leptina demostró una tendencia a la correlación inversa con el aporte de grasas y con la relación cintura/muslo, y una asociación directa significativa con

diversas variables antropométricas (peso, talla, circunferencia del brazo izquierdo, pliegue del tríceps del brazo izquierdo, índice de masa corporal y área grasa).

La correlación de Spearman entre el nivel sérico de leptina y otras variables en niños y adolescentes (datos no mostrados) también demostró una asociación directa significativa entre la concentración sérica de leptina con diversas variables antropométricas (peso, talla, circunferencia del brazo izquierdo, pliegue del tríceps del brazo izquierdo, índice de masa corporal y área grasa), pero no se encontró la correlación significativa entre el nivel sérico de leptina y el aporte de grasas, como se evidenció en la correlación de Pearson. Así mismo, se presentó una correlación inversa significativa entre los niveles séricos de leptina y la relación cintura/muslo.

DISCUSION

La leptina es una hormona que participa en la regulación del contenido graso del organismo y en el balance energético corporal, interviniendo además, en los mecanismos que dan inicio al desarrollo puberal (25).

El presente trabajo muestra los niveles séricos de leptina en 75 niños y adolescentes obesos comparado con un grupo control de 91 individuos eutróficos. La mayoría (98,7%) de los individuos que participaron en el estudio pertenecían a los estratos socio-económicos II a V. Se debe destacar que los resultados obtenidos de acuerdo al nivel socioeconómico señalan la homogeneidad del grupo de niños y adolescentes en cuanto a la distribución por género y estado nutricional.

Los niños estudiados tenían edades comprendidas entre 2 y 15 años (promedio: 6,32 \pm 1,60 años). En este estudio se incluyeron menores de 5 años, lo cual contribuye un aporte con relación a niños de menor edad ya que, evidencia internacional previamente reportada, como la de García-Mayor y colaboradores (26), sólo presenta datos para niños entre 5 y 15 años.

Los resultados del estudio no mostraron diferencias en los niveles de leptina entre los varones y las niñas evaluadas. A diferencia de lo que ocurre en el neonato y en el adulto, la presencia de dimorfismo sexual en los niveles séricos de leptina (mayores concentraciones en las hembras que en los varones) en la infancia, luego del período de recién nacido, y en la adolescencia resulta controversial. Así, algunos estudios coinciden con el presente, al no evidenciar diferencia significativa en la concentración de leptina según género (27-29, 10,11) mientras que otros trabajos refieren mayores concentraciones séricas de leptina en el sexo femenino en comparación con el masculino (30-33,26).

En la presente investigación no se demostraron diferencias significativas en los niveles séricos de leptina por edad, sin embargo, se presentó una tendencia a valores más altos en los niños mayores. García Mayor y colaboradores (26) ha

demostrado incremento con la edad en las concentraciones séricas de leptina, y diferencias según el género. De tal modo que los niveles circulantes de leptina en el sexo femenino se incrementaron en paralelo con el peso corporal desde los 5 años hasta los 15 años, pero, en cambio, en el sexo masculino, el incremento en las concentraciones séricas de leptina sólo se observó desde los 5 años hasta los 10 años, momento en el cual se presentó un progresivo descenso hasta la edad de 15 años.

En la época de la pubertad (grupo etario de 10 a 15 años), se ha reportado en diversos estudios un dimorfismo sexual en cuanto a los niveles séricos de leptina (mayores concentraciones en las hembras que en los varones), lo que se explica por acción de las hormonas (efecto estimulante de los estrógenos en las hembras y supresor de los andrógenos en los varones). Así mismo, la presencia de una mayor cantidad de masa grasa corporal total y de grasa subcutánea en las adolescentes femeninas contribuye a que estas presenten mayores niveles circulantes de leptina que los varones (34).

La comparación de los niveles séricos de leptina en niños y adolescentes eutróficos por género y grupo etario no presentó diferencias significativas, mientras que la comparación de los niños y adolescentes obesos mostró que los integrantes del grupo de 10 a 15 años presentaron niveles séricos de leptina significativamente mayores en comparación con el grupo etario de 2 a 6 años, lo cual puede deberse a la presencia de una mayor masa grasa en los primeros y al posible efecto permisivo de la leptina para el inicio de la pubertad lo cual se manifiesta por una elevación de la leptinemia, independientemente del género, incluso antes de observarse un incremento en las concentraciones de las hormonas relacionadas con la reproducción (FSH, LH, testosterona y estradiol) (26).

Posteriormente, al comenzar el período puberal, por efecto hormonal estimulante de los estrógenos se observan mayores niveles séricos de leptina en las niñas, mientras que en los varones se evidencia descenso (26). Es posible que el grupo de obesos estuviera constituido fundamentalmente, sobre todo en el caso de los varones, por individuos que se encontraban en el período previo al inicio del desarrollo puberal y, por lo tanto, tenían mayores concentraciones circulantes de leptina.

El hallazgo de valores de leptina mayores en los obesos ha sido reportado en distintos estudios y el presente coincide con lo referido. Los obesos a todas las edades desde el período neonatal hasta la ancianidad presentan mayores niveles séricos de leptina en comparación con los eutróficos (30,31,10). La leptina es sintetizada principalmente por el adipocito y sobre todo por el tejido graso blanco y periférico que por el pardo o el visceral. En vista que la obesidad se define como un exceso de grasa corporal, los individuos con malnutrición por exceso tendrán mayores concentraciones séricas de leptina en comparación con los eutróficos. Los obesos presentan altas concentraciones séricas de leptina en asociación a resistencia

a la acción de la hormona (no hay disminución en el apetito ni aumento en el gasto de energía). La leptina, probablemente, penetra al cerebro por un sistema de transporte saturable, y, así mismo, la capacidad de transporte de dicha hormona está disminuida en los individuos obesos lo cual constituiría un mecanismo de resistencia a la leptina, como se demostró en un estudio realizado en adultos en el cual se determinó la concentración de leptina en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y en el suero (35).

El presente estudio tiene la importancia de que ofrece valores de niveles séricos de leptina que pueden ser utilizados para comparar con otros en niños y adolescentes venezolanos. García-Mayor y colaboradores (26) en una investigación realizada en 789 niños y adolescentes eutróficos, de 5 a 15 años de edad, demostraron niveles séricos de leptina superiores a los reportados, así como variaciones según la edad y el género, correspondiendo los menores niveles séricos de leptina en los varones a los 5 años ($3,3 \pm 0,3 \mu\text{g/L}$) y a los 15 años de edad ($3,0 \pm 0,3 \mu\text{g/L}$), y en el sexo femenino solo a los 5 años ($4,3 \pm 0,4 \mu\text{g/L}$).

Falorni y colaboradores (31) en 315 niños y adolescentes eutróficos con edades comprendidas entre 5 y 16 años, reportan como valores mínimos de leptinemia, $2,2 \mu\text{g/L}$ en los varones y $4,2 \mu\text{g/L}$ en el sexo femenino, mientras que en 397 niños y adolescentes obesos, refieren concentraciones de leptina de $9,5 \mu\text{g/L}$ en los varones y $15,8 \mu\text{g/L}$ en el sexo femenino. En la investigación actual, el promedio del nivel sérico de leptina en niños y adolescentes obesos correspondió a $5,51 \mu\text{g/L}$, el cual es inferior a lo reportado por Falorni. Es posible que estas diferencias se puedan explicar por una predisposición genética de la población venezolana a una menor producción de leptina por el adipocito, así como a características culturales diferentes en cuanto al consumo dietario de macronutrientes, como carbohidratos y grasas, de micronutrientes, como el zinc, o a que el balance energético en cada niño sea menor en comparación con los niños y adolescentes que participaron en los estudios previamente referidos.

De esta manera, como posible explicación a las menores concentraciones de leptina observadas en la presente investigación, se pueden considerar el menor consumo de energía o un mayor gasto calórico de los niños y adolescentes evaluados; o que su alimentación es rica en grasas y reducida en carbohidratos o deficiente en zinc con respecto a los niños españoles o italianos participantes en los estudios citados.

Coincidente con varios investigadores, el presente estudio demuestra que la leptina se correlaciona positivamente con la masa grasa, de tal modo que el riesgo de presentar niveles séricos de leptina iguales o mayores al percentil 90 fue 3 veces mayor en los obesos que en los eutróficos, lo cual indica que la posibilidad de tener niveles elevados de leptina está asociada a la obesidad (10,11,27,28,30,31,33,36).

De esta forma, para una población similar en estrato socio-

económico, edad y género se propone la utilización del percentil 90 como punto de corte referencial sobre los niveles séricos de leptina, el cual correspondería a 11,53 µg/L en el caso de eutróficos y a 24,29 µg/L cuando se trata de obesos.

La correlación de Pearson mostró que el aporte dietario de grasas presentó una asociación inversa casi significativa con el nivel de leptina, lo que coincide con reportes recientes sobre los ajustes metabólicos que se suceden en el organismo de acuerdo a los componentes dietarios: así, investigaciones realizadas en animales y humanos revelan una asociación entre una dieta rica en grasas y menores concentraciones séricas de leptina (13).

Havel y colaboradores (12) demostraron en un grupo de mujeres sometidas a una alimentación rica en grasas y baja en carbohidratos, por inducción de una menor respuesta sérica de glucosa e insulina, concentraciones circulantes de leptina en 24 horas cuarenta por ciento más bajas que cuando los mismos individuos consumen alimentos bajos en grasas y ricos en carbohidratos, ya que estos provocan una respuesta sérica de glucosa e insulina superior.

Un trabajo previo de este mismo autor, en el cual sólo se hizo una determinación de la hormona en la mañana, el nivel sérico del producto del gen ob en ayunas no mostró cambios relacionados con el consumo dietario rico en grasas y bajo en carbohidratos (12). Havel plantea que esto se explica debido a que el nivel circulante de leptina es variable durante el día, asumiendo un patrón diurno con un pico nocturno, lo cual sugiere que debería hacerse un monitoreo de 24 para observar un efecto sobre los macronutrientes de la dieta. Sin embargo, nuestra investigación reportó una tendencia entre los valores de leptina en ayunas y el patrón de consumo de grasas.

Esta correlación inversa entre el aporte de grasas en la dieta y los niveles séricos de leptina, tal como se evidenció en nuestro estudio, puede deberse a una reducción de la respuesta insulínica después de las comidas ricas en grasas, con la consecuente disminución en el metabolismo de la glucosa inducido por la hormona en los adipocitos o a un aumento en la lipólisis (12,13), resultando, en ambos casos, una reducción en las concentraciones séricas de leptina.

Al consumir alimentos con un elevado aporte de grasas se logra incrementar el peso corporal no solamente porque se proporciona el sustrato para el acumulo de triglicéridos, sino también porque aumenta la ingesta de alimentos como consecuencia de la reducción en la secreción de leptina por el adipocito (12,13).

Diversos estudios, tanto en niños como en adultos, coinciden con el presente trabajo en el cual se demostró una correlación directa altamente significativa entre los niveles séricos de leptina y el área grasa ($p = 0,000$), así como entre la leptinemia y otras variables antropométricas indicadoras del componente grasa corporal (peso, talla, circunferencia braquial, pliegue del tríceps e índice de masa corporal) (10,11,27,28,30,31,33,36).

Además de la relación de las medidas antropométricas con el área grasa, estudios previos revelan que los niños obesos (mayor área grasa) tienen una edad ósea adelantada y una talla/edad superior en comparación con los eutróficos.

La insulino resistencia propiciada por la obesidad condiciona un aumento en la secreción pancreática y en el nivel sérico de la insulina que conlleva a un incremento de IGF-1 libre (factor 1 de crecimiento del tipo de la insulina) mediante la supresión de IGFBP-1 (proteína-1 fijadora de IGF-1). Así, los niños obesos son más altos al tener mayores concentraciones séricas de IGF-1 libre y, este efecto es independiente de la hormona del crecimiento cuyos niveles séricos están reducidos en los niños obesos (37,38).

La tendencia a la asociación inversa entre la concentración sérica de leptina y la relación cintura/muslo (RCM), y la asociación significativa entre la leptinemia y la RCM se relacionan con el hecho de que la relación cintura/muslo es el indicador que mejor se asocia en niños y en adolescentes con la obesidad central, la grasa visceral o con la distribución abdominal del tejido adiposo.

La grasa periférica que es la que se evalúa al determinar el área grasa del brazo es un buen predictor del nivel sérico de leptina lo cual se ha demostrado en trabajos previos y ha sido ratificado en este trabajo, sin embargo, el adipocito visceral expresa menores niveles de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de leptina en comparación con las células adiposas localizadas en el tejido subcutáneo, por ello, se puede esperar que no exista correlación o que no haya una asociación positiva entre la relación cintura/muslo y los niveles séricos de leptina. Los resultados de diferentes investigaciones son variables (39,28,40,41) pero en el presente estudio, la distribución de la grasa corporal se evaluó mediante un indicador diferente de distribución de la grasa (relación cintura/muslo) y los resultados permitirían sugerir que la grasa visceral contribuye poco con los niveles circulantes de leptina.

En resumen, los niños y adolescentes obesos tienen un riesgo aumentado de presentar hiperleptinemia, es decir, la malnutrición por exceso cursa con resistencia a la leptina; situación que constituye factor de riesgo cardiovascular. Además, se observó una relación entre el excesivo aporte dietario de grasas con niveles séricos disminuidos de leptina, teniendo esta asociación importancia en cuanto al origen de la malnutrición por exceso.

El incremento acelerado en la prevalencia de la obesidad infantil tanto a nivel mundial como en Venezuela, denota la importancia de esta investigación a objeto de mejorar el conocimiento sobre esta patología.

REFERENCIAS

1. Bouchard C, Prusse L, Leblanc C, Tremblay A, Theriault G. Inheritance of the amount and distribution of human body fat. *Int J Obesity* 1998;12:205-15.
2. Cuatrecasas G, Formiguera X, Foz M. Avances en la base genética de la obesidad. *Med Clin (Barc)* 1999; 112:664-8.
3. Maté del Tío M, Cano MD, Alvarez-Sala R, Bilbao-Garay J. Manejo de la obesidad en atención primaria. *Medifam* 2001; 11:4-10.
4. Maffei C. Aetiology of overweight and obesity in children and adolescents. *Eur J Pediatr* 2000; 159(Suppl 1):S35-44.
5. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-32.
6. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen S, Chait BT, Rabinowitz D et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269:543-6.
7. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Eng J Med* 1996; 334:292-5.
8. Rink TJ. In search of a satiety factor. *Nature* 1995; 372:406-7.
9. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377:530-2.
10. Holub M, Zwiauer K, Winkler C, Dillinger-Paller B, Schuller E, Schober E et al. Relation of plasma leptin to lipoproteins in overweight children undergoing weight reduction. *Int J Obesity* 1999; 23:60-6.
11. Byrnes SE, Baur LA, Birmingham M, Brock K, Steinbeck K. Leptin and total cholesterol are predictors of weight gain in prepubertal children. *Int J Obesity* 1999; 23:146-50.
12. Havel PJ, Townsend R, Chaump L, Teff K. High fat meals reduce 24-h circulating leptin concentrations in women. *Diabetes* 1999; 48:334-41.
13. Ainslie D, Proietto J, Fam B, Thorburn A. Short-term, high-fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:438-42.
14. Havel PJ. Role of adipose tissue in body weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Proc Nutr Soc* 2000; 59:359-71.
15. Álbala C, Pérez F, Santos JL, Yáñez M, Arroyo P, Díaz J et al. Relationship between leptin and insulin blood levels in obese and lean Chilean women. *Rev Med Chile* 2000; 128(2):154-61.
16. Dawson-Saunders B, Trapp RG. *Bioestadística Médica. El Manual Moderno*. México, DF. Traducido por QFB M del Rosario Carsolio Pacheco. 1993.
17. Hernández-Sampieri R, Fernández C, Baptista P. *Metodología de la investigación*. McGraw-Hill. 1ª ed. México, DF. 1996.
18. Méndez Castellano H, Méndez MC. *Sociedad y Estratificación: Método Graffar-Méndez Castellano*. FUNDACREDESA. Caracas-Venezuela. 1994.
19. Gibson RS. Food consumption of individuals. In: *Principles of Nutritional Assessment*. Oxford University Press. Chapter 3:37-51. New York. Oxford. 1990.
20. *Manual Food Processor II. "Nutrition & Diet Analysis System"*. ESHA Research. USA. 1988.
21. Instituto Nacional de Nutrición. *Tabla de Composición de Alimentos para uso práctico*. Publicación N° 47. Serie Cuadernos Azules. Caracas-Venezuela. 1991.
22. López M, Landaeta M. *Manual de Crecimiento y Desarrollo*. Ed. Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría (Capítulo de Crecimiento, Desarrollo, Nutrición y Adolescencia), FUNDACREDESA, SERONO. Caracas-Venezuela. 1991.
23. Méndez-Castellano H. *Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humanos de la República de Venezuela*. Tomo II. Ministerio de la Secretaría. FUNDACREDESA. Caracas-Venezuela 1996.
24. Biosource Europe SA (2000). Human leptin serum EASIA kit. Cat. N°: KAP2281.pp.7.
25. López-Almaraz R, González JP, Perera R. Leptina: conocimientos actuales e implicaciones clínicas. *BSCP Can Ped* 2000; 24(3):159-64.
26. García-Mayor R, Andrade M, Rios M, Lage M, Dieguez C, Casanueva F. Serum leptin levels in normal children: relationship to age, gender, body mass index, pituitary-gonadal hormones and pubertal stage. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; Vol 82(9):2849-55.
27. Kamoda T, Saitoh H, Nakahara S, Izumi I, Hirano T, Matsui A. Serum leptin and insulin concentrations in prepubertal lean, obese and insulin-dependent diabetes mellitus children. *Clin Endocrinol* 1998; 49:385-9.
28. Perrone L, Carbone M, Marotta A, Palombo G, Francese M, Cioffi M et al. Leptin level and structure in italian obese children. *Nutr Res* 1998; Vol 18(9):1493-8.
29. Ahmed ML, Ong K, Morrell D, Cox L, Drayer N, Perry L et al. Longitudinal study of leptin concentrations during puberty: sex differences and relationship to changes in body composition. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; Vol 84(3):899-905.
30. Hassink S, Sheslow D, Lancey E, Opentanova I, Considine RV, Caro JF. Serum leptin in children with obesity: relationship to gender and development. *Pediatr* 1996; Vol 96(2):201-3.
31. Falorni A, Bini V, Molinari D, Papi F, Celi F, Di Stefano G et al. Leptin serum levels in normal weight and obese children and adolescents: relationship with age, sex, pubertal development, body mass index and insulin. *Int J Obesity* 1997; 21:881-90.
32. Demerath EW, Towne B, Wisemandle W, Blangero J, Cameron-Chumlea W, Siervogel RM. Serum leptin concentration, body composition, and gonadal hormones during puberty. *Int J Obesity* 1999; 23:678-85.
33. Horlick MB, Rosenbaum M, Nicholson M, Levine L, Fedun B, Wang J et al. Effect of puberty on the relationship between circulating leptin and body composition. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2509-18.
34. Martí A, Martínez J A. Leptina y regulación del peso corporal. *Anales Sis San Navarra* 1999; 22:353-63. www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol122/n3/revis2.html.
35. Caro JF, Kolaczynski JW. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996; 348:159-61.

36. Gutin B, Ramsey L, Barbeau P, Cannady W, Ferguson M, Litaker M et al. Plasma leptin concentrations in obese children: changes during 4-mo periods with and without physical training. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:388-94.
37. Travers SH, Labarta JI, Gargosky SE. Insulin-like growth factor binding protein-1 levels are strongly associated with insulin sensitivity and obesity in early pubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1935-9.
38. Kamoda T, Saitoh H, Nakahara S. The phosphorylation status of insulin-like growth factor-binding protein-1 in prepubertal obese children. *Eur J Endocrinol* 1999; 141:585-9.
39. Takahashi M, Funahashi T, Shimomura I, Miyaoka K, Matsuzawa Y. Plasma leptin levels and body fat distribution. *Horm Metab Res* 1996; 28:751-2.
40. Ruhl C, Everhart JE. Leptin concentrations in the United States: relations with demographic and anthropometric measures. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:295-301.
41. Chu NF, Wang DJ, Shieh SM. Obesidad, leptina y presión arterial en niños de Taiwan: estudio sobre el corazón de los niños de Taipei. *AJH (ed esp)* 2001; 3:210-5.

Recibido: 13-10-2004

Aceptado: 11-03-2005

Creencias maternas, prácticas de alimentación y estado nutricional en niños Afro-Colombianos

Beatriz Eugenia Alvarado, Rosa Elizabeth Tabares, Helene Delisle, Maria-Victoria Zunzunegui

Grupo Antropacífico. Unidad de Epidemiología Clínica. Universidad del Cauca. Popayán, Colombia, Département de Nutrition. Université de Montréal. Montréal, Québec, Canadá. Département de Médecine Sociale et Préventive. Université de Montréal. Montréal, Québec, Canadá

RESUMEN. Este estudio describe las creencias y prácticas de la alimentación infantil, y su relación con el estado nutricional de niños de 6 a 18 meses. Se combinaron datos etnográficos y epidemiológicos. Se recolectó información de la dieta mediante un cuestionario de frecuencia de alimentos. Se realizaron 9 grupos focales, y 5 entrevistas a profundidad en madres de menores de 2 años. Nuestros datos muestran una prevalencia de desnutrición aguda, 2.6% (<-2DE peso-para-talla), y una prevalencia de 9.8% de desnutrición crónica (<-2DE talla-para-edad). Las prácticas se caracterizan por el inicio universal de la lactancia, un promedio de duración de 10 meses e introducción temprana de alimentos (promedio 3 meses). La práctica de la lactancia se considera una norma cultural. El destete se asocia a nuevos embarazos, escasez de la leche o a efectos negativos del amamantamiento en la salud de la madre. La introducción temprana de alimentos y el uso de biberón son valorados positivamente por las madres por sus efectos sobre el estado nutricional y la adaptación del niño a la dieta familiar. El inicio de la alimentación complementaria después de los 4 meses, la calidad del primer alimento introducido, y la diversidad de la dieta complementaria predicen mejor estado nutricional ($p < 0.05$). En conclusión, la falta de conocimiento básico nutricional y algunas creencias erradas llevan a que al menos 50% de las madres tengan prácticas de alimentación inadecuadas. Se sugiere concentrar nuevas intervenciones en las creencias que limitan las buenas prácticas

Palabras clave: Prácticas de alimentación, estado nutricional, lactantes, Afro-Colombianos.

SUMMARY. Maternal beliefs, feeding practices and nutritional status in Afro-Colombian infants. This study describes maternal practices and beliefs on children feeding and their relationship with nutritional status of Afro-Colombian children aged 6 to 18 months. We combined ethnographic and epidemiological data. We collected information using a food frequency questionnaire. Nine focus groups and 5 deep interviews to mothers of children less than 2 years of age were performed. Our data showed a prevalence of wasting of 2.6% (< -2 SD weight-for-length) and prevalence of stunting of 9.8% (< -2 SD height-for-age). These practices are characterized by a universal onset of breastfeeding, that lasted 10 months in average, and an early introduction of complementary food (mean: 3 months). Breastfeeding is a cultural norm. Weaning is related to new pregnancy, to low milk production and to negative effects of breast process on mothers' health. Early complementary feeding and bottle-feeding are highly valued due to their positive effect on nutritional status and adaptation of children to adult-type diets. The introduction of complementary food after 4 months, the quality of the first food introduced and the diversity of complementary food predicted better nutritional status ($p < 0.05$). We conclude that nutritional illiteracy and mothers' erroneous beliefs result in 50% of the mothers having inadequate feeding practices. We suggest focused interventions on those beliefs limiting good practices.

Key words: Feeding practices, nutritional status, infants, Afro-Colombian.

INTRODUCCION

La etnia afro-colombiana constituye el 18.1% del total de la población colombiana. El 12% (991.661 habitantes) habita en la Costa Pacífica, y posee una identidad cultural única que conserva cierta homogeneidad en toda esta región geográfica (1). Los datos de la Encuesta de Demografía y Salud de Colombia (EDS) del año 2000 (2) indican que la Costa Pacífica Colombiana presenta la prevalencia más baja de desnutrición crónica en preescolares en Colombia (9.8%, IC95%: 1.8-17.8%), con los promedios más altos de duración de la lactancia materna (14 meses) y de lactancia exclusiva (3 meses) (2). Estos datos indican que dichas prácticas de alimentación

podrían estar afectando de manera positiva el estado nutricional en menores de 2 años. Sin embargo, no se han publicado estudios que describan las normas culturales o creencias que influyen en las prácticas de alimentación de las comunidades afro-colombianas. Aun menos se conoce sobre las relaciones existentes entre tales prácticas con el estado nutricional. En este trabajo describiremos las creencias acerca de la lactancia, el destete y la alimentación complementaria, a partir de los análisis de entrevistas a madres de niños menores de 2 años en una comunidad negra de la Costa Pacífica Colombiana. Mediante encuestas estructuradas determinaremos la frecuencia de las prácticas alimentarias y el estado nutricional de los niños de 6 a 18 meses de edad. Una vez las relaciones

entre las practicas y el estado nutricional infantil sean demostradas, nuestros resultados servirán para el monitoreo del estado nutricional de estas comunidades y el desarrollo de intervenciones en salud publica tendientes a fortalecer o modificar las practicas de alimentación en la población menor de 2 años.

METODOS

Diseño

Se combinaron métodos cualitativos y cuantitativos. La información obtenida a partir de grupos focales y entrevistas en profundidad fue triangulada con los datos obtenidos en un cuestionario estructurado. El estudio fue aprobado por el Comité de Etica de la Universidad de Montreal, Canadá, y el Comité de Etica de la Organización Panamericana de la Salud.

Area de estudio

Se estima que para el pacífico colombiano el promedio de escolaridad es de 3.8 años en los hombres y de 4.5 años en las mujeres, con 51% de analfabetismo, y casi 30% de la población sin acceso a servicios sanitarios adecuados (2). La población afro-colombiana que reside en esta región constituye el legado de dos siglos de esclavitud. Provenientes del Africa, las poblaciones negras en Colombia se asentaron en las zonas del pacífico donde trabajaron en actividades predominantemente de explotación minera (3). Con la abolición de la esclavitud, la mayoría de la población se asentó principalmente sobre las laderas de los ríos perpetuando las actividades de producción del sistema esclavista: minería, pesca y agricultura. Actualmente, el contexto social, económico y cultural de las cabeceras urbanas de la costa pacífica combina los sistemas tradicionales con influencias culturales de la mayoría mestiza del interior del país. Nuestro estudio se realizo en la cabecera urbana del municipio costero de Guapi. El área del municipio cubre alrededor de 2885 km², se localiza a una altitud de 50 metros sobre el nivel del mar, y su clima se caracteriza por ser húmedo tropical con una temperatura promedio de 29°C. La población del municipio se calcula en 30.000 habitantes, 18.000 de ellos habitando en el casco urbano. La cabecera urbana de Guapi toma el nombre del río donde se encuentra. El acceso a Guapi solo es posible por mar o aire. La cabecera urbana cuenta con un hospital de nivel básico de atención (consulta, urgencias primarias y programas de prevención y promoción) y varias pequeñas clínicas privadas. Las concepciones mágicas de la enfermedad predominan en la cultura guapireña, y varios médicos tradicionales y curanderos participan en la atención de partos, prevención y manejo de enfermedades en los niños (4,5).

Recolección de datos

La información cuantitativa del estudio fue recogida entre marzo y octubre de 2002. Las mujeres que habitaban los 20

barrios de la cabecera urbana fueron censadas e invitadas a participar sí: 1) tenían niños en edades entre los 6 y 18 meses, y 2) si residían de manera permanente en el casco urbano. Ciento noventa y tres (193) mujeres dieron consentimiento informado, fueron entrevistadas en su domicilio entre julio y octubre, y tuvieron datos completos (89% del total de madres censadas). El cuestionario con 7 secciones fue probado antes del inicio del estudio. Se realizaron dos visitas a cada una de las madres; en la primera se recogía información sobre las características demográficas, condiciones de vida, soporte social, y salud materno-infantil. En la segunda visita, se interrogaba sobre las prácticas de alimentación y se realizaba la medición de la talla y el peso del niño. Las entrevistas fueron realizadas por mujeres de la región, escolarizadas y previamente entrenadas. Los datos para este trabajo proceden de la segunda visita.

Los datos cualitativos fueron recogidos a través de 9 grupos focales con madres de niños menores de 2 años de edad asistentes a programas comunitarios de salud. Los grupos estuvieron conformados, en promedio, por 7 madres con edades entre los 16 y los 35 años, pertenecientes a los 20 barrios que conforman el área urbana. Las entrevistas fueron realizadas por dos de los investigadores (BEA, ET) y grabadas en medio magnetofónico previa autorización verbal de las madres. Además, se realizaron entrevistas a profundidad con 5 mujeres de la población con edades entre los 20 y 40 años, seleccionadas por sus labores como parteras y conocedoras de la medicina tradicional. Para la realización de las entrevistas se utilizó una guía consistente con la reportada por Scrimshaw & Hurtado (6). Las guías contenían los siguientes temas: la alimentación del niño al nacer, la alimentación después del nacimiento, la cual a su vez se dividía en 5 subtemas: edad de inicio alimentos, comidas durante el amamantamiento, comidas del destete, diferencias en la alimentación entre niños y niñas y funciones de la comida; y finalmente los principios que guiaban el sistema de alimentación tradicional. En este artículo se hace referencia especialmente a las practicas después del nacimiento. Los datos fueron transcritos e interpretados por dos investigadores (BEA, ET) de manera independiente, siguiendo la guía temática.

Variables

Practicas de alimentación

Se determinó en todas las madres entrevistadas el patrón de alimentación durante los primeros 6 meses de vida del niño de acuerdo a: sí se realizo lactancia exclusiva o predominante, se introdujo leche artificial, alimentos semisólidos o sólidos o sí se suspendió la lactancia. Las definiciones de Piwoz et al fueron utilizadas (ver Tabla 1). Igualmente se interrogó sobre la edad de inicio de la alimentación complementaria (cualquier alimento o liquido diferente a la leche

materna o a leche de vaca en polvo reconstituida), el primer alimento introducido y el uso de biberón. La practica de lactancia actual se estableció por el reporte de frecuencia en las últimas 24 horas. La variable mostró una distribución asimétrica y fue categorizada para los análisis en: no-lacta, lacta menos de 10 veces al día (primero y segundo cuartil) y lacta más de 10 veces al día (tercero y cuarto cuartil). Adicionalmente, se midió la alimentación complementaria con un cuestionario de frecuencia de alimentos elaborado a partir de las tablas alimentarias de una población del pacífico colombiano (8). El cuestionario de frecuencia de alimentos indagaba sobre la frecuencia de consumo en la última semana (nunca, menos de 2 veces por semana, de 2 a 4 veces por semana, de 5 a 7 veces por semana) de 21 grupos de alimentos. Los grupos de alimentos fueron reagrupados en 6 grupos y un score de 6 puntos fue creado como sigue: 1) alimentos hechos de granos, cereales y tubérculos; 2) legumbres; 3) derivados de la leche; 4) carnes rojas, pollo, pescado, huevos; 5) verduras y frutas ricas en vitamina A (zanahoria, espinacas, mango, papaya, guayaba); y 6) otros vegetales y frutas (pepino, jugos de frutas). Los grupos de alimentos que los niños consumían más de dos veces por semana se les asignó un valor de (+1) y a los de menos de 2 veces por semana el valor de (+0). Este tipo de codificación ha sido utilizado en otros estudios para medir la diversidad de la dieta (9,10). El número de comidas ofrecidas al niño se codificó como: adecuada (dos veces al día en niños de 6 a 8 meses, tres veces al día en niños de 9 a 12 meses, y más de 4 veces al día en niños de 13 a 18 meses), inadecuada si no cumplía este criterio; y una categoría adicional para aquellos que no recibían ningún alimento (9).

Medición del estado nutricional

La talla del niño fue tomada en posición decúbito supino (11). Un tallimetro de madera con soporte en la cabeza y una base móvil que se frena con el contacto de los pies fue utilizada en todos los niños. La medición fue realizada por uno de los investigadores (BEA) y por dos auxiliares de enfermería previamente entrenadas. Cuatro medidas fueron tomadas en la mayoría de los niños, y se utilizó su promedio para el cálculo de los Z-score. El peso del niño se realizó con una balanza suspendida (Detecto, 25 kg/500gr). La misma balanza fue utilizada en todos los niños y calibrada antes cada toma. El niño fue pesado completamente desnudo en dos ocasiones (11). El promedio de las dos medidas se utilizó para los análisis. La talla y el peso del niño fueron transformados a Z-score según la población de referencia del año 1978 de la Organización Mundial de la Salud (12). Se calcularon los valores Z de talla-para-edad (TPE) y de peso-para-talla (PPT). Se considera desnutrición crónica <-2 Desviaciones Estándar (DE) en el indicador de TPE y como desnutrición aguda <-2 DE en el

indicador de PPT. Los datos de indicadores nutricionales presentaron una distribución normal y fueron tratados de manera continua en nuestros análisis. Modelos de ANCOVA fueron realizados para evaluar las diferencias en el estado nutricional en cada una de las variables que definen las practicas, controlando por la edad del niño, la escolaridad de la madre (años de estudios completados), un índice de posesiones materiales (posesión de nevera, estufa, electricidad, radio y televisor) y las condiciones sanitarias (tipo de sanitario).

TABLA 1
Prácticas de alimentación por sexo. Lactancia, alimentación complementaria y destete

Practicas de alimentación	6 a 11 meses n=108, %	12 a 18 meses n=85,%	Total n=193,%
Alimentación primeros 6 meses*			
Lactancia exclusiva/predominante	3,7	3,5	3,6
Lactancia parcial			
Leche en polvo reconstituida	5,6	4,7	5,2
Sólidos sin leche reconstituida	15,7	17,6	16,6
Sólidos más leche reconstituida	70,4	67,1	68,9
No lactancia/suspendida	4,6	7,1	5,7
Inicio de AC antes 4 meses	54,1	48,8	51,8
Intensidad de la lactancia, frecuencia ultimas 24 horas *			
No	9,3	44,7	24,9
Menos de 10 veces	36,1	20,0	29,0
Más de 10 veces	54,6	35,3	46,1
Puntaje de diversidad de la dieta*			
0	4,6	0,0	2,6
1	5,6	1,2	3,6
2	11,1	8,2	9,8
3	10,2	16,5	13,0
4	29,6	18,8	24,9
5	21,3	34,1	26,9
6	17,6	21,1	19,2
Uso de biberón	74,3	66,7	71,0
Frecuencia de comidas *			
No	4,6	2,4	7,7
Menos de lo adecuado	14,8	30,6	19,2
Adecuado	80,6	66,1	73,1

* $P < 0.05$ para diferencias en las practicas por grupo de edad

a. Lactancia exclusiva: si durante los primeros 6 meses de vida el niño no recibió nada excepto la leche materna. Lactancia predominante si el niño en los primeros 6 meses de vida recibió leche materna más agua, jugos de frutas u otras bebidas no lácteas. Alimentación complementaria parcial a niños que recibieron además de la leche materna algún alimento sólido, leche en polvo reconstituida u otro tipo de leches o semi-sólidos. No Lactancia si no recibieron nunca la lactancia materna y Suspensión de LM si las madres suspendieron la lactancia en los primeros 6 meses de vida (con o sin otros líquidos o sólidos).

RESULTADOS

Creencias y prácticas relacionadas con la alimentación del niño

Lactancia: La práctica de la lactancia materna fue iniciada en todas las madres entrevistadas en los grupos focales. Las razones para su inicio no son muy claras, algunas de las madres reconocen que la leche materna ayuda al desarrollo temprano del niño (gatear o caminar) o es un buen alimento en caso de enfermedad como la diarrea. Otras madres relacionan el contenido de la leche con el estado general del niño, por ejemplo, la leche “balsuda” enflaquece al niño, mientras que la leche “pesada” los engorda y les demora el aprendizaje de la marcha. Muy pocas reconocen sus efectos en el crecimiento. El ideal de la cultura de Guapi es que la lactancia materna debe durar de 18 meses a 24 meses. Las parteras comentan que existía la creencia que las niñas deberían ser alimentadas por menos tiempo que los niños: “las niñas deben alimentarse hasta los 18 meses, mientras que los niños hasta los dos años”. Según sus creencias, las niñas alimentadas con seno por mucho tiempo se volvían de “naturaleza caliente” en la adultez. Las madres relatan que el destete más temprano en las niñas era recomendado por las abuelas, pero que ellas no ponen en práctica esta creencia con sus hijos.

Alimentación complementaria: Para la gran mayoría de las madres, la alimentación complementaria debe iniciarse entre los 3 y 4 meses de edad. Los alimentos preferidos para el inicio son: sopas de pescado, el frijol, los jugos no ácidos como el mango, y frutas como el chontaduro, la papaya, y la guayaba. En menor frecuencia las madres refieren como primer alimento las coladas de plátano, las papillas (esto es muy reciente), el huevo, las masitas (harina de trigo). Aunque no es la norma, algunas madres introducen alimentos sólidos en la primera semana de vida del niño. La alimentación complementaria inicia de manera espontánea en el niño cuando el empieza a “velar” por la comida de los otros miembros de la familia quienes introducen pequeñas cantidades de alimentos con los dedos: “Algunos empiezan a comer temprano, ellos miran comer y se saborean”. Otras madres deciden iniciar los alimentos semi-sólidos y sólidos de manera temprana para que los niños se vayan adaptando a la comida y puedan posteriormente ser alimentados por cualquier miembro de la familia, facilitando en ellas el regreso al trabajo.

El destete: La decisión del destete depende de las condiciones de cada bebe. Por ejemplo: la edad a la que se para o gatea, o la edad a la que se acostumbra a la comida. El destete natural en las madres Guapireñas ocurre cuando los niños “ya coman”, lo que para ellas significa: comer tres o cuatro veces al día, comer todo tipo de alimentos y recibir comida de otros

miembros de la familia. En general se acepta que a los 10 meses muchos de los niños ya comen solos: “Uno ve que empiezan a comer de todo....se lo comen todo, ya están grandes,” “Toman sopita, toma compota, toma jugo.” El destete obligatorio ocurre principalmente en tres condiciones: un nuevo embarazo, escasez de leche o efectos negativos del amantamiento sobre la salud de la madre. En el primer caso, se cree que la leche materna de la mujer en embarazo es “mala” para el niño ya que se asocia con episodios de diarrea y pérdida de peso. Las madres notan que los niños se ponen flaquitos y en muchas ocasiones esa es la prueba que confirma su nuevo embarazo. La escasez de leche es referida especialmente en las madres que lactan por menos de 6 meses. Estas madres refieren que les baja poca leche o que su leche es poco alimenticia: “Yo tengo un problema, hasta los tres meses me baja leche...tengo que meter el tetero aunque no quiera”. “Mi leche es balsuda, no se llenan quedan con hambre”. Finalmente el destete obligatorio también ocurre cuando la madre refiere pérdida excesiva de peso o dolores de espalda: “...toma mucho seno me acaba y me duele la espalda”; “No le puedo dar más por que me duele la espalda. El destete se puede realizar de dos maneras. Algunas madres destetan al niño de manera brusca apretándose el pezón por la noche para dormir con el fin que el niño no succione, o colocándose hierbas en el pezón para que el niño lo aborrezca. La mayoría hacen el destete de manera gradual. Por ejemplo, introduciendo comida de sal en los horarios que le daban pecho, alimentando con leche materna a los niños después del almuerzo, o suspendiendo el seno en las horas del día: “Los niños ya no miran el seno porque están llenos, “Se prepara comida, se les da tetero, cuando ya comen no quieren más el seno”. Las parteras y curanderas comentan que las abuelas tenían la creencia que la combinación de la comida de sal y la leche materna enferma a los niños “los pone flaquitos”, por ello decidían destetar cuando iniciaban la comida de sal.

Uso de biberón: El tetero es altamente valorado dentro de la cultura guapireña. Generalmente se introduce en el primer mes de vida para llenar al niño que no queda completamente satisfecho con la leche materna. En el tetero se introduce inicialmente leches de vaca en polvo reconstituidas y posteriormente se acompaña de frutas o coladas. La imagen cultural del niño sano, es la del niño gordo, y esto para las madres se logra introduciendo el tetero de manera temprana. El tetero facilita el destete más temprano y es una ayuda para las madres que trabajan: “Con el tetero se llenan”, “Empiezo a trabajar y no puedo estar pendiente de ellos, lo dejo con el tetero y después ya no cogen el seno....el destete de los niños que reciben tetero es más rápido, se adaptan a no tener el seno y cuando empiezan a dejar el seno se les da más comida”.

Descripción cuantitativa de la dieta

Los datos de la encuesta de prácticas de alimentación en las 193 madres entrevistadas se relaciona con los datos cualitativos: inicio universal de la lactancia al nacimiento, predominio en los primeros 6 meses de vida de la lactancia parcial con alimentos sólidos y semi-sólidos (85%) y una edad promedio de introducción de la alimentación complementaria a los 3 meses. El primer alimento introducido por las madres es la sopa (72.8%), siguiéndole en orden de frecuencia las bebidas no-lácteas (8.9%) y los alimentos sólidos (7.9%). Las coladas o cereales fortificados como primer alimento fueron reportados por el 5% de las madres. El 74% los niños recibían leche materna en el momento de la entrevista (media de duración: 10 meses; DE: 3.71), con una intensidad promedio en las últimas 24 horas de 10 veces día (DE:3.42). El promedio en el score de diversidad de la dieta fue de 4.1 (DE:1.51), 16% consumían 2 o menos grupos de alimentos, 37.9% entre 3 y 4 grupos y 46.1% entre 5 y 6 grupos de alimentos. El número de comidas ofrecidas para el total de la población, incluyendo la ofrecida en el tetero, tiene un rango de 0 a 13, con un promedio de 4.7 comidas diarias. El uso del tetero es frecuente entre las mujeres de Guapi, 71%, y es una práctica iniciada a temprana edad, 34% en el primer mes, con una edad promedio de inicio a los 3 meses.

Las características de la alimentación en los primeros 6 meses de vida no son significativamente diferentes entre los menores de 12 y los de 12 meses y más (Tabla 1); mientras que en los mayores de 12 meses se presenta disminución en la intensidad de la lactancia materna, aumento en la diversidad de la dieta y disminución en el número de comidas ofrecidas (Tabla 1, $p < 0.05$). Se encontraron algunas diferencias entre niños y niñas. Por ejemplo, los niños son lactados por más tiempo que las niñas, quienes son frecuentemente destetadas después de los 12 meses (55% versus 37%; $p = 0.11$). Las niñas de 6 a 11 meses de edad reciben dieta más diversa que los niños ($p = 0.02$), pero menos diversa que ellos cuando tienen 12 a 18 meses ($p = 0.47$). No se encontraron diferencias entre niños y niñas en los patrones de alimentación en los primeros 6 meses de vida ($p = 0.56$), ni en el uso de biberón ($p = 0.24$), ni en la frecuencia de comidas ($p = 0.30$).

Relación entre dieta y estado nutricional

Los promedios de los índices nutricionales para nuestra población de estudio son inferiores a los promedios de la población de referencia (Tabla 2). Los niños presentan menores promedios de talla-para-edad que las niñas ($p = 0.02$), mientras que no se encuentran diferencias por genero en el indicador de peso-para-talla ($p > 0.20$). El estado nutricional de los niños del estudio se deteriora significativamente después de los 12 meses, siendo mayor la proporción de desnutrición crónica en los niños (25%) que en las niñas (17%). La Tabla 3

muestra la distribución de promedios del estado nutricional para cada una de las prácticas estudiadas. Los promedios más bajos en los dos indicadores se encontraron en los niños que no habían iniciado la lactancia materna o la habían suspendido antes de los 6 meses, comparados aquellos lactados parcialmente con alimentos sólidos ($p = 0.11$). Mejores promedios en los dos indicadores se observaron entre los que iniciaron la alimentación complementaria después de los 4 meses. Una correlación positiva entre el score de la dieta con el indicador de talla-para-edad fue encontrada ($r = 0.15$; $p < 0.05$) una vez controlada la edad y la escolaridad de la madre. Mayor porcentaje de desnutrición crónica se observo entre los que consumían una dieta de baja diversidad ($p = 0.12$), aunque el número de casos de desnutrición limita las asociaciones para otras variables. Los análisis ajustados por las condiciones sanitarias y la posesión de sanitario muestran los mismos resultados. En los niños lactados parcialmente y no-lactados en los primeros 6 meses de vida (Tabla 4), la introducción de coladas fortificadas se asocia con mejor estado nutricional, mientras que una asociación contraria se presenta con la introducción de leche de vaca. La introducción de sólidos, coladas no fortificadas y el uso de biberón en los primeros 6 meses no se relacionan con el estado nutricional de los niños de 6 a 18 (Tabla 4).

TABLA 2
Indicadores del estado nutricional por sexo

Estado nutricional	Niñas			Niños			Total
	6-11	12-18	Total	6-11	12-18	Total	
Talla para edad							
Promedio	-0,31	-0,69	-0,46	-0,58	-1,09	-0,80	-0,65
Desviación estándar	0,91	1,04	0,97	0,95	1,13	1,06	1,03
Prevalencia (< -2 DE), %	9,8	16,7	6,9	6,9	25,0	12,3	9,8
Peso para talla							
Promedio	-0,07	-0,49	-0,16	-0,03	-0,69	-0,32	-0,25
Desviación estándar	1,03	0,96	1,04	0,95	0,98	1,02	1,02
Prevalencia (< -2 DE), %	0,0	5,6	2,3	1,7	4,2	2,8	2,6

TABLA 3
Prácticas de alimentación y estado nutricional en niños de 6 a 18 meses

Prácticas de alimentación	Z score Talla-para-edad ^a			Z score Peso-para-talla ^a		
	Me	EE	% ^b	Me	EE	% ^b
Alimentación primeros 6 meses						
Lactancia exclusiva/predominante	-0,64	0,38	28,6	0,14	0,37	0,0*
Lactancia parcial más						
Leche de fórmula o artificial	-0,65	0,32	10,0	-0,46	0,31	0,0
Sólidos sin leche de fórmula o artificial	-0,62	0,18	6,3	-0,44	0,18	12,5
Sólidos más leche fórmula o artificial	-0,61	0,08	9,0	-0,20	0,08	0,8
No lactancia/suspendida	-1,18	0,29	18,2	-0,42	0,29	0,0
Inicio de alimentación complementaria						
Antes de 4 meses	-0,78**	0,10	11,0	-0,39*	0,10	2,0
Entre los 4 y 5 meses	-0,51	0,11	8,6	-0,10	0,10	3,2
AC entre 6-18 meses						
Uso de tetero						
Si	-0,62	0,09	8,0	-0,31	0,08	2,9
Nunca	-0,71	0,14	14,3	-0,23	0,13	1,8
Intensidad de Lactancia						
No lacta actualmente	-0,67	0,16	14,6	-0,25	0,15	6,3
Menos de 10 veces	-0,71	0,14	7,1	-0,36	0,13	0,0
Más de 10 veces	-0,63	0,11	9,0	-0,19	0,11	2,2
Diversidad de la dieta^c						
Primer tercil	-0,75	0,14	14,3	-0,23	0,14	3,6
Segundo tercil	-0,61	0,11	9,6	-0,29	0,11	3,6
Tercer tercil	-0,55	0,14	5,6	-0,18	0,14	0,0
Frecuencia de comidas						
No ofrece	-0,66	0,38	14,3	-0,03	0,44	0,0
Menos de lo adecuado	-0,56	0,16	9,5	-0,37	0,18	4,8
Adecuado	-0,67	0,08	4,4	-0,23	0,10	2,1

* p < 0,05; ** p < 0,10 - > 0,05. a. Todos los datos ajustados por edad y escolaridad de la madre. b. Proporción < -2DE. c. Los terciles fueron calculados por grupos de edad: 6 a 8 meses, 9 a 11 meses y 12 a 18 meses.

TABLA 4
Prácticas de alimentación y estado nutricional en niños parcialmente lactados, los que suspendieron antes de 6 meses y los que no iniciaron lactancia materna

Prácticas de alimentación	Z score de Talla-para-edad ^a			Z score de Peso-para-talla ^a		
	Media	EE	% ^b	Media	EE	% ^b
Primeros 6 meses						
Cereales fortificados						
No	-0,72*	0,08	10,1	-0,32**	0,08	3,4
Si	-0,24	0,19	3,8	-0,04	0,19	0,0
Leche de vaca (no tratada)						
No	-0,59*	0,08	7,7**	-0,22**	0,08	1,9*
Si	-1,04	0,22	19,0	-0,62	0,21	9,5
Alimentos sólidos						
No	-0,83	0,18	8,8	-0,22	0,08	2,8
Si	-0,59	0,09	9,2	-0,43	0,17	2,9
Coladas no fortificadas						
No	-0,75	0,10	6,3	-0,38**	0,10	2,5
Si	-0,54	0,11	11,3	-0,14	0,11	3,1
Sopas						
No	-0,85	0,38	14,3	-0,37	0,23	0,0
Si	-0,63	0,08	8,9	-0,26	0,07	3,0

* p < 0,05; ** p < 0,10 - > 0,05. a. Todos los datos ajustados por edad y escolaridad de la madre. b. Proporción < -2DE.

DISCUSION

Hallazgos principales

La mayoría de las recomendaciones en alimentación para la población infantil han sido el resultado de estudios epidemiológicos que han mostrado los efectos positivos de algunas prácticas de alimentación en la salud y crecimiento infantil (13-15). Nuestro estudio soporta el efecto positivo sobre el estado nutricional de la introducción tardía de la alimentación complementaria (16,17), de la introducción de alimentos de buena calidad (18,19) y del consumo de una dieta alta en diversidad (20-22). Aunque las diferencias en el estado nutricional entre los niños lactados de manera exclusiva o entre aquellos que continuaron la lactancia después de los 6 meses no fueron significantes, análisis posteriores a este documento muestran efectos a largo término de la lactancia exclusiva sobre el indicador de talla para edad y un efecto positivo en la ganancia en talla (23). Las condiciones sociales precarias de las poblaciones del pacífico colombiano, representadas en nuestra población de estudio, podrían explicar el exceso de 7.3% de desnutrición crónica; mientras que la prevalencia de desnutrición aguda (2.6%) parece explicarse por la frecuencia de enfermedades infecciosas (especialmente parasitosis intestinales) que empiezan en el periodo de destete, y que explicarían la proporción de desnutrición aguda mayor en el grupo de 12 a 18 meses (24).

El principal aporte de este estudio se relaciona con el papel que juega la cultura y las condiciones sociales en las razones para alimentar los niños con seno, destetarlo o iniciar la alimentación complementaria, como otros autores lo han sugerido (25,26). Nuestros datos muestran que la mayoría de los comportamientos acerca de la alimentación del niño se establecen como normas culturales o costumbre arraigadas en las mujeres de esta región; mientras otras prácticas están ligadas a las condiciones sociales de las mujeres en Guapi.

Por ejemplo, la lactancia materna es una norma cultural en las madres del pacífico, es decir, que a pesar de no tener un conocimiento claro de sus beneficios, la madre tiene una valoración positiva de ella. En esta población se encuentra una alta frecuencia de inicio después del nacimiento y una mayor duración de la lactancia, en relación con los datos que se tienen de zonas urbanas del interior del país (27). El pensamiento africano ancestral y las ideas pronatalistas del siglo XVIII son algunos elementos que pueden estar influenciando esta práctica. Estudios en países africanos muestran promedios de lactancia materna similares al nuestro con introducción temprana de la alimentación complementaria (28). Por otra parte, los propietarios de grandes haciendas con mano de obra esclava negra provenientes de África promovieron entre sus esclavas la lactancia materna para disminuir la mortalidad infantil en los primeros meses de vida (29). Al mismo tiempo las esclavas negras prolongaron la lactancia materna

hasta los dos años con el fin de aumentar el periodo entre el nacimiento de los hijos (29). Igualmente, las diferencias en la alimentación entre niños y niñas parece ser una norma cultura, no explicita (en los grupos focales las madres la niegan) pero practicada (la encuesta lo muestra). En nuestro caso, estas prácticas producen en la cultura guapireña dos condiciones, una al parecer positiva como es una dieta más diversa a más temprana edad en las niñas prediciendo mejores promedios en el indicador de talla-para-edad que en los niños; y otra negativa, que corresponde al destete a más temprana edad en ellas. Estas diferencias han sido reportadas en otros países africanos como Camerún sin diferencias significativas en la proporción de desnutrición (28). Sin embargo, las consecuencias de un destete temprano en ellas a temprana edad pueden tener consecuencias de otro tipo como aumento de la mortalidad o aumento del número de enfermedades infecciosas como se ha reportado para otras poblaciones pobres (15,30).

Por el contrario, el alto inicio temprano de la alimentación complementaria y la baja proporción de lactancia exclusiva de alimentación parecen emerger como respuesta a las condiciones sociales imperantes, repercutiendo de manera negativa en el estado nutricional infantil. Con el predominio de las uniones maritales de hecho o el madre-solterismo, muchas de las mujeres de la zona presentan inestabilidad económica, inseguridad alimentaria y bajo apoyo social (31). La necesidad de establecer una nueva relación que le provea de sustento económico obliga a muchas mujeres a iniciar de manera temprana la alimentación complementaria a fin de facilitar el destete y la búsqueda de un nuevo embarazo. Estudios epidemiológicos han sostenido las relaciones entre las prácticas de alimentación, el status marital y el soporte social de la madre (32,33), con mayor lactancia exclusiva, duración del amamantamiento entre las madres en uniones estables y recibiendo apoyo social positivo. Igualmente el trabajo de la mujer se presenta como una condición determinante en las prácticas en los primeros 6 meses, con mayor uso de tetero y más temprano inicio de la alimentación complementaria entre las madres que relatan trabajar. Estos hallazgos se apoyan en otros estudios en poblaciones latinoamericanas en donde la lactancia exclusiva se ve disminuida por el trabajo de la mujer fuera de casa (34).

Colombia es uno de los países de Latinoamérica con mayor proporción de utilización del biberón los primeros dos años de vida (18). El uso de tetero es una práctica en esta población que se apoya en los ideales del niño gordo, muchas veces favorecido por los medios de comunicación. Para las madres, en los primeros meses de vida el tetero mejora el estado nutricional de los niños y después de los 6 meses de edad facilita el destete. Aunque el uso de biberón se acompaña de mayor frecuencia de consumo de leche (generalmente no adaptada) o uso de coladas (fortificadas/caseras), este no representa ninguna ventaja nutricional como lo piensan las ma-

dres. Al contrario, el efecto positivo sobre el alto consumo de leche se vería disminuido por un aumento en la frecuencia de enfermedades infecciosas, que afectan al niño en el destete, principalmente por la utilización de agua contaminada en su preparación (35).

Aspectos metodológicos

Guapi representa fielmente el escenario de varias comunidades del pacífico colombiano: procesos lentos de urbanización, alta influencia de la cultura del interior, con conservación de muchas de sus costumbres ancestrales, lo cual nos permite sugerir la posible generalización de nuestros datos etnográficos para otras poblaciones negras del pacífico. Los datos cuantitativos fueron recolectados de manera transversal con una alta tasa de participación (89%). Los datos sobre las prácticas de la dieta recolectados de manera cualitativa concuerdan con los datos de la encuesta. Para esta última, la mayor parte de las variables fueron categorizadas siguiendo recomendaciones recientes (9). La variable de diversidad de la dieta fue construida de manera similar a la usada en otros estudios en poblaciones pobres y en las Encuestas de demografía y Salud latinoamericanas. A diferencia de esta última en este estudio no se incluyó, la frecuencia de consumo de comidas con grasa o mantequilla, que hubiera podido constituir el ítem 7 del score. Sin embargo no pensamos que esto hubiera podido afectar los resultados ya que en estas comunidades la preparación del pescado, tubérculos y algunas otras carnes se hace con coco y manteca (36).

CONCLUSIONES

En resumen, nuestros datos sugieren que al menos el 50% de las madres tienen prácticas no acordes con las recomendaciones mundiales como son: la lactancia exclusiva hasta por lo menos los 4 a 6 meses de edad, continuación de la lactancia hasta los dos años e introducción del biberón. Creencias como los efectos negativos sobre el niño de la combinación de alimentos sólidos y leche materna o de la leche materna ante un nuevo embarazo, o los beneficios del biberón en el estado nutricional deben trabajarse en estas poblaciones con intervenciones educativas como la propuesta por la Teoría de la Deviance Positiva (37). Otras creencias pueden fortalecerse: el uso de la lactancia materna frente a episodios de diarrea. Muchas preguntas surgen en la realización de nuestro trabajo: los estilos de alimentación (controlador, estimulante, laissez-faire), el cuidado psico-social durante la alimentación (directa, asistida, estímulo), y los cuidados de higiene (lavado de manos, uso de agua hervida, almacenamiento de alimentos). Con diseños transversales o usando la metodología de deviance positiva (37) se sugiere continuar el estudio de estas prácticas en estas poblaciones. Igualmente, análisis posteriores de los datos de estas poblaciones nos ayudaran a estable-

cer las hipótesis planteadas en este estudio acerca de los efectos de las condiciones sociales sobre las prácticas de alimentación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen de manera especial a las madres y niños de Guapi que participaron en este estudio. Además a las promotoras y auxiliares que nos colaboraron en la recolección de los datos. Al Dr Julio Cesar Reina por el entrenamiento en mediciones antropométricas y al Dr Jairo Osorno por sus valiosos aportes al protocolo. Este proyecto ha sido financiado por la Organización Panamericana de la Salud- Programa de subvenciones de Tesis de Salud Pública. Referencia: HDP/HDR/RG-T/COL/3146 y por Colciencias, Convocatoria 2001, Plan Nacional de Ciencia y Tecnología de la Salud (código del proyecto: 1103-04-11985).

REFERENCIAS

- Urrea F, Ramirez HF, Viafara C. Perfil sociodemográfico de la población afro-colombiana en contextos urbanos-regionales del país a comienzos del siglo XXI. In: Cauca Ud, ed. I Congreso Nacional sobre la AfroColombianidad. Popayán, Colombia, 2003.
- Profamilia. Encuesta Nacional de Demografía y Salud. In: Profamilia, ed. Santa Fe de Bogota: Profamilia, 2000.
- Arocha J. La llegada y los trucos de Ananse. In: Arocha J, ed. Los ombligados de Ananse. Santa Fe de Bogota: Universidad Nacional de Colombia, 1999.
- Burbano R. La construcción de la enfermedad en Guapi. *Antropacifico* 2003;1:149-160.
- Bedoya LM. «Concepciones de las parteras negras sobre el embarazo, parto y puerperio, y cuidados del recién nacido en el casco urbano de Guapi. *Antropología*. Popayán, Colombia: Universidad del Cauca, 2001.
- Scrimshaw SCM, Hurtado E. Rapid assessment procedure for nutrition and primary health care. *Anthropological approaches to improving program effectiveness*. Tokyo: United Nations University, 1987.
- Piwoz EG, Creed de Kanashiro H, Lopez de Romana G, Black RE, Brown KH. Potential for misclassification of infants' usual feeding practices using 24-hour dietary assessment methods. *J Nutr* 1995;125:57-65.
- Minota Y. Validación de un cuestionario semi-cuantitativo de frecuencia de alimentos en Buenaventura. Costa Pacifica Colombiana. Escuela de Salud Pública. Cali: Universidad del Valle, 2000.
- Ruel M, Arimond M. *Measuring Childcare practices*. Washington, DC: International Food Policy Research Institute, 2003.
- Arimond M, Ruel M. Dietary diversity is associated with child nutritional status: Evidence from 11 Demographic and Health Surveys. *J Nutr* 2004;134:2579-2585.
- Lohman T, Roche A, Fajardo L. *Anthropometric Standardization Reference Manual*. Champaign, IL: Human Kinetics, 1990.
- CDC. EPI-INFO: Software for Public Health: Center for Disease and Prevention, 2000.
- Dewey KG, Brown KH. Update on technical issues concerning complementary feeding of young children in developing countries and implications for intervention programs. *Food Nutr Bull* 2003;24:5-28.
- Kramer MS, Kakuma R. Optimal duration of exclusive breastfeeding. *Cochrane Database Syst Rev* 2002:CD003517.
- Leon-Cavas N, Lutter C, Ross J, Martin L. Quantifying the benefits of breastfeeding: A summary of the evidence. Washington, DC: Panamerican Health Organization, 2002.
- Arifeen S, Black RE, Antelman G, Baqui A, Caulfield L, Becker S. Exclusive breastfeeding reduces acute respiratory infection and diarrhea deaths among infants in Dhaka slums. *Pediatrics* 2001;108:E67.
- Kramer MS, Guo T, Platt RW, et al. Infant growth and health outcomes associated with 3 compared with 6 mo of exclusive breastfeeding. *Am J Clin Nutr* 2003;78:291-5.
- Ruel MT, Menon P. Child feeding practices are associated with child nutritional status in Latin America: innovative uses of the demographic and health surveys. *J Nutr* 2002;132:1180-7.
- Ruel M, Levin CE, Armar-Klemesu M, Morris SS. Good care practices can mitigate the negative effect of poverty and low maternal schooling on children's nutritional status: Evidence from Accra. *World Development* 1999;27:1993-2009.
- Onyango A, Koski KG, Tucker KL. Food diversity versus breastfeeding choice in determining anthropometric status in rural Kenyan toddlers. *Int J Epidemiol* 1998;27:484-9.
- Ruel MT. Operationalizing dietary diversity: a review of measurement issues and research priorities. *J Nutr* 2003;133:3911S-3926S.
- Ruel MT. Is dietary diversity an indicator of food security or dietary quality? A review of measurement issues and research needs. *Food Nutr Bull* 2003;24:231-2.
- Alvarado BE. *Épidémiologie de la croissance infantile : Étude de déterminants sociaux et biologiques auprès d'enfants âgés de 6 à 18 mois en Colombie*. *Medicine Sociale et Preventive*. Montreal, QC: Université de Montreal, 2005.
- Alvarado BE, Vasquez LR. Determinantes sociales, prevalencia y consecuencias del parasitismo intestinal en población lactante en Guapi. *Biomedica* 2003;23:84.
- Moffat T. A biocultural investigation of the weaning's dilemma in Kathmandu, Nepal: do universal recommendations for weaning practices make sense? *J Biosci* 2001;33:321-38.
- Sibeko L, Dhansay M, Charlton KE, Johns T, Gray-Donald K. *J Hum Lact*. 21 2005;1:31-38.
- Carrasquilla G, Osorno J, de Paredes B, Soto A, Vasquez C. *Lactancia Materna en zonas marginales de grandes ciudades colombianas. Resultados de la encuesta de conocimientos, actitudes y practicas*. Cali: Fundación para la Educación Superior, 1992.
- Kuate Defo B. *Nutrition et Sante des enfants au Cameroun*. Montreal, Canada: Prince-Patterson LTD, 2001.
- Klein-Herbert S. *La esclavitud africana en America Latina y el Caribe*. Madrid: Alianza Editorial, 1986.

30. Molbak K, Gottschau A, Aaby P, Hojlyng N, Ingholt L, da Silva AP. Prolonged breast feeding, diarrhoeal disease, and survival of children in Guinea-Bissau. *BMJ* 1994;308:1403-6.
31. Alvarado BE, Zunzunegui MV, Delisle H. Validación de escalas de seguridad alimentaria y de apoyo social en una población Afro-Colombiana: Aplicación en el estudio de prevalencia del estado nutricional en niños de 6 a 18 meses. *Cad Saude Publica* 2005; in press.
32. Zeitlin M. *Child Care and nutrition: The finding from positive deviance research*. Ithaca: Cornell International Nutrition, 1996.
33. Zeitlin M, Ghassemi H, Mansour M. Positive deviance in child nutrition: with emphasis on psychological and behavioral aspects and implications for development: United Nation University Press, 1990.
34. Dearden K, Altaye M, De Maza I, et al. Determinants of optimal breast-feeding in peri-urban Guatemala City, Guatemala. *Rev Panam Salud Publica* 2002;12:185-92.
35. Mortajemi Y, Kaferstein F, Moy G, Quevedo F. Contaminated complementary food: a major risk for diarrhoea and associated malnutrition. *Bull WHO* 1993;71:79-92.
36. Tabares E. Guapi: Identidad y aspectos etnohistoricos del consumo alimenticio. *Antropacifico* 2003;1:48-64.
37. Lapping K, Marsh DR, Rosenbaum J, et al. The positive deviance approach: challenges and opportunities for the future. *Food Nutr Bull* 2002;23:130-7.

Recibido: 31-05-2004

Aceptado: 17-03-2005

Consumo de leguminosas en el departamento de Santander. Colombia. 2000-2003

Gloria E. Prada, Adriana Soto, Oscar F. Herrán

Universidad Industrial de Santander. Escuela de Nutrición y Dietética. Observatorio Epidemiológico de Enfermedades Cardiovasculares. Centro de Investigaciones Epidemiológicas. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

RESUMEN. Con el objetivo de describir la participación y cantidad (g) en el consumo de leguminosas en dos zonas geográficas (metropolitana y rural), se reanalizaron tres encuestas en las que 571 sujetos; 148 escolares y 443 madres, habían descrito su consumo de alimentos mediante un recordatorio de 24 horas. Para lo anterior fueron calculadas medidas descriptivas e intervalos de confianza con una confiabilidad del 95% (IC 95%), la comparación de la ingesta entre grupos se realizó mediante pruebas t de student y análisis de varianza. El 36.4% de los sujetos consumen leguminosas secas; se observaron diferencias en el consumo de leguminosas por zona geográfica; leguminosas secas ($p=0.03$) y verdes ($p=0.04$). Del grupo de leguminosas, las secas representan el mejor recurso para cubrir las necesidades de energía y nutrientes; el mayor aporte a la recomendación diaria es para ácido fólico, magnesio, tiamina, proteína, fósforo, hierro y cinc. La contribución de las leguminosas a las recomendaciones de nutrientes fue diferente por zona geográfica ($p<0.01$). El bajo costo y el aporte nutricional de las leguminosas secas, especialmente a las recomendaciones diarias de ácido fólico y proteínas son aspectos a considerar en su promoción.

Palabras clave: Leguminosas, consumo, hábitos alimentarios, dieta, Colombia.

SUMMARY. Intake of leguminous in the county of Santander. Colombia. 2000-2003. With the objective of describing the participation and quantity (g) in the intake of leguminous in two geographical areas (metropolitan and rural), three surveys were re-analyzed, in them 571 subjects (148 scholars and 443 mothers) described their intake by the 24-hour dietary recall method. For the above mentioned, descriptive measures and confidence intervals were calculated with a reliability of 95% (IC 95%), the comparison of the intake among groups was carried out by t test and analysis of variance. 36.4% of the subjects consumes leguminous dry; differences were observed in the consumption of leguminous for geographical area; leguminous dry ($p=0.03$) and green ($p=0.04$). Of the group of leguminous, the dry ones represent the best resource to cover the energy necessities and nutritious; the biggest contribution to the daily recommendation is for folic acid, magnesium, thiamine, protein, phosphorus, iron and zinc. The contribution of the leguminous ones to the recommendations of nutrients was different for geographical area ($p<0.01$). The low cost and the nutritional contribution of the leguminous dry, especially to the daily recommendations of folic acid and proteins are aspects to consider in their promotion.

Key words: Intake of leguminous, alimentary habits, diet, Colombia.

INTRODUCCION

Las leguminosas fueron de los primeros alimentos cultivados por el hombre, el fríjol se domesticó en Latinoamérica en 4000 *a. de C.* precediendo en casi 1000 años al maíz. La arveja y la haba se cultivan desde 4500 *a. de C.* y la lenteja desde 2000 años *a. de C.* (1).

Durante la última década las instituciones encargadas de la política pública en materia de nutrición, han promovido la práctica de hábitos alimentarios saludables. Una alimentación saludable debe contener gran variedad de alimentos para satisfacer las necesidades nutricionales y mantener un óptimo estado de salud (2). Aumentar el consumo de vegetales incluido el de leguminosas secas ha sido una de las principales estrategias utilizadas en este propósito (3), las leguminosas secas contienen una alta proporción de hidratos de carbono (50% a 65%), de vitaminas y minerales, bajo contenido de

lípidos (0.8% a 2%) y son consideradas una fuente proteica (17% a 25%). Sin embargo, por sus bajos niveles de metionina y cistina se recomienda ingerirlas con pequeñas cantidades de proteína de origen animal o cereales sin limitación de estos aminoácidos. Ultimamente su consumo se ha asociado con la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles (4-6), debido a su contenido de sustancias bioactivas como fibra dietaria, saponinas e isoflavinas; su costo en términos relativos es muy bajo (7); 100 gramos de leguminosas secas aportan igual cantidad de hierro y proteínas y el doble de potasio que 100 gramos de carne, costando 3.5 veces menos.

Un análisis de las fuentes alimentarias en América Latina –con excepción de Brasil– mostró un consumo bajo de leguminosas secas, contrario a lo que se observa en la dieta de América central y del Caribe (8).

Colombia es un importador persistente de leguminosas secas (9), del total disponible para el país en el año 2001, las

importaciones representaron el 56% (10). El uso intensivo de mano de obra en estos cultivos sumado a la poca disponibilidad de maquinaria conlleva a una disminución de la producción nacional, lo que podría justificar el volumen de importaciones (11).

Ante la evidencia de que las políticas y programas de alimentación y nutrición tienen un mayor impacto cuando están fundamentadas en el conocimiento de las prácticas alimentarias (12) y motivados por el desconocimiento que tenemos sobre el consumo de leguminosas en esta región, se desarrolló este estudio como parte del macroproyecto interinstitucional que sobre alimentación saludable se viene desarrollando la Universidad Industrial de Santander (UIS) y el Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF).

METODOLOGIA

Con datos recolectados en 2000-2003 sobre el consumo de alimentos en escolares y madres se realizó un estudio descriptivo.

Fuentes de información. Tres encuestas transversales que tenían como objetivo primario caracterizar el consumo y el patrón alimentario en diferentes grupos etáreos, fueron reanalizadas; a) Encuesta realizada a 254 madres urbanas de los municipios de Floridablanca, Girón y Piedecuesta (área metropolitana) y seleccionadas aleatoriamente de los predios registrados en la oficina de planeación municipal de las alcaldías locales; b) Encuesta realizada a 169 madres rurales residentes en los municipios de Charalá y Vélez, también seleccionadas de manera aleatoria de estos listados y c) Un total de 148 menores escolarizados, seleccionados aleatoriamente de un marco muestral para representar a las instituciones de educación básica primaria de todos los estratos socioeconómicos de Bucaramanga. El reporte del consumo de los menores, fue realizado por sus madres ó los responsables de su alimentación.

En total se analizó la información de 571 sujetos. La clasificación de los municipios en área metropolitana y rural se realizó con base a sus características socioeconómicas, culturales, la disponibilidad alimentaria y la posibilidad de intervenirlos con una estrategia de alimentación saludable.

Métodos utilizados en la estimación del consumo. El método de estimación del consumo en las tres encuestas fue un recordatorio de 24 horas (R24). Los datos fueron tomados por encuestadores entrenados mediante entrevista directa a las mujeres encargadas de la preparación de los alimentos. Como un intento por disminuir el error derivado del R24, se utilizaron instrumentos de apoyo para determinar el tamaño de la porción; a) Manual sobre la representación de los tamaños de porción y b) Menaje estandarizado y que previamente

se había determinado como el “más frecuentemente utilizado en la población” (13).

Estimación del consumo a partir de los datos de ingesta. Los datos sobre tipo y cantidad de alimentos consignados en los R24 fueron traducidos a nutrientes utilizando el software SICI (Prada GE. Sistema De Información Para Cuantificar La Ingesta. SICI 2.0. Bucaramanga. Colombia, 2001. 35p.: il + disquete); SICI utiliza para el cálculo acumulado de la ingesta individual, una tabla de composición de alimentos específica para la región (14) y tablas de composición de alimentos Colombianos (15, 16). Además, se determinó el consumo (g) del grupo de leguminosas según el tiempo poscosecha (secas ó verdes). La estimación de la cantidad consumida se basó para las leguminosas verdes en el peso crudo y en el caso de las secas, en el peso crudo, corregido por la hidratación (remojo) que precede a la cocción.

Calidad de los datos. Las tres bases de datos reanalizadas, habían sido digitadas por duplicado en EpiInfo v 6.04d (CDC. EpiInfo, versión 6.04d. Epidemiología en ordenadores. Atlanta, Georgia. Enero, 2000) y validados los errores contra los formatos originales. SICI produce bases de datos con el consumo traducido a nutrientes en formato plano que fueron convertidas para ser procesadas en Stata SE v8.2 (StataCorp. 2003. Stata Statistical Software: Release 8.2. College Station, TX: Stata Corporation). El cálculo del aporte a las recomendaciones diarias de energía y nutrientes se estableció para cada individuo de acuerdo a su edad y sexo, según lo recomendado por el ICBF (17), determinando el porcentaje de adecuación con la razón: (consumido/recomendado)*100.

Análisis estadístico. Para describir los resultados se calcularon medidas descriptivas apropiadas al nivel de medición y sus intervalos de confianza con una confiabilidad del 95% (IC). Las comparaciones entre dos grupos se realizaron utilizando prueba t de student, cuando la comparación fue entre tres o más grupos se utilizó análisis de varianza (ANOVA).

RESULTADOS

La población estudiada correspondió a un grupo de escolares, pertenecientes a instituciones de educación básica primaria, con edades entre 8 y 14 años, el 60.8% eran hombres. Otro grupo estuvo conformado por madres residentes en las zonas metropolitana y rural, responsables de la alimentación familiar, cuya ocupación predominante fue el cuidado del hogar (Tabla 1).

TABLA 1
Características de la población estudiada

Característica	Escolares	Madres	
	[n=148]	Metropolitana [n=254]	Rural [n=169]
Edad (años)	10.0 (9.8, 10.2)*	34.7 (33.6, 35.7)	45.2 (40.4, 47.5)
Estado nutricional			
Talla	136 (135, 137)	sd	153 (152, 154)
Peso	39.8 (35.0, 43.7)	sd	62.6 (60.9, 64.2)
Sexo (%)			
Hombres	60.8		
Mujeres	39.2	100	100
Ocupación (%)			
Administrador	na	3.1	2.4
Técnico / Profesional	na	4.0	5.4
Comerciante	na	7.5	10.7
Docencia	na	2.0	11.8
Estudiante	100	0.8	1.2
Hogar / Domesticos	na	54.3	55.1
Independiente /Otro	na	28.4	13.6

[n]. Número de sujetos. * (). Promedio e intervalo de confianza al 95%. sd. sin dato. na. No aplica.

Consumo de leguminosas por zona geográfica y tipo de comida. La Tabla 2 presenta la participación (%) y cantidad consumida (g) de leguminosas por grupo estudiado y zona geográfica. El 36.4% de los sujetos consumen leguminosas secas, los escolares y las mujeres urbanas consumen más leguminosas secas que las madres rurales, el tamaño de la porción consumido por mujeres de la zona metropolitana es 60% mayor que el consumido por las residentes rurales. En general, el grupo de leguminosas es consumido en el almuerzo.

Consumo por tipo de alimento. En la Tabla 3 se observa la participación (%) y cantidad consumida (g) de leguminosas por alimento fuente. Las leguminosas secas de mayor consumo son la arveja y fríjol; el garbanzo y la haba no hacen parte del patrón alimentario en la población estudiada. Más de la mitad de los individuos que consumen leguminosas, incluyen la arveja verde en su alimentación, mientras que el fríjol verde solo es consumido por uno de cada diez sujetos.

TABLA 2
Participación (%) y cantidad consumida de leguminosas (g) por zona geográfica y tipo de comida

Alimento	Escolares [n=148]		Metropolitana [n=254]		Madres Rural [n=169]	
	%	Promedio (IC)	%	Promedio (IC)	%	Promedio (IC)
Consumo diario						
Secas *	50.7	24.2 (16.4, 32.0)	40.4	52.5 (44.7, 60.3)	17.8	32.1 (24.5, 39.7)
Verdes **	49.3	29.5 (21.8, 37.2)	59.6	30.0 (25.5, 34.5)	82.2	23.6 (19.3, 27.9)
Total día †		26.8 (21.4, 32.2)		39.0 (34.5, 43.6)		25.1 (21.3, 28.9)
Consumo Almuerzo						
Secas ††	46.3	27.7 (17.0, 38.3)	40.4	53.3 (44.8, 61.8)	16.5	33.1 (23.8, 42.4)
Verdes	53.7	29.8 (21.1, 38.4)	59.6	30.6 (25.5, 35.8)	83.5	24.9 (20.2, 29.6)
Total almuerzo §		28.8 (22.2, 35.3)		39.8 (34.8, 44.8)		26.3 (22.1, 30.5)
Consumo Comida						
Secas	63.6	13.3 (7.8, 18.8)	42.2	47.7 (22.4, 73.0)	28.5	28.2 (13.1, 43.2)
Verdes	36.4	32.5 (12.2, 52.7)	57.8	26.0 (15.5, 36.5)	71.4	14.7 (4.9, 24.4)
Total comida §§		20.3 (9.8, 30.7)		35.1 (23.2, 47.1)		18.5 (10.6, 26.5)

[n]. Número de sujetos. *. t de student entre el grupo de madres (p=0.03). **. t de student entre el grupo de madres (p < 0.05). †. t de student entre el grupo de madres (p < 0.001). ††. t de student entre el grupo de madres (p < 0.01). §. t de student entre el grupo de madres (p < 0.001). §§. t de student entre el grupo de madres (p < 0.05).

TABLA 3
Participación (%) y cantidad consumida (g) de leguminosas por alimento fuente

Alimento	Escolares [n=69]		Madres			
	%	Promedio (IC)	Metropolitana [n=129]	Promedio (IC)	Rural [n=112]	Promedio (IC)
Leguminosas secas						
Arveja	17.3	13.4 (3.9, 23.0)	15.53	51.5 (39.7, 63.3)		
Fríjol	18.8	30.2 (17.2, 43.3)	14.7	63.1 (37.9, 68.3)		
Lenteja	14.5	29.3 (14.2, 44.5)	6.9	50.2 (42.1, 58.3)	14.2	34.4 (26.4, 42.4)
Leguminosas verdes						
Arveja	46.3	26.4 (20.0, 32.8)	53.4	27.9 (24.2, 31.6)	59.8	20.9 (16.7, 25.2)
Fríjol	2.8	80.0 (60.4, 99.6)	5.4	40.5 (14.65, 66.4)	22.3	30.7 (20.4, 41.1)

[n]. Número de sujetos.

Cubrimiento de las recomendaciones nutricionales. Los mayores aportes nutricionales derivados del consumo de leguminosas secas fueron para ácido fólico, magnesio, tiamina, proteína, fósforo, hierro y cinc (Tabla 4). Los mayores aportes nutricionales derivados del consumo de leguminosas verdes son para ácido fólico, vitamina C, tiamina, magnesio, fósforo, cinc y niacina (Tabla 5). El aporte a las recomendaciones nutricionales diarias, derivado del consumo de leguminosas secas y verdes es diferencial por zona geográfica, favoreciendo a las madres de la zona metropolitana.

TABLA 4
Aporte porcentual medio de las leguminosas secas a la recomendación diaria de energía y nutrientes*

Energía y nutrientes ‡	Escolares	Madres	
	[n =30]	Metropolitana [n=47]	Rural [n=18]
Kilocalorías	1.5 (0.9, 2.5)†	7.5 (6.1, 9.1)	4.7 (3.2, 7.0)
Proteína	5.9 (3.6, 9.5)	20.7 (16.8, 25.5)	13.7 (9.1, 20.5)
Calcio	0.6 (0.3, 1.1)	4.1 (3.3, 5.1)	2.2 (1.5, 3.2)
Fósforo	4.4 (2.6, 7.5)	23.7 (19.2, 29.2)	15.9 (10.5, 24.0)
Hierro	3.9 (2.2, 6.8)	22.6 (17.9, 28.5)	17.1 (11.4, 25.8)
Cinc	4.5 (2.8, 7.3)	21.6 (17.6, 26.5)	14.8 (9.8, 22.5)
Magnesio	7.0 (4.1, 11.2)	32.6 (26.7, 40.0)	18.7 (12.4, 28.2)
Vitamina A (ER)	0.1 (0.07, 0.4)	0.2 (0.2, 0.3)	0.1 (0.1, 0.2)
Tiamina	5.2 (3.1, 8.6)	24.3 (19.9, 29.6)	13.5 (9.0, 20.1)
Riboflavina	1.4 (0.8, 2.4)	7.1 (5.8, 8.81)	4.7 (3.0, 7.3)
Acido Fólico	21.2 (12.1, 38.3)	120.4 (97.7, 148.4)	79.7 (53.3, 119.1)
Vitamina B6	1.7 (0.9, 3.2)	9.0 (7.0, 11.7)	7.4 (4.8, 11.3)
Niacina	1.6 (1.0, 2.6)	6.6 (5.3, 8.3)	4.6 (3.0, 7.0)
Vitamina C	2.0 (1.2, 3.2)	3.2 (2.4, 4.3)	2.1 (1.2, 3.7)

[n]. Número de sujetos. * ICBF. Recomendación de energía y nutrientes para la población Colombiana. 2000 (20). † (). Proporción e IC 95%. ‡ . t de student entre grupos (p < 0.001).

TABLA 5
Aporte porcentual medio de las leguminosas verdes a la recomendación diaria de energía y nutrientes*

Energía y nutrientes ‡	Escolares	Madres	
	[n =30]	Metropolitana [n=47]	Rural [n=18]
Kilocalorías	1.3 (0.9, 1.7) †	1.1 (0.9, 1.3)	0.9 (0.7, 1.1)
Proteína	4.6 (3.5, 6.1)	2.8 (2.4, 3.4)	2.1 (1.7, 2.7)
Calcio	0.9 (0.6, 1.2)	0.9 (0.7, 1.1)	0.8 (0.6, 1.0)
Fósforo	4.9 (3.8, 5.4)	3.9 (3.3, 4.7)	3.1 (2.4, 4.0)
Hierro	3.2 (2.4, 4.2)	3.1 (2.6, 3.7)	2.5 (2.0, 3.2)
Cinc	3.2 (2.5, 4.2)	4.1 (3.5, 4.7)	3.2 (2.6, 3.9)
Magnesio ‡	7.2 (5.5, 9.5)	5.8 (4.8, 6.9)	4.4 (3.4, 5.5)
Vitamina A (ER)	0.4 (0.3, 0.5)	1.3 (1.0, 1.6)	1.1 (0.8, 1.3)
Tiamina	4.8 (3.6, 6.4)	6.0 (5.2, 7.1)	5.3 (4.2, 6.6)
Riboflavina	2.4 (1.8, 3.1)	2.3 (2.0, 2.7)	1.6 (1.4, 2.0)
Acido Fólico	18.4 (14.3, 23.7)	12.1 (10.2, 14.5)	7.7 (6.3, 9.4)
Vitamina B6	3.2 (2.5, 4.2)	2.4 (2.0, 2.8)	1.7 (1.4, 2.2)
Niacina	4.0 (3.1, 5.2)	3.5 (3.0, 4.1)	2.4 (2.0, 2.9)
Vitamina C	5.2 (3.9, 7.1)	11.4 (9.5, 13.7)	11.2 (9.2, 13.5)

[n]. Número de sujetos. *ICBF. Recomendación de energía y nutrientes para la población Colombiana. 2000 (20). ‡. t de student entre grupos (p <0.05). † Proporción e intervalo de confianza al 95%. |. t de student entre grupos (p <0.01).

DISCUSION

Tres encuestas fueron reanalizadas con el objetivo de describir el consumo de leguminosas, la comparación fue posible, debido a que en todas se estimó el consumo mediante un R24; sin embargo, una posible limitación de este análisis radica en que un R24, no permite captar con suficiente certeza toda la variabilidad intra y entre sujetos, propia de la dieta en cualquier población (18).

Consumo de leguminosas por zona geográfica y tipo de comida. El consumo de leguminosas secas se da principalmente en el área metropolitana y el de leguminosas verdes en el área rural, los factores que inciden en esta situación son de una parte los hábitos alimentarios y de otra la disponibilidad alimentaria; en el caso de los municipios rurales la mayor disponibilidad de leguminosas verdes obedece a la oferta municipal dada la producción interna (19), en los municipios de la zona metropolitana de debe principalmente a la comercialización de alimentos (19,20). El tamaño de la porción consumido de leguminosas secas es mayor que el de las verdes, debido a que las primeras se utilizan como preparación principal mientras que las segundas como ingredientes de otras preparaciones (19,21), lo primero favorece los cubrimientos de las necesidades nutricionales (Tabla 4). El patrón alimentario Santandereano, se caracteriza por incluir las leguminosas en el almuerzo (19,21), debido a que ésta continua siendo la comida principal; además, algunos sujetos aducen intolerancias cuando se ingieren en la comida nocturna (19).

Los resultados del estudio permiten afirmar que el consumo de leguminosas secas es tan bajo como el observado en otras regiones del país (17,19), estudios de ingresos y gastos realizados por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE), muestran que las familias Colombianas invierten en la compra de leguminosas menos del 2% del gasto total en alimentos, siendo la adquisición mayor en familias con menores ingresos, este comportamiento no ha variado desde 1953, año en que iniciaron este tipo de investigaciones (22).

A pesar de que las recomendaciones alimentarias para la población Colombiana, sugieren una ingesta diaria de 2 medidas de intercambio de cualquiera de los siguientes alimentos: Carnes, huevos, leguminosas secas y mezclas vegetales (21), los resultados muestran como dos de cada cinco encuestados consumen leguminosas secas, esto hace suponer que los sujetos restantes deberán suplir sus recomendaciones a partir de las carnes, huevos y mezclas vegetales, situación que podría resultar difícil en familias con bajos ingresos, dado el costo de los alimentos de origen animal. Estudios recientes muestran las ventajas comparativas que las leguminosas secas representan dentro del costo de la canasta básica alimentaria normativa (CBAN); 4.1% versus 24.9% de la carne y el 16.4% de la leche (23).

Uno de los factores que podrían estar incidiendo en el bajo consumo observado es el desconocimiento del valor nutricional, ya que la concepción previa de los alimentos es un factor determinante de la compra, preparación y consumo. Los estudios locales muestran que estos alimentos son percibidos como de "escaso valor nutricional" ó con un valor nutricional comparable al del grupo de cereales (24).

Dada las características físicas de las leguminosas secas,

éstas requieren de un tiempo prolongado de rehidratación previo a la preparación -entre 8 y 12 horas- y un equipo específico (ollas a presión), que en muchas familias de ingresos bajos, se convierten en factores limitantes de su ingesta (24). La dificultad para su digestión debido a la presencia de factores de flatulencia (verbascosa, rafinosa, estaquiosa), también es causa del bajo consumo (24), este efecto puede disminuirse con técnicas de preparación adecuadas (26, 27). Sin embargo, la población desconoce cuales son las mejores formas de preparación, razón por la cual se han empezado a desarrollar acciones correctivas dentro del macroproyecto al que pertenece este estudio; en 2002 se elaboró un libro para agentes educativos en nutrición que presenta una gran variedad de preparaciones seleccionadas a partir de hábitos alimentarios y ajustadas a las normas técnicas de preparación (28).

Consumo por alimento. Del grupo de leguminosas secas la de mayor consumo es el frijón; otros estudios corroboran estos hallazgos (22, 29). A nivel nacional se observa que el consumo de arveja seca es sustituido por el de lenteja dado que los precios de estos alimentos tienen una tendencia similar y compiten entre sí (11). En este estudio la arveja y el frijón son las leguminosas verdes más consumidas, situación desfavorecida por la producción nacional (10).

Satisfacción de las recomendaciones nutricionales. Las Tablas 4 y 5 muestran como el consumo de leguminosas aporta el 1.5% a la recomendación diaria de energía. En América Latina desde los años 60, fecha en que se empezaron a elaborar las hojas de balance, las leguminosas secas representaban el 4% de la energía diaria disponible (30), para Colombia en el 2001 solo alcanzó el 2.7% (10).

A diferencia de lo observado con las calorías, las leguminosas representan un buen aporte a las necesidades proteicas, en Colombia en el año 2001, las leguminosas representaron un 7% de la disponibilidad teórica de proteínas, más que la de carne de aves (6%) y el huevo (3%); las fuentes proteicas disponibles de mayor importancia fueron, la carne de vacuno (11%) y la leche (19%) (10). Los resultados de este estudio muestran que las necesidades de este nutriente son cubiertas en mayor medida por el grupo de leguminosas secas (Tabla 5).

Con relación a las vitaminas, la cantidad consumida a partir de leguminosas secas representa un aporte importante a las necesidades de ácido fólico, aunque los datos de la composición química no tienen en cuenta el factor de pérdida por cocción -aproximadamente del 50.5%- (15). Este nutriente es de gran importancia para la población Colombiana dadas las deficiencias observadas y el papel que juega en la prevención y tratamiento de la anemia megaloblástica (31), sus deficiencias se asocian con la aparición de cáncer de

pulmón en fumadores (32) y de cerviz en mujeres que usan anticonceptivos orales (33). Otros aportes importantes son para el magnesio, tiamina, cinc, hierro, fósforo. El consumo de leguminosas verdes dada la cantidad consumida, sólo hace aportes significativos a las recomendaciones de ácido fólico.

Los hallazgos son aplicables a dos universos diferentes; las categorías geográficas establecidas permiten el diseño de posibles estrategias ajustadas a los resultados; estos sugieren que el consumo de leguminosas secas es bajo y que tiene lugar principalmente en la zona metropolitana, a diferencia de los municipios de la zona rural en donde predomina el consumo de leguminosas verdes, aunque en cantidades más pequeñas. Algunos aspectos a considerar en la promoción son, bajo costo, importante aporte a las recomendaciones nutricionales -especialmente ácido fólico, proteínas- y a diferencia de las verduras, las leguminosas secas tienen buena aceptación (19).

REFERENCIAS

1. AyKroyd WR, Doughty J. Las leguminosas en la nutrición humana. FAO. Roma. 1964. p. 16-18.
2. Olivares S, Andrade M, Zacarias I. Necesidades nutricionales y calidad de la dieta. Manual de autoinstrucción. Instituto de Nutrición y Tecnología Alimentos. INTA. Universidad de Chile. Santiago de Chile, 1993. p. 93-97.
3. Block G, Patterson B, Subar A. Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 1992;18:1-29.
4. Persky V, Van Horn L. Epidemiology of soy and cancer: perspectives and directions. *J Nutr* 1995;125:709-712.
5. Kingman SM. The influence of legume seeds on human plasma lipid concentrations. *Nutr Res* 1991;4:97-123.
6. Frühbeck G, Monreal I, Santidrián S. Hormonal implications of the hypocholesterolemic effect of intake of field beans (*Vicia faba* L) by young men with hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 1997;6:1452-1460.
7. Herrán OF, Prada GE, Patiño GA. Canasta básica alimentaria e índice de precios en Santander, Colombia, 1999-2000. *Salud Pública Mex* 2003;45:35-42.
8. FAO. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Morón C, Zacarias I, Pablo S. (Editores). Dirección de Alimentación y Nutrición. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. INTA. Universidad de Chile. Santiago de Chile, 1997. p.29-74.
9. Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Comercio exterior del sector agropecuario Colombiano 1991-2001. Observatorio Agro cadenas Colombia. Agosto 2002. Informes Anuales No 1. Consultado en <http://www.agrocadenas.gov.co>. Consultado en mayo 2004.
10. FAO. Hojas de balance de alimentos. Colombia, 2001. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat>. Consultado en mayo 2004.
11. Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Sistema de información de precios. SIPSA. Agosto-Septiembre 2001. Bogotá, Boletín Mensual No. 43.
12. FAO. Guía para la gestión municipal de programas de seguridad alimentaria y nutrición. Cecilio Morón (Editor). Dirección de Alimentación y Nutrición. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile, 2001. p. 11-56.
13. Prada GE. Representación de los tamaños de porción. Un recurso metodológico para la evaluación del consumo de alimentos. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. 2001.
14. Herrán OF, Bautista LE, Quintero DC. Tabla de composición de alimentos consumidos en Bucaramanga. 2 ed. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. Santander, 2003.
15. Quintero D, Alzate MC, Moreno S. Tabla de Composición de Alimentos. Centro de Atención Nutricional. 2ª edición. Medellín. 2001.
16. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Tabla de composición de alimentos Colombianos. Bogotá: ICBF, 2000.
17. Colombia. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Recomendaciones de consumo diario de Calorías y Nutrientes para la población Colombiana. Bogotá: ICBF, 1992.
18. Willet W. Nutritional epidemiology. 2th. Edition. Oxford University Press. New York, 1998:50-73.
19. Prada GE, Alvarez A. Caracterización de la situación alimentaria en tres municipios de Santander: Vélez, Charalá, Floridablanca. Secretaría de Salud de Santander. Universidad Industrial de Santander. Escuela de Nutrición. Informe de investigación. Bucaramanga. 2002.
20. Herrán OF, Prada GE. Determinación de la Canasta Básica Alimentaria de los municipios de Girón y Piedecuesta. *Salud UIS* 1999;30:22-29.
22. Instituto Colombiano De Bienestar Familiar. ICBF. Fundación Colombiana Para La Nutricion Infantil. NUTRIR. Consumo de alimentos en Colombia. 1998. INSALUD, ICBF, NUTRIR. Guías alimentarias para la población Colombiana mayor de dos años. Caracterización de la población. Bogotá: ICBF, 2000.
22. DANE. Colombia. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. DANE. Metodología índice de precios al consumidor IPC-98. Diciembre, 1998.
23. Prada GE, Herrán OF. Alimentos índices: Comportamiento de los precios en Santander, 1999-2000. *Salud UIS* 2003;35:3-10.
24. Prada GE. Percepción social de la alimentación en la zona de intervención del programa CARMEN, Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander, 2003. Diciembre (Reporte Técnico).
25. Mantilla BP, Macorni G, Gómez E. Hábitos alimentarios en familias de estrato 1, 2 y 3 de Bucaramanga. Informe final. Secretaría de Salud Bucaramanga. Proinapsa. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, 2000.
26. Sangronies E, Ibarz A, Barbosa - Canovas GV, Swanson BG. Effect of high hydrostatic pressure on water imbibition cooking times and microstructure of *Phaseolus vulgaris*. *Arch Latinoamer Nutr* 2002;52:301-306.
27. Queiroz Kda S, de Oliveira AC, Helbing E, Reis SM, Carraro F. Soaking the common bean in a domestic preparation reduced the contents of raffinose - type oligosaccharides but did not interfere with nutritive value. *Nutr Sci Vitaminol* 2002;48:283-289.

28. Soto A, Prada GE. Preparaciones nutritivas, saludables y sabrosas con leguminosas secas. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2002. ISBN 958-8187-09-5.
29. Álvarez MC, González L. Prácticas alimentarias en las familias del área rural de Medellín. Colombia. Arch Latinoamer Nutr 2002;52:55-62.
30. Espinosa F, Adnrade M, Valiente S. Disponibilidad de alimentos. En: Valiente S, Olivares S, Harper LJ. Alimentación, nutrición y agricultura. Un enfoque multidisciplinario para América Latina. Texto general. Universidad Católica de Chile, INTA. Universidad de Chile, Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional. Santiago de Chile. 1986. p. 209-39.
31. Bailey LB, Moyers S, Gregory JF. Folatos. En: Bowman BA, Russell (Editores) Conocimientos actuales de nutrición. 8 ed. Washington DC, 2003:235-251. ILSI, OPS. Publicación científica y técnica No. 592.
32. Heimbürger DC, Krumdieck CL, Alexander R, Birch CE, Butterworth JR, Bailey WC, Krumdieck CL Improvement of bronchial metaplasia in smokers treated with folate and vitamin B12. JAMA 1998;259:1525-1530.
33. Butterworth Jr, Hatch KD, Gore H, Mueller H, Krumdieck CL. Improvement in cervical dysplasia associated with folic acid therapy in users of oral contraceptives. Am J Clin Nutr 1982;35:73-82.

Recibido: 27-07-2004

Aceptado: 21-03-2005

Alta prevalencia de la desnutrición en ancianos españoles ingresados en un hospital general y factores asociados

M^a Jesús Gómez Ramos, Fco. Miguel González Valverde

Servicio de Medicina Interna, Hospital USP "San Carlos". Murcia, Servicio de Cirugía General, Hospital de la Vega Baja. Orihuela-Alicante. España

RESUMEN. El propósito del estudio fue evaluar la situación nutricional del enfermo anciano hospitalizado empleando el Mini Nutritional Assessment (MNA) y diversos parámetros nutricionales, conocer la prevalencia de la malnutrición entre ellos y valorar la correlación de la malnutrición con algunas características epidemiológicas de los pacientes estudiados para definir el grupo con mayor riesgo de padecerla. Se realizó un estudio transversal sobre 200 pacientes ancianos ingresados en el Hospital USP San Carlos (Murcia, España) durante un periodo de 3 meses, mediante una encuesta que incluía variables demográficas y el test MNA. También se recogieron los niveles séricos de albúmina y transferrina y el recuento linfocitario en sangre. En el análisis estadístico se utilizó la χ^2 de Pearson para variables cualitativas, la *t* de Student para muestras independientes y el coeficiente de Spearman. La media de edad fue de 80,72 DE 7,43 años. El peso medio fue de 63,41 DE 19,57 kg., la talla media 160,93 DE 8,36 cm y el Índice de Masa Corporal de 24,27 DE 7,31. Las cifras medias de albúmina, transferrina y linfocitos totales fueron 3,09 DE 0,5 g/l, 1,69 DE 0,37 mg/dl y 1412 mm³ respectivamente. El resultado del MNA fue de 15,9 DE 6,21 y un 50% (n=100) de los enfermos valorados mostró algún grado de malnutrición. El análisis de correlación demostró asociación estadísticamente significativa ($p < 0,001$) entre valores de malnutrición del MNA y valores por debajo de lo normal de los parámetros bioquímicos e inmunológicos. Los pacientes que presentan enfermedades crónicas, mayor deterioro físico y mental y menor autosuficiencia están desnutridos o en alto riesgo de estarlo. La valoración nutricional debe realizarse como rutina al ingreso de los ancianos en el hospital para detectar y tratar precozmente cualquier signo de malnutrición.

Palabras clave: Malnutrición, Mini Nutritional Assessment, valoración nutricional.

SUMMARY. High prevalence of undernutrition in Spanish elders admitted to a general hospital and associated factors. The objective of the study was to evaluate the nutritional status of the hospitalised elderly patients using the Mini Nutritional Assessment (MNA) and nutritional classic parameters, to estimate the prevalence of undernutrition among them and to value the correlation of undernutrition with epidemiological characteristics of the sample for determine the highest risk's group among the malnourished patients. A cross sectional survey was done among a sample of 200 elderly patients admitted to the USP San Carlos Hospital (Murcia, Spain) during a period of 3 months. Patients answered a questionnaire including demographic data and the MNA clinical tool. Lymphocyte concentration and albumin and transferrin serum levels were also collected. Statistical analyses were performed with the Student *t* and chi 2 tests. For the MNA, the Spearman's coefficient was employed. Mean age of the 200 patients was 80.72 SD 7.43 years. Mean weight was 63.41 SD 19.57 kg and mean height was 160.93 SD 8.36 cm, with a mean Body Mass Index of 24.27 SD 7.31. The serum values of albumin and transferrin and total lymphocytes in blood were 3.09 SD 0.5 g/l, 1.69 SD 0.37 mg/dl and 1412 mm³ respectively. Average score of the MNA was 15.9 SD 6.21 and, according to this scale, 50% (n=100) of the patients were malnourished. Correlation analyses resulted in significant association ($p < 0.001$) between values of undernutrition in the MNA and measurements under normality of the biochemical and immunological parameters. The patients who presents chronic diseases, advanced physical or mental deterioration and minor self-sufficiency are either malnourished or at high risk of being. The individualized nutritional evaluation must be performed routinely when the patient is admitted to the hospital for detect and treat early signs of malnutrition.

Key words: Undernutrition, MiniNutritional Assessment, nutritional valuation.

INTRODUCCION

El aumento de la esperanza de vida y la disminución de la mortalidad y de la fecundidad en los países más desarrollados se acompaña del envejecimiento progresivo de su población. Esta circunstancia lleva al aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas y del número de ingresos hospitalarios, lo que unido a los cambios fisiológicos que se producen en el

proceso de envejecimiento favorece la aparición de problemas nutricionales (1-3). La malnutrición hospitalaria, tanto en ancianos como en pacientes más jóvenes, no es un fenómeno nuevo, si bien solo recientemente comienza a comprenderse la extensión y magnitud del problema. Algunos estudios (4,5) reflejan que la desnutrición entre pacientes hospitalizados se sitúa en un 4% si se utilizan para el diagnóstico únicamente parámetros físicos pero asciende a un 62% si la

valoración recoge además las cifras de albúmina y transferrina y el recuento de linfocitos totales en sangre. Así pues, a pesar de la mayor sensibilización de los profesionales y del perfeccionamiento de las técnicas de valoración y soporte nutricional, se siguen manteniendo los valores de prevalencia de desnutrición hospitalaria de los primeros estudios de Bistrían y Blackburn (6). La persistencia de este problema parece obedecer tanto al aumento de la complejidad de las patologías tratadas actualmente y la mayor agresividad de los procedimientos terapéuticos como al mantenimiento de las mismas actitudes, salvo excepciones, en los sistemas de educación y administración sanitaria (1).

La valoración nutricional es un concepto clínico que se apoya en unas medidas antropométricas, bioquímicas e inmunológicas. Conociendo el estado nutricional, podemos plantear de una forma más concreta el tratamiento a seguir, así como reducir la morbimortalidad de los pacientes y apreciar la eficacia del soporte terapéutico. Para la valoración de riesgo de malnutrición hemos seleccionado el Mini Nutritional Assessment (MNA) (7,8). Este test consta de 18 ítems agrupados en 4 categorías: parámetros antropométricos, estado general del paciente, encuesta dietética y valoración subjetiva (Anexo I). Se ha elegido porque constituye una evaluación global del estado de salud de los mayores de 65 años simple, rápida, barata y validada internacionalmente que tiene en cuenta la función cognitiva y el estado funcional y dietético del paciente (9). El MNA es además un indicador para la adopción de medidas nutricionales que puede ser realizado por personal no adiestrado en la valoración nutricional. El estudio nutricional se completa con las tres principales determinaciones sanguíneas de valoración nutricional: albúmina, recuento de linfocitos totales y transferrina.

La malnutrición en el anciano ha sido merecedora de escasos y, con frecuencia, poco rigurosos estudios. El objetivo de este trabajo es conocer el perfil nutricional y social de los ancianos ingresados en nuestro Hospital e identificar las características epidemiológicas que son indicadores de mayor riesgo dentro del grupo de pacientes malnutridos, para poder actuar consecuentemente.

MATERIAL Y METODO

Se trata de un estudio transversal sobre 200 pacientes ingresados en la planta de agudos de Medicina Interna del Hospital USP San Carlos de Murcia en los 3 primeros meses del año 2004. Dicho centro es un Hospital de primer nivel con un área de hospitalización de 40 camas concertada con el Servicio Murciano de Salud. La media de ingresos por año fue 800 pacientes, siendo los ingresos más frecuentes por patologías: pacientes con demencia y complicaciones asociadas, EPOC y patología cardíaca crónica reagudizada. Al ingreso se realizaba una encuesta que constaba de 2 apartados. En el primero se

recogían variables epidemiológicas del paciente (Anexo I): edad, sexo, antecedentes personales, motivo de ingreso, estado físico y psíquico -ambos valorados por la escala de incapacidad de la Cruz Roja (10), grado de autosuficiencia, supervisión nutricional y tipo de dieta. En la segunda parte se pasaba el MNA al paciente -con colaboración del cuidador principal en el caso de los pacientes demenciados o en situación de coma- y se anotaban los resultados de la analítica sanguínea de valoración nutricional.

Se establecieron dos grupos según los ancianos estuvieran o no en peligro de padecer o agravar sus problemas nutricionales. En el grupo de riesgo de malnutrición se incluyeron los pacientes con una puntuación en el MNA menor o igual a 17 ó al menos dos valores de la determinación sanguínea (albúmina, recuento linfocitario y transferrina) inferiores al rango fijado por el laboratorio.

En el análisis estadístico se realizaron distribuciones de frecuencia de cada una de las variables cualitativas y las medidas de tendencia central y dispersión para las cuantitativas. Para la comparación de medias se utilizó la *t* de Student para muestras independientes y la χ^2 de Pearson para variables cualitativas. En aquellas variables en que existieran diferencias significativas respecto al riesgo de malnutrición se buscó el nivel de asociación con los resultados del MNA mediante el coeficiente de Spearman. Se consideraron significativos estadísticamente valores de $p < 0,05$ (IC 95%). Los datos fueron recogidos y procesados en una base de datos del programa SPSS 10 para Windows 98®.

RESULTADOS

De los 200 enfermos estudiados 105 eran hombres y 95 mujeres con una media de edad de 80,72 DE 7,43 años (Tabla 1) siendo el 55% (n=110) mayores de 85 años. El 43% (n=85) de los pacientes era autosuficiente y el 57% (n=115) precisaba de algún tipo de ayuda que en el 61% (n=70) de los casos recibía de sus hijos. Respecto de su situación clínica un 52% (n=105) presentaba un deterioro físico moderado y el 45% (n=90) un deterioro leve de las funciones superiores.

El motivo principal de hospitalización fue descompensación de EPOC en el 28% (n=55), complicaciones asociadas a la demencia en el 18% (n=35) e insuficiencia cardíaca en fase evolucionada en el 15% (n=30). En cuanto al tiempo de ingreso un 60% (n=120) permaneció en el centro menos de una semana, un 15% (n=30) entre 1 y 4 semanas y el 25% (n=50) estuvieron ingresados más de 1 mes. En lo referente al modo de alimentación un 46% (n=92) tenían alimentación exclusivamente oral, un 32% (n=63) tomaban habitualmente suplementos nutricionales y a un 22% (n=45) se le administraba nutrición enteral (NE) a través de sonda nasogástrica.

En el apartado de valoración nutricional por parámetros antropométricos (Tabla 2) el peso (P) medio fue de 63,41 DE 19,57 kg., la talla (T) 160,93 DE 8,36 cm y el Índice de Masa Corporal (IMC) de 24,27 DE 7,31. El pliegue cutáneo tricipital (PT) fue de 23,63 DE 5,5 cm y la circunferencia media del brazo (CMB) de 15,45 DE 3,3 cm. Las cifras medias en sangre de albúmina, transferrina y linfocitos totales fueron 3,09 DE 0,5 g/l, 1,69 DE 0,37 mg/dl y 1412 mm³ respectivamente. El resultado medio del test MNA fue de 15,9 DE 6,21 con un valor máximo de 27 y uno mínimo de 5,5 puntos. Un 50% (n=100) de los enfermos valorados presentaban malnutrición declarada y un 37,5% (n=75) se encontraban en riesgo de padecerla.

TABLA 1
Datos epidemiológicos

Edad (Años)		80,72 DE 7,43
Sexo	Varón	105 (52%)
	Mujer	95 (48%)
Motivo de ingreso	Resp. Crónico	55 (27%)
	Cardíaco	30 (15%)
	Resp. Agudo	15 (7%)
	Urinario	30 (15%)
	Demencia	35 (18%)
	Otros	35 (18%)
Estado psíquico (Deterioro)	Normal o Leve	90 (45%)
	Moderado	50 (25%)
	Grave	60 (30%)
Estado físico (Deterioro)	Normal o Leve	25 (13%)
	Moderado	105 (52%)
	Grave	70 (35%)
Dependencia	Independiente	85 (43%)
	Dependiente	115 (57%)
	Hijos	61%
	Pareja	22%
	Otros	17%
Tipo de alimentación	Oral	92 (46%)
	Oral + Suplementos	63 (32%)
	NE	45 (22%)
Tiempo de ingreso	< 1 semana	120 (60%)
	1 semana - 1 mes	30 (15%)
	> 1 mes	50 (25%)

TABLA 2
Valoración nutricional

Parámetros	Total	Varones	Mujeres	P < 0,05
Edad (Años)	80,72 (7,43)	79,29(85)	82,32(5,67)	0,003
Peso (kg)	59,41 (19,5)	60,84 (12,6)	57,93(25,2)	NS
Talla (cm)	155,67 (8,3)	160,76(6,3)	150,58 (6,9)	0,000
PT (cm)	23,63 (5,5)	24,56(5,9)	22,45(5,3)	0,052
CMB (cm)	15,45(3,3)	15,86(3,2)	14,67(2,8)	NS
IMC	24,27(7,3)	23,29(5,0)	25,63(9,5)	0,053
Valor MNA	15,9 (6,21)	15,38(6,7)	16,47(5,6)	NS
Albúmina (g/l)	3,09 (0,5)	3,1(0,5)	3,0(0,5)	NS
Transferrina (mg/dl)	1,69 (0,37)	1,7348(0,3)	1,6579(,4)	NS
Linfocitos totales (mm ³)	1412 (653,9)	1376,62 (509,7)	1451,42(784,1)	NS

PT: Pliegue tricipital, CMB: Circunferencia media del brazo, IMC: Índice de Masa Corporal, MNA: Mini Nutritional Assessment

Comparando los resultados nutricionales por variables epidemiológicas encontramos que existen diferencias estadísticamente significativas respecto al grado de deterioro físico y psíquico, a la autosuficiencia y a la supervisión de la alimentación. (Tabla 3). Estas diferencias coinciden además un nivel de correlación estadísticamente significativo (según el coeficiente de Spearman) con presentar alto riesgo de malnutrición o situación de malnutrición ya establecida.

TABLA 3
Clasificación de la malnutrición

	Proteica	Calorica	Mixta
Leve	3 (3%)	10 (10%)	5 (5%)
Moderada	5 (5%)	0	32 (32%)
Severa	15 (15%)	5 (5%)	5 (5%)

TABLA 4
Resultados MNA y Valoración Nutricional Clásica

	MNA		χ ²	Rho Spearman
	<17	≥17		
Albumina	28,90 DE 4,97	33 DE 4,37	24,56 **	0,350**
Transferrina	136 DE 38,06	183 DE 31,85	0,86	0,066
Linfocitos	1044,74 DE 224,72	1779,55 DE 732,59	75,86**	0,423**
IMC	20,33 DE 2,19	28,16 DE 8,45	86,32**	0,683**

**p<0,001

DISCUSION

A la vista de los resultados obtenidos el enfermo tipo de este estudio corresponde a un varón mayor de 80 años que ingresa en el hospital durante menos de 1 semana por descompensación de una patología respiratoria crónica.

Presenta una situación psíquica adecuada a su edad, un deterioro físico moderado y precisa ayuda para su vida diaria. Desde la perspectiva dietética el paciente se alimenta exclusivamente por vía oral y muestra un alto riesgo de desnutrición o una desnutrición establecida.

En el apartado de valoración nutricional hemos encontrado resultados muy similares a los obtenidos por estudios previos (11-15) tanto en la edad de los pacientes como en los parámetros antropométricos y datos de laboratorio. Estos resultados demuestran que nuestros pacientes se encuentran a su ingreso en situación de alto riesgo de desnutrición o padecen ya una desnutrición establecida. El estado nutricional del anciano institucionalizado influye muy directamente en su bienestar y antes de iniciar cualquier tipo de terapia debe ser correctamente valorado. El objetivo de esta valoración nutricional es identificar a aquellos pacientes malnutridos, - cuyo estado metabólico representa un aumento del riesgo de complicaciones, alarga el periodo de hospitalización y encarece de forma considerable el resto del tratamiento-, con el fin de que puedan recibir una alimentación complementaria. Es conocido que la mayoría de los pacientes ancianos tienen problemas nutricionales, desde anorexia y pérdida de peso hasta caquexia, debilidad progresiva y pérdida acusada de masa corporal, de forma que parece ser un predictor biológico de la supervivencia. Como causas principales la mayoría de los estudios acepta las alteraciones biológicas (cambios en la composición corporal, cambios sensoriales), psíquicas (depresión, demencia) y sociales (soledad, marginación, dependencia...) (16) que acompañan al hecho de envejecer. Nuestro trabajo muestra que, de las variables epidemiológicas estudiadas, aquellos que presentan un deterioro físico y psíquico moderado-severo, los que conservan menos autosuficiencia, los que sufren enfermedades crónicas y aquellos a los que no se les supervisa la alimentación presentan mayor riesgo de desnutrición. Sin embargo ¿son determinantes estas características en el hecho de presentar desnutrición? El estudio comparativo mediante regresión logística demuestra una relación significativa solamente con 3 variables ($p < 0,05$): el estado físico y psíquico, el hecho de padecer una enfermedad crónica y el mantener un bajo grado de autosuficiencia. Dichas

circunstancias son consideradas en muchos estudios como la base para la disminución de la ingesta y la pérdida de actividad y de relaciones sociales y por tanto son los factores que más aumentan el riesgo de malnutrición (17,18). Según los resultados de nuestro estudio la situación social (supervisión de alimentación, edad y sexo) no influye tanto en el estado nutricional del paciente y es el grado de deterioro del individuo el que realmente determina la aparición de malnutrición. Debemos destacar que la enfermedad crónica que más influye es la diabetes mellitus ya que al excluir dicha variable del modelo de regresión logística no existe relación significativa con la malnutrición. Esta influencia se ha objetivado ya en otros trabajos y ha sido objeto de estudios específicos (21,22).

Como resumen podemos decir que existe un elevado índice de desnutrición entre las personas mayores de 65 años que ingresan en la planta de medicina interna de un centro de agudos, comprobado tanto con parámetros antropométricos y analíticos como con el MNA. A pesar de la progresiva implantación de las unidades de nutrición en los hospitales, los programas de diagnóstico precoz y tratamiento de apoyo en pacientes ancianos siguen siendo una práctica poco extendida debido en parte a que hasta ahora la organización de los sistemas sanitarios y sociales no ha tenido en cuenta esta realidad. La valoración nutricional debe realizarse como rutina al ingreso de los ancianos en el hospital para detectar y tratar precozmente cualquier signo de malnutrición. Este gesto simple reducirá el riesgo de sufrir complicaciones asociadas y contribuirá a la recuperación y mantenimiento de una calidad de vida adecuada.

El mayor grado de malnutrición se da en aquellos pacientes que presentan un deterioro físico y psíquico moderado-severo, en los que tienen menor autosuficiencia, en los que sufren enfermedades crónicas y en aquellos a los que no se les supervisa la alimentación. Podemos afirmar que presentar dichas carencias excepto la última convierte al anciano en paciente de riesgo -dentro del alto riesgo de sufrir problemas de nutrición que los ancianos presentan- al mostrar estas variables relación estadísticamente significativa con la malnutrición.

REFERENCIAS

1. López Mederos O, Lorenzo Riera A y Santiago Navarro P. Morbilidad en cuidadores de pacientes confinados en su domicilio. *Atención Primaria*, 1999; 24 (7): 404-10.
2. Martínez Olmos MA, Martínez Vázquez MJ, López Sierra A, Morales Gorría MJ, Cal Bouzón S, Castro Núñez I, Del Campo V y Pena González E. Detección del riesgo de malnutrición en ancianos hospitalizados. *Nutr Hosp*, 2002; XVII (1): 22-24.
3. MacFayden D. International demographic trends. En: Kane RL, Evans JG, Macfayden D (EDS): *Improving the health of the older people: a world view*. New York: Oxford University Press, 1990: 19-29.
4. Naber TH, Schemer T, De Bree A, Nusteling K, Eggink L, Kruimel JW, Bakkeren J, van Heereveld H, Katan MB.: Prevalence of malnutrition in nonsurgical hospitalized patients and its association with disease complications. *Am J Clin Nutr*, 1997; 66(5): 1232-1239.
5. "Food and nutritional care in hospitals: How to prevent undermalnutrition" Ad hoc Group. Nutrition programmes in Hospitals. Committee of experts on nutrition, food safety and consumer health. (6th meeting). Paris 6-7 Feb. 2002. Report and recommendations. Draft final edition (revised). P-SG (2002) 2REV.
6. Bistrian BR, Blackburn GL, Vitale J, Cochran D, Naylor J. Prevalence of malnutrition in general medical patients. *JAMA* 1976; 235: 1567-70.
7. Guigoz Y, Vellas B, Gartry PJ. Assessing the nutritional status of the elderly: The Mini Nutritional Assessment as part of the geriatric evaluation. *Nutr Rev*, 1996; 54:S59-S65.
8. Cardona D. La nutrición artificial y la mejora de la calidad asistencial. *Rev Calidad Asist*, 1998; 13:120-135.
9. Sheirlinx K, Nicolas AS, Nourhashemi F, Vellas B, Albarède JL, Gary P. The MNA score in successfully aging persons. In: Vellas B, Garry PJ, Guigoz Y (eds): *Mini Nutritional Assessment (MNA): Research and practice in elderly*. Nestlé Clinical and performance Nutrition Workshop series, Vol 1, Lippincott-Raven, Philadelphia: 61-66.
10. San José Laporte A, Jacas Escarcellé C, Selva O'Callaghan A, Vilardell Tarrés M
Protocolo de valoración geriátrica. *MEDICINE*, 1999; 7 (124): 5829-5832.
11. Arrowsmith. Malnutrition in Hospital: detection and consequences. *Br J Nurs*, 1997; 6(19): 1131-1135.
12. González Castela L, Coloma Peral R, Aseerbe Salcedo P, Indo Berges O, Rodríguez Carballo B y Martínez Tutor MJ. Estado actual del grado de desnutrición en los pacientes hospitalizados de la Comunidad de La Rioja. *Nutr Hosp*, 2001; 16 (1): 7-13.
13. Mullen JL and Buzby GP: "Nutritional Assessment". In: *Clinical Nutrition Volume I: Enteral and Tube Feeding*. Edited by M. Caldwell and J. Rombeau. Philadelphia: W.B. Saunders, 1984.
14. Cereceda Fernández C, González González I, Antolín Juárez FM, García Figueiras P, Tarrazo Espiñeira R, Suárez Cuesta B, Álvarez Huete A, Manso Deibe R. Detección de malnutrición al ingreso en el hospital. *Nut Hosp* 2003; 18 (2): 95-100.
15. Jiménez Sanz M, Fernández Viadero C, Verduga Vélez R y Crespo Santiago D. Valores antropométricos en una población institucionalizada muy anciana. *Nutr Hosp*, 2002; 17 (5): 244-250.
16. Casimiro C, García de Lorenzo A, Usán L y el Grupo de estudio Cooperativo Geriátrico. Evaluación del riesgo nutricional en pacientes ancianos ambulatorios. *Nutr Hosp*, 2001; XVI (3): 97-103.
17. Rodríguez. Evaluación del estado nutricional del adulto mayor en el reparto Flores. *MEDISAN* 2001; 5(1):46-51
18. Arbonés G, Carbajal A, Gonzalvo B, González-Gross M, Joyanes M, Marques-lopes I, Martín ML, Martínez A, Montero P, Núñez C, Puigdueta I, Quer J, Rivero M, Roset MA, Sánchez Muñiz FJ, Vaquero MP. Nutrición y recomendaciones dietéticas para personas mayores. Grupo de trabajo "Salud Pública" de la Sociedad Española de Nutrición (SEN). *Nutr Hosp*, 2002; XVII (5): 109-137.
19. Venegas Moreno E, Soto Moreno A, Peteira Cunill JL, García Peris P, León Sanz M, Pita Mercé AM y García-Luna PP. Pacientes en riesgo de desnutrición en asistencia primaria. Estudio sociosanitario. *Nutr Hosp*, 2001; XVI (1): 1-6.
20. Albalá Brevis C. Evaluación del estado nutricional en el anciano. *Boletín de la Escuela de Medicina*. Universidad Católica de Chile, 1999; 6: 12-18.
21. Hinojosa M C, González E, Hinojosa J, Fernández I, Zurro J. Prevalencia de los factores de riesgo y de otras enfermedades en el paciente diabético hospitalizado. *Endocrinología y nutrición*, 2002; 49 (5): 136-139.
22. Casimiro C, García de Lorenzo A, Usan L. y el Grupo de Estudio Cooperativo. Estado nutricional y metabólico y valoración dietética en pacientes ancianos, institucionalizados, con diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID) Geriátrico. *Nutr Hosp*, 2001; XVI (3): 104-111.

Recibido:18-01-2005

Aceptado: 21-03-2005

Un estudio transcultural de yogurt batido de fresa: aceptabilidad con consumidores versus calidad sensorial con paneles entrenados

Emma Wittig de Penna, Ana Curia, Sandra Calderón, Luis López, Regina Fuenzalida, Guillermo Hough

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Santiago, Chile,
Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria. Buenos Aires, Argentina,
Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), San José, Costa Rica

RESUMEN. Con el fin de estimar el punto de corte, para luego ser empleado en un estudio de vida útil de yogurt batido de fresa, se diseñó un estudio simultáneo, a ser realizado en Argentina, Chile y Costa Rica, con un mismo tipo de yogurt, elaborado en los respectivos países de origen, relacionándose los parámetros de calidad sensorial, determinados con un panel entrenado, y la aceptabilidad, determinada con consumidores. Para ello se empleó la metodología de punto de corte utilizando la valoración de calidad mediante el método de Karlsruhe. Estudios preliminares realizados a 42°C indicaron que los parámetros de calidad más sensibles al deterioro por efecto del almacenamiento eran: pH, acidez titulable, viscosidad y la calidad sensorial. En cada caso se determinó el punto de corte que representa el puntaje de calidad sensorial a partir del cual el consumidor comienza a percibir un cambio en el producto, en relación al producto fresco y también se calculó el porcentaje de rechazo en función del punto de corte. Los puntos de corte y los porcentajes de rechazo obtenidos para los tres países fueron similares, pero a nivel de calidad sensorial, las muestras de yogurt costarricenses modificaron sus características de coloración y sabores ácido y rancio, las muestras de yogurt argentino desarrollaron acidez que influyó cambios en la textura, apariencia y sabores residuales y las muestras de yogures chilenos fueron las que se mantuvieron más estables en su calidad sensorial, a través del tiempo. Esta disparidad en el comportamiento de las muestras evidencia que los productos, a pesar de tener una misma denominación, corresponden a productos diferentes en su formulación y elaboración, la cual está supeditada a la diferente reglamentación vigente en cada país.

Palabras clave: Vida útil, yogurt, punto de corte, aceptabilidad, calidad sensorial.

INTRODUCCION

La evaluación sensorial es una herramienta importante para establecer la vida útil de los alimentos. Su eficacia radica en el hecho que los cambios que experimenta el producto se traducen en modificaciones de uno o más parámetros sensoriales, provocando el deterioro del mismo, lo que se tra-

SUMMARY. A transcultural study on stirred strawberry yogurt: Consumer acceptability versus sensory quality with trained panel. The present work was designed in order to obtain the cut off point, to be used in a shelf life study on whole stirred strawberry yogurt. The study was simultaneously carried out in Argentina, Chile and Costa Rica, assaying the same kind of product, elaborated in each one of the countries. The sensory quality parameters obtained from trained panelists and the consumers acceptability, were correlated by using the cut off point methodology through a quality evaluation by the Karlsruhe scale. According to preliminary studies, the storage at 42°C produced considerable damage on parameters such as pH, acidity (volumetric assay), viscosity and sensory quality. For each sample, the cut off point was determined. This value corresponds to the threshold score for the sensory quality, where the consumer starts to perceive negative changes in the product, when comparing with the fresh product. The rejection percentage was also calculated according to the cut off point. The cut off points and the percentage of rejection obtained by the three participating countries were similar. Data obtained from Costa Rica showed changes in color, acidity and rancidity. Argentinean yogurts developed acidity that had a negative effect on texture, appearance and residual flavors. Chilean samples presented a sensory quality that remains almost without change through the studied time. The differences of the deterioration pattern amongst the three countries, demonstrates that the products are different in formulation and elaboration process, in spite of been the same kind of yogurt. This could be explained by differences specified in the regulation of each country.

Key words: Shelf life, yogurt, cutting point, acceptability, sensorial quality.

duce en una disminución de su aceptabilidad hasta llegar en el caso extremo de un rechazo de ese alimento. De ahí la importancia en contar con metodología que facilite la estimación en forma real de la vida útil que pueda tener el alimento. Son muchas las iniciativas que se han propuesto con este fin.

Para el empresario que necesita cumplir con aspectos

reglamentarios y legales del etiquetado, es de gran interés definir métodos sencillos y confiables para estimar la vida útil de sus productos. Muchas veces se toma información de la literatura, o de productos similares que se comercializan en otros mercados. Esto conlleva un error importante por cuanto las condiciones ambientales, sanitarias y climáticas varían de un país a otro, además de la variabilidad que aportan las diferentes materias primas empleadas, el proceso a que es sometido el alimento, las barreras que entrega el tipo de envase elegido y, finalmente, las condiciones en que será almacenado y distribuido hasta llegar a manos del consumidor. Aquí nuevamente sufrirá cambios por las diferentes formas que éste tenga de manipularlo y o almacenarlo, hasta terminar de consumirlo.

Otra metodología empleada para determinar vida útil utiliza los resultados de controles simultáneos de calidad física, química, microbiológica y sensorial practicados a productos almacenados en las condiciones de comercialización. (1-5). Se deben establecer previamente los límites de cada una de las variables que se estudiarán, y cuáles de ellos son críticos. Así, por ejemplo, para los controles microbiológicos se emplean los límites reglamentarios vigentes; para calidad sensorial y sus diferentes parámetros, determinados con un panel entrenado, se ha fijado un límite, que en el caso de la escala de Karlsruhe corresponde a 5,5 y que representa el límite de comercialización. Para cada variable estudiada se establece la ecuación que represente la cinética de deterioro en el tiempo. Las ventajas de este método son: posibilidad de correlacionar las variables estudiadas y definir posibles causas del deterioro y estimar por cálculo el tiempo que tarda la calidad en llegar al límite, sin necesidad de realizar controles hasta alcanzar ese tiempo, el que puede ser verificado, posteriormente, repitiendo el estudio hasta sobrepasar ese tiempo. Su desventaja es que no considera la opinión del consumidor y es muy probable que la vida útil así obtenida sea más corta que la que resultaría al considerar la aceptabilidad del consumidor. Esta metodología ha sido aplicada en estudios de vida útil de productos dietéticos (6,12).

Modelar un estudio de vida útil no es tarea sencilla por cuanto son muchas las variables involucradas y no siempre se pueden manejar a voluntad. Los estudios de almacenamiento acelerado dan cuenta de los cambios extremos que puede experimentar un alimento. Son importantes para decidir cuáles variables estudiar y establecer la frecuencia de los controles a realizar.

Si no se cuenta con estudios específicos sobre el comportamiento que tiene la cinética de deterioro de las diferentes variables, es difícil integrar la información obtenida sobre controles aislados y concluir, por ejemplo, que la variación del peso se correlaciona con la dureza del alimento. Si no se considera la participación de los demás ingredientes es fácil caer en errores que el modelo no ha ponderado, como,

por ejemplo, el efecto texturizante de algunos carbohidratos y grasas, lo cual incidirá en la percepción de dureza.

La aceptabilidad es frecuentemente determinada usando un alto número de consumidores (de 50 a 500, o más), sin entrenamiento, que evalúan en una sola sesión una serie de productos con diferentes tiempos de almacenamiento (13). Esta metodología usa productos elaborados en diferentes fechas o bien guarda en congelación muestras que se extraen en diferentes fechas para detener el deterioro. Ambas técnicas introducen errores, sea por la variabilidad entre lotes de fabricación o porque durante la congelación continúa produciéndose deterioro, aunque a una velocidad menor.

Otra técnica empleada en la industria, en las etapas iniciales del desarrollo de productos, es la evaluación de la variación que experimenta la calidad de los prototipos en el tiempo, por un panel entrenado en ese producto. En este caso es necesario verificar los resultados, con consumidores, antes del lanzamiento del producto.

También han sido descritos estudios de correlación entre los resultados del panel entrenado y el de los consumidores para definir la vida útil (14). El panel entrenado, durante el almacenamiento cuantifica el deterioro de los parámetros limitantes hasta que el deterioro se hace significativo. Las muestras se almacenan a baja temperatura y se presentan a un panel de consumidores con el fin que señalen su aceptación o rechazo. Los datos obtenidos se correlacionan para establecer, en la escala de calidad, la información de aceptabilidad generada por los consumidores. La vida útil queda definida por el período de tiempo en que los consumidores califican inaceptable el producto. La ventaja de este método es que los datos de los consumidores se pueden usar para correlacionarlos con otros datos, de controles instrumentales, químicos, etc. Las desventajas provienen del tipo de escala usada para medir el deterioro (15) y que el almacenamiento de las muestras involucra errores que pueden resultar magnificados cuando se emplean datos de diferentes sesiones. Aun no hay acuerdo en las ventajas de usar panelistas entrenados.

Un método realista sería evaluar la aceptabilidad con un número representativo de consumidores (sobre 100), las muestras de las diferentes partidas de producción durante el tiempo de almacenamiento. Pero este diseño es muy costoso y toma mucho tiempo.

Una forma de simplificar esta situación es usar diseños de muestreo escalonado en el cual se puede intensificar el muestreo al final de la vida útil (16). La ventaja es que las muestras proceden de una misma partida, los productos se evalúan a lo largo de todo el período hasta ser inaceptables y puede realizarse con personas sin entrenamiento. Ha sido aplicado a diferentes alimentos: productos cárnicos (16), harina de casava (17), cereales para desayuno (18), helados de crema (19), carnes refrigeradas (20), alimentos congelados

(21), queso cottage (22), leche pasteurizada (23), cecinas (24), aceite de girasol (25).

Como una propuesta de solución a esta disparidad de criterios surge la posibilidad de estudiar puntos de corte para los diferentes productos que representan el valor de percepción en que los consumidores comienzan a percibir un cambio en cuanto a la muestra fresca y compararla con el puntaje de calidad obtenido con el panel entrenado. La ventaja de esta técnica es que se considera la aceptabilidad de una proporción importante de la población y se traduce a un valor de calidad, lo que permite emplear paneles entrenados en ensayos posteriores para ese mismo tipo de productos, sin necesidad de volver a realizar las pruebas con consumidores. Los criterios para definir el deterioro de los productos puede ser diferente de un país a otro. Por esta razón consideramos interesante plantear un estudio paralelo entre 3 países empleando un mismo producto producido en el propio país.

En este estudio consideramos la evaluación realizada, tanto por un grupo de consumidores que evalúan aceptabilidad en el tiempo, como la evaluación de calidad sensorial realizada con un panel entrenado en las mismas fechas que lo hace el de consumidores. Al traducir la respuesta hedónica asociada a una aceptabilidad en una escala de calidad, tendremos representada la sensación que el producto genera en forma espontánea en el consumidor. En este trabajo se emplea la metodología de punto de corte, que puede ser definido como el valor a partir del cual el consumidor comienza a percibir un cambio en el producto, con relación al producto fresco.

Los objetivos del siguiente trabajo fueron: determinar el punto de corte de yogurt para cada país, implementar el uso de la metodología de Karlsruhe para la determinación del punto de corte y estudiar el comportamiento de los yogures de los distintos países en condición de almacenamiento a 42°C.

MATERIALES Y METODOS

Muestras: Se emplearon muestras de yogurt batido de fresa que se producen y comercializan en los tres países: En Chile se adquirieron en la Planta de elaboración, 14 unidades de un litro procedentes del mismo lote (SOPROLE^{MR}). Dos unidades se mantuvieron almacenadas en refrigeración (3-5°C) y las 12 unidades restantes fueron almacenadas a 42°C en estufa de aire forzado durante 15 días. Para efectos del muestreo, se retiraron 2 unidades en cada oportunidad al cabo de los siguientes tiempos: 3, 5, 7, 9, 12 y 15 días. Los productos retirados se mantuvieron en los envases originales a temperatura de refrigeración (3-5°C) hasta el momento de su evaluación con el panel entrenado y con los consumidores; para este fin se destinó una unidad. Simultáneamente, en la otra unidad del mismo tiempo se realizaron los controles microbiológicos en cuadruplicado y de pH y acidez titulable en triplicado. El resto del producto se destinó a las pruebas

con consumidores. Los métodos microbiológicos aplicados son los siguientes: Para el recuento de enterobacterias: se sembró en Agar Violet Red Bile Glucosa, incubando a 37°C por 48 h (26); para el recuento de hongos y levaduras se usó Agar Papa dextrosa, se incubó a 22°C por 5 días (27); para el recuento de *Lactobacillus* spp. se sembró en doble capa, en Agar MRS incubando en condiciones de microaerofilia a 37°C por 48 h (28); y para los recuentos de *Streptococcus* spp. se utilizó Agar M17, incubando a 37°C por 48 h (28).

En el caso de Argentina se emplearon 180 unidades de 125 g de yogurt batido de fresa (Yogurísimo^{MR}), del mismo lote que fueron almacenados durante 0, 4, 8, 12, 24, 36 y 48 horas a 42°C y del mismo modo que para Chile, las muestras una vez expuestas a 42°C, en sus respectivos envases, se almacenaron a 3-5°C hasta el momento de la evaluación.

En el caso de Costa Rica, se usaron 70 unidades de 170 g de yogurt batido de fresa (Dos Pinos^{MR}), los tiempos de almacenamiento a 42°C, el muestreo y la forma de refrigeración hasta el momento de evaluación fueron los mismos que para Argentina.

La condición de almacenamiento a 42°C se basa en que esta temperatura es la de incubación durante el proceso de producción, por lo que los microorganismos del yogurt, crecen satisfactoriamente, produciéndose grandes cantidades de ácido láctico (29).

Panel entrenado: El panel de cada país estuvo conformado por 8 evaluadores entrenados en evaluar calidad de yogurt por parámetro usando el método de Karlsruhe (30,31) que emplea una escala descriptiva de 9 puntos en que 1= muy mala y 9=excelente (Tabla 1) (32). Las muestras se presentaron simultáneamente, codificadas con tres dígitos, en orden aleatorio, a 5-7°C. Se usó agua a 5-7°C como medio de neutralización. Las evaluaciones se realizaron en triplicado, en panel abierto, empleando una mesa circular con centro móvil e iluminación cenital artificial que simula luz diurna.

Panel de consumidores: Estuvo constituido por 50 consumidores habituales de yogurt entre 23 y 50 años de edad, de ambos sexos, para los 3 países, reclutados entre el personal que estudia o trabaja en las instalaciones de las respectivas universidades e instituto. Cada consumidor recibió 6 muestras en el caso de Chile, y 7 muestras en el caso de Argentina y Costa Rica, correspondientes a los 7 puntos del diseño, en orden aleatorio, a 5-7°C, acompañadas de agua mineral, como neutralizante entre muestras. La evaluación se realizó en cabinas aisladas iluminadas con luz similar a la luz diurna.

Se usó una escala hedónica de 9 puntos anclada en los extremos correspondientes a "Me disgusta extremadamente" y "Me gusta extremadamente" y en el centro con "Me es indiferente" (13). Además debían responder una pregunta

TABLA 1
Test de Karlsruhe para la valoración de la calidad del yogurt batido de fresa

Característica	Calidad Grado 1: Características típicas			Calidad Grado 2: Deterioro tolerable			Calidad Grado 3: Deterioro Indeseable		
	EXCELENTE 9	MUY BUENO 8	BUENO 7	SATISFACTORI A 6	REGULAR 5	SUFICIENTE 4	DEFECTUOSA 3	MALA 2	MUY MALA 1
Color	muy apropiada uniforme muy buen brillo muy típico y natural	apropiado uniforme buen brillo típico y natural	parejo uniforme con brillo típico	parejo uniforme leve brillo aún agradable	algo disparejo leve uniforme leve opaco poco típico	Disparejo poco uniforme opaco poco típico	disparejo algo desuniforme opaco algo atípico	muy disparejo desuniforme muy opaco atípico	muy desuniforme alterado totalmente opaco muy atípico
Apariencia	muy apropiada muy típica muy fresca muy natural muy uniforme muy agradable	apropiada típica fresca natural uniforme agradable	apropiada típica fresca agradable	algo apropiada algo típica fresca leve aparición de puntos blancos aún se mantiene deseable	algo atípica algo deteriorada artificial puntos blancos algo agrietado algo de grumos	leve atípica leve deteriorada algo desuere puntos blancos notorios leve grumosidad	atípica deteriorada desuereado puntos blancos muy notorios grumos notorios	muy atípica muy deteriorada muy desuereado puntos blancos muy notorios total grumosidad	totalmente atípica deteriorado en extremo desuere total puntos blancos y grumos muy notorios
Aroma	espeífico muy fresco y típico muy natural muy agradable fermentado típico	específico fresco y típico agradable, natural y equilibrado fermentado típico	específico, fresco apropiado bueno aún equilibrado fermentado típico	ligeramente alterado algo artificial ligeramente plano poco típico fermentado normal	algo alterado muy plano poco equilibrado fermentado algo anormal	Alterado aún aceptable levemente rancio poco equilibrado fermentado algo anormal	claramente alterado atípico rancio añejo fermentado anormal	totalmente alterado desagradable rancio añejo fermentado anormal	Repulsivo muy desagradable deteriorado muy añejo fermentado muy anormal
Consistencia (con cuchara)	buen cuerpo muy uniforme típica y homogénea sin ligosidad viscosidad característica	buen cuerpo uniforme típica equilibrada buena viscosidad sin ligosidad	buen cuerpo apropiada buena uniformidad sin ligosidad buena viscosidad	cuerpo aún bueno firmeza relativa normal viscosidad buena sin ligosidad	cuerpo algo alterado firmeza aún aceptable viscosidad normal levemente ligoso	cuerpo alterado ligoso poco uniforme viscosidad regular	claramente alterado firmeza atípica uniformidad alterada viscosidad irregular bastante ligoso	totalmente alterado firmeza atípica desuniforme mala viscosidad muy ligoso	Totalmente alterado Firmeza muy atípica muy desuniforme deteriorado ligoso en extremo
Sabor	muy fresco natural, armónico muy uniforme muy agradable específico acidez muy equilibrada	fresco natural, armónico uniforme agradable específico acidez equilibrada	fresco bueno, armónico apropiada aún agradable aún específico acidez aún equilibrada	levemente fresco aceptable apropiada ligeramente plano aún armónico diferencia de acidez perceptible	ligeramente alterado plano poco equilibrado acidez atípica diferencia de acidez moderada sensación láctea ausente	alterado levemente insípido áspero levemente rancio acidez atípica acidez desbalanceada, marcada	claramente alterado atípico añejo y rancio acidez atípica acentuada acidez muy acentuada	totalmente alterado aún no repulsivo rancio añejo enmohecido acidez intolerable	repulsivo desagradable deteriorado muy añejo acidez repulsiva
Sabor residual y/o extraños	ninguno sin alteraciones sabor muy normal típico fermentación característica	ninguno sin alteraciones sabor normal típico fermentación apropiada	ninguno sin alteraciones sabor normal aún típico buena fermentación	leve existencia de sabores extraños pero no identificables aceptable fermentación normal	existencia de sabores extraños, pero levemente identificables algo de fermentación atípica	sabor alterado sabor desuniforme existencia mayor de sabores extraños fermentación anormal	sabor bastante alterado sabor rancio sabor ácido anormal fermentación atípica pronunciada	sabor muy alterado sabor ácido anormal marcado fermentación atípica pronunciada	sabor muy alterado sabor muy rancio acidez muy anómala fermentación atípica intolerable
Textura (bucal)	muy buena típica y homogénea suavidad específica cremosidad característica	buena típica y uniforme	buena típica aún uniforme aún suavidad y cremosidad típica	algo alterada aceptable falta homogeneidad suavidad y cremosidad buena	algo alterada leve aparición de grumos y partículas suavidad y cremosidad tolerable	alterada aparición de grumos y partículas suavidad y cremosidad regular	alterada desuniforme granulosidad falta suavidad y cremosidad	muy alterada modificada mucho granulosidad falta suavidad y cremosidad	muy alterada muy modificada escasa suavidad y cremosidad en la boca

acerca de si consumirían o no la muestra. Al final de la sesión recibieron una gratificación como agradecimiento por su participación en la sesión.

Ensayos físico-químicos

Determinación de acidez: Se determinó el pH y la acidez de las muestras por duplicado, éste último por medio del método potenciométrico según la norma FIL (33).

Análisis estadístico: Para estimar el punto de corte, se utilizó la siguiente ecuación:

$$S = F - Z_{\alpha} \sqrt{\frac{2 * CME}{n}}$$

Donde:

S = aceptabilidad mínima

F = aceptabilidad del tiempo cero

Z_{α} = coordenada de la curva normal (ensayo de una cola, nivel de significación $\alpha = 0,05$)

CME = Cuadrado medio del error obtenido del ANOVA de consumidores

n = número de consumidores

Esta misma ecuación fue usada por Hough et al (34) en estudios de vida útil de leche en polvo. Se calculó la regresión de la aceptabilidad versus la calidad sensorial mediante el programa computacional Genstat (35).

El punto de corte es obtenido mediante la interpolación del valor S en la recta de regresión lineal entre los datos de aceptabilidad vs. valoración de calidad, como se observa en la Figura 1 para los tres países.

Para calcular la calidad de las muestras se emplearon los siguientes factores de ponderación (i): para color 0,05, apariencia 0,20, aroma 0,10, consistencia 0,05, sabor 0,25, textura 0,20 y sabor residual 0,15 (31-32), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$Q = \sum pci$$

Donde:

Q = Valoración total de calidad,

p_c = valor promedio de cada atributo,

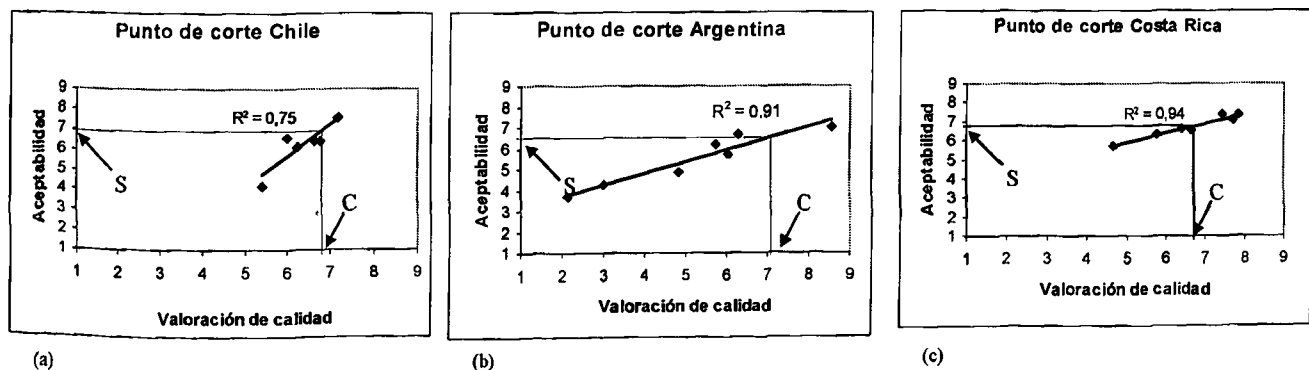
i = Factor de ponderación

Finalmente la regresión logística (31) fue usada para los datos de consumidores, correlacionando la proporción de aquellos que rechazaron la muestra vs. calidad. Este análisis fue calculado mediante la respuesta de los consumidores acerca de consumir las muestras evaluadas. También se correlacionaron los valores de punto de corte para cada país versus los porcentajes de rechazo de cada país.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1 (a) se presentan los resultados de la aceptabilidad de las muestras de yogurt evaluadas por los consumidores chilenos versus la calidad del panel sensorial chileno, la Figura 1 (b) para los yogures argentinos y la Figura 1 (c) para los yogures costarricenses. Según la Figura 1, los valores de punto de corte obtenidos fueron 6,8 para Chile, 6,7 para Costa Rica y 7,1 para Argentina, lo que significa que, los yogurt con valores de calidad inferiores a estos, podrían ser rechazadas por los consumidores. Si bien los valores de punto de corte fueron similares para los tres países, cabe destacar que, a nivel de la calidad sensorial, las muestras de yogurt costarricenses modificaron sus características de coloración y de sabor ácido y rancio y que las muestras de yogurt argentino desarrollaron acidez que produjo cambios en la textura, apariencia y sabores residuales. Las muestras de yogures chilenos fueron las que más estables, manteniendo su calidad sensorial, a través del tiempo de almacenamiento a 42°C, con pequeñas fluctuaciones en la acidez (Figura 3) y en los valores de pH (Figura 4).

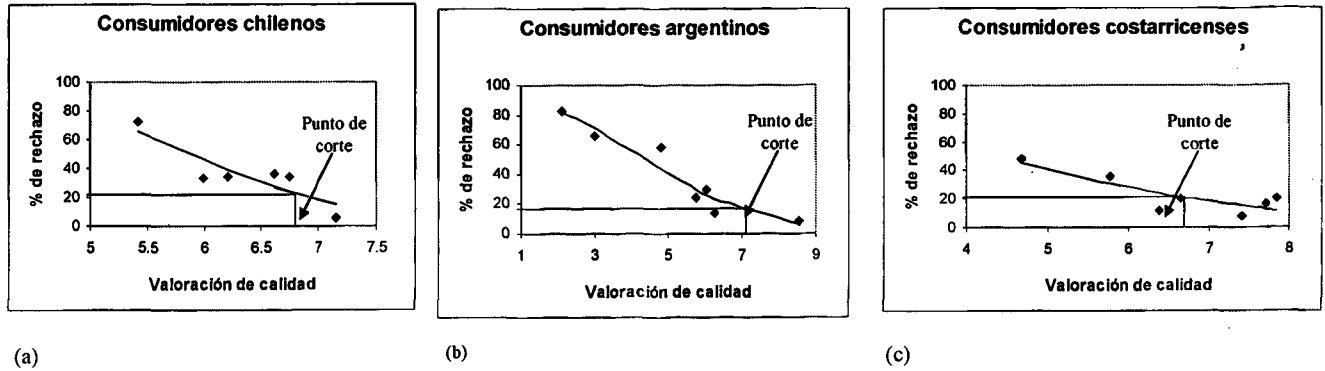
FIGURA 1
Punto de corte para los 3 países. S: aceptabilidad mínima; C: Punto de corte



En la Figura 2 se puede observar que los yogures de los 3 países presentaron similares porcentajes de rechazo. De acuerdo al punto de corte de cada país, aproximadamente un 20% de consumidores rechazan las muestras. Por lo tanto, si los

consumidores recibieran muestras con deterioro de calidad similares al punto de corte, un 20% de la población estarían rechazándolas.

FIGURA 2
Porcentajes de rechazo en función de la valoración de calidad



Se puede observar que las muestras que presentaron mayor deterioro, en cuanto a la calidad, fueron los yogures argentinos, debido a que fueron las que elevaron más su acidez a través del tiempo de almacenamiento a 42°C (ver Figura 3), por lo tanto fueron las muestras que presentaron menor aceptabilidad por parte de los consumidores. En el caso de Chile, aunque el coeficiente de regresión polinomial es bueno, se puede observar que la variación de los valores de

acidez desde la primera muestra hasta la última es menos acentuada que en el caso de las muestras argentinas. En el caso de Chile la acidez se mantuvo estable a través del tiempo, debido a que la subespecie láctica empleada en este yogurt (*Streptococcus bulgaricus thermophilus S*), acidifica hasta un determinado pH (4,2) el cual se mantiene hasta 30 días en condiciones de refrigeración (3-5°C).

FIGURA 3
Acidez titulable vs. tiempo de almacenamiento a 42° C

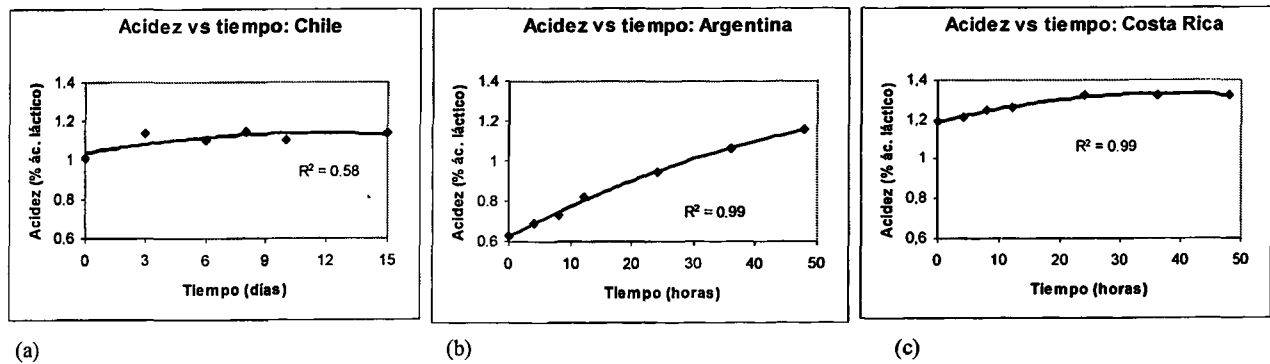
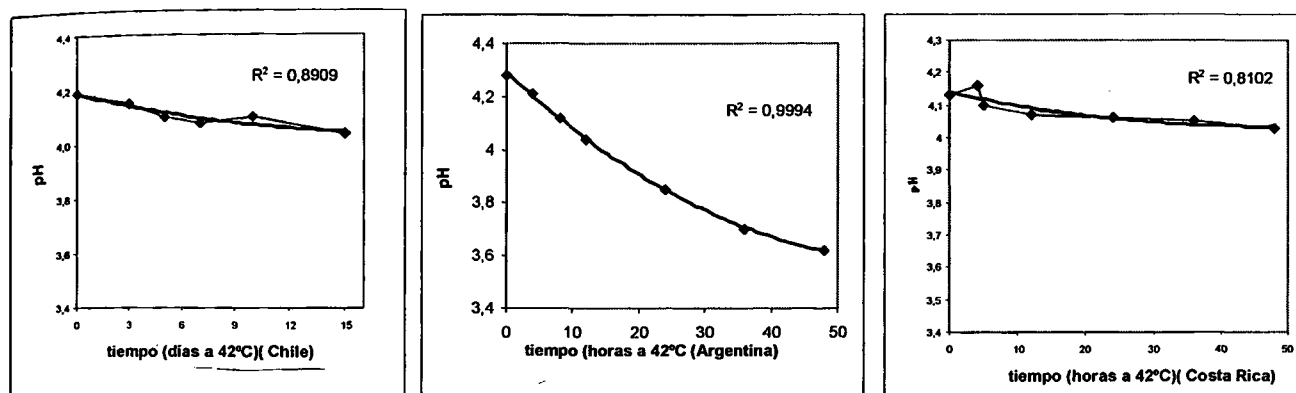


FIGURA 4
pH vs. tiempo de almacenamiento a 42°C



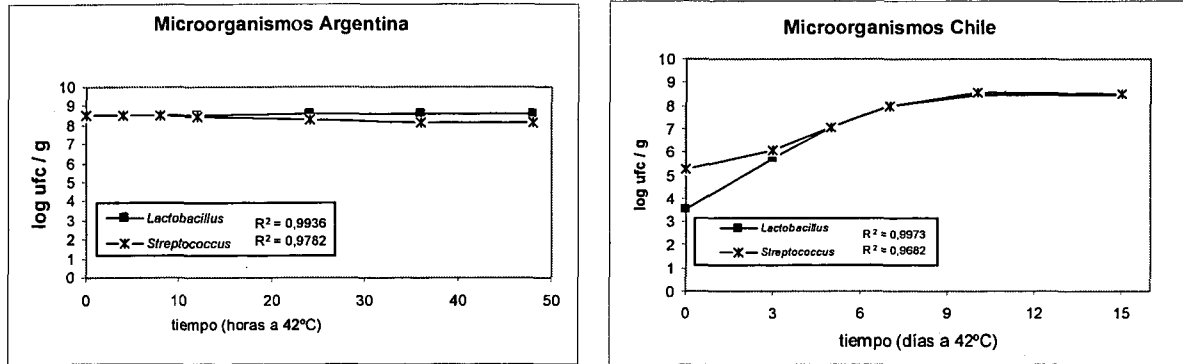
Con respecto a los controles microbiológicos realizados a los yogures chilenos, durante todo el período de incubación no se detectó presencia de enterobacterias ni de hongos y levaduras (Tabla 2), lo que estaría indicando la buena calidad sanitaria del producto estudiado. Acerca del recuento de *Lactobacillus* spp., en los tres primeros días de incubación fue bajo, considerando que la reglamentación vigente establece que en este tipo de productos los microorganismos lácticos deben estar en niveles sobre 10^6 ufc/g, lo que expresado como log ufc/g equivale a valores superiores a 6,0. Sin embargo ya al 5° día de incubación se alcanzan niveles que están de acuerdo a lo especificado anteriormente (Tabla 2).

El recuento de *Streptococcus* spp. fue bajo sólo a tiempo cero, observando en el resto del tiempo en estudio, valores acordes con la reglamentación vigente. Ambos tipos de bacterias lácticas tienden a estabilizarse entre los días 10 y 15 de incubación, permaneciendo en niveles de 10^8 ufc/g. (Figura 5). En el caso de los yogures argentinos, los recuentos de lactobacilos y estreptococos, se mantienen en los niveles encontrados al tiempo cero hasta las 48 horas de almacenamiento a 42° C (Figura 5). Las gráficas presentadas en la Figura 5 incluyen los valores de R² de la regresión polinomial realizada. Para los yogures de Costa Rica no se realizaron los controles microbiológicos.

TABLA 2
Controles microbiológicos de yogures chilenos durante el almacenamiento

Parámetro (log ufc/g)	Tiempo de incubación (días)					
	0	3	5	7	10	15
Rto Enterobacterias	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Rto. Hongos y levaduras	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Rto. <i>Lactobacillus</i> spp.	3,50 ± 0,32	5,73 ± 0,62	7,03 ± 0,37	7,95 ± 0,59	8,43 ± 0,17	8,43 ± 0,12
Rto. <i>Streptococcus</i> spp.	5,25 ± 0,44	6,08 ± 0,32	7,05 ± 0,90	8,00 ± 0,77	8,58 ± 0,45	8,50 ± 0,30

FIGURA 5
Calidad microbiológica vs. tiempo de almacenamiento a 42°C



CONCLUSIONES

La técnica de punto de corte empleada con la metodología sensorial de Karlsruhe han sido exitosas para determinar el valor de aceptabilidad en que los consumidores comienzan a percibir un cambio en relación a la muestra fresca. Se logró determinar a qué porcentaje de rechazo corresponden dichos puntos de corte.

Se aplicó esta técnica en tres países distintos que poseen formulaciones y estándares de alimentación diferentes con el fin de poder comparar las calidades de los yogures y la aceptabilidad de las poblaciones de cada país.

Si bien los puntos de corte obtenidos para los tres países fueron similares, las muestras de yogurt de los distintos países desarrollaron defectos sensoriales en distintas características, a diferentes tiempos de almacenamiento y a una misma temperatura (horas para Argentina y Costa Rica y días para Chile, a 42°C). Esta disparidad en el comportamiento de las muestras evidencia que los productos, a pesar de tener una misma denominación, corresponden a productos diferentes en su formulación y elaboración, la cual está supeditada a la diferente reglamentación vigente en cada país. Así por ejemplo, las condiciones de comercialización son también diferentes, por lo que la industria local debe satisfacer las necesidades de esa población y considerar las variables que definen la aceptación del producto en cada mercado objetivo.

REFERENCIAS

1. Wittig E, López L, Vilca R, Musso E, Oliver H. Vida útil de cecinas. Cecinas cocidas. *Fleischwirtschaft* 1988;2/88:27-30.
2. López L, Wittig E, Vilca R, Musso E, Oliver H. Vida útil de cecinas. Cecinas escaldadas. *Fleischwirtschaft* 1989;1/89:34-37.
3. López L, Wittig E, Vilca R, Musso E, Oliver H. Vida útil de cecinas. Cecinas crudas. *Fleischwirtschaft* 1989;2/89:34-37.
4. Oliver H, Musso E, Vilca R, Wittig E, López L. Estudio de perecibilidad de vienas, paté de hígado y longanizas. *Inf. Carnes y Prod. Carneos CTC # 13, Chile* 1986;159-177.
5. Wittig E, Bunge A, Soto D, Peñafiel K, López L, Cariaga L, Fuenzalida R, Gaete MC. Desarrollo de alimentos para ancianos. Preparados a base de carne. *Rev. Española de Nutrición Comunitaria* 1998;4(1):6-13.
6. Topp O., Wittig de Penna E., Bunge A., Soto D., Cariaga L., Cornejo E., Fuenzalida R. Desarrollo de alimentos para el Adulto Mayor. Pan fortificado. *Alimentos* 1994;19(1):18-28.
7. Gardiman G, Wittig de Penna E. Fideos enriquecidos con harina de lupino dulce desgrasada (*Lupinus albus* var. Multolupa). II. Aspectos de calidad, aceptabilidad y vida útil. *Rev Chil Nutr.* 1984;12(3):197-207.
8. Craddock M, Wittig E, López L, Martínez M. Estudio de vida útil de diferentes formulaciones de queques. *Alimentos* 1987;12(2):15-22.
9. Vera MT, Wittig de Penna E, Bunge A, Soto D, Cariaga L, Fuenzalida R, Cornejo E, López L, Araya H, Vera J. Crema de verduras instantánea para senescentes. *Alimentos* 1995;20(3-4):1-6.
10. Vera MS, Wittig de Penna E, Bunge A, Soto D, Cariaga L, Fuenzalida R, Cornejo E, López L. Desarrollo de productos para el adulto mayor. Budín enriquecido con vitaminas. *Arch Latinoamer Nutr.* 1995;45(1): 63-66.
11. Wittig de Penna E, Avendaño P, Bunge A, Soto D, Hernández N, Fuenzalida R. Caracterización sensorial y química de queques individuales enriquecidos con fibra dietética, vitaminas y minerales para el adulto mayor. *Arch Latinoamer Nutr.* 2003;53(1): 74-83.
12. Wittig de Penna E, Ibieta A, Bunge A, Soto D, López L. Alimentos para el adulto mayor: muffins enriquecidos con fibra de lupino. (capítulo 27) En : *Temas en Tecnología de Alimentos. Volumen II.* Editores FM. Lajolo y E. Wenzel de Menezes. Edit. IPN, México D.F. 1998.
13. Meilgaard M, Civille GV & Carr BT. *Sensory evaluation techniques*, 3rd edition. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 1999 ;pp.199, 222

14. Fritsch CW, & Vickers M. Shelf life of sunflower kernels. *J Food Sci.* 1997;62:425-428.
15. Shepherd R, Griffiths NM, Smith K. The relationship between consumer preferences and trained panel responses *J. Sensory Studies* 1988;3:19- 35.
16. Gacula, MC. The design of experiments for shelf life study. *J Food Sci.* 1975;(40):399-403.
17. Shirose L, Aguirre JM, Ferreira VLP. Application of a staggered experimental design to study of the shelf life of cassava flour enriched with soybean protein extraction residue. *Coletanea do Instituto de Tecnologia de Alimentos* 1978;9:313-334.
18. Pickering SC. Prediction and analysis of shelf life of an oat bran cereal. M.Sc..Diss. Univ. Minnesota, St. Paul 1984.
19. Wittinger S.A. y Smith D.E., () Effect of sweeteners and stabilizers on selected sensory attributes and shelf life of ice cream. *J. Food Sci.* 1986;51:1463- 1466.
20. Andujar G, Herrera H. The distribution of failure data for meat products. *Procc. European Meeting of Meat Research Workers Helsinki.* 1987;33(2):396- 398.
21. Tomasicchio M, Andreitti R, Pizzarolli P, Pezzani G. Application of the Weibull statistical model to the shelf life of some frozen foods. *Ind. Conserv.* 1989;64(2):102-109.
22. Schmidt K, Bruma J. Estimating shelf life of cottage cheese using hazard analysis. *J Dairy Sci.* 1992;75: 2922- 2927.
23. Duyvesteyn WS, Shimon E, Labuza TP. Determination of the end of shelf life for milk using Weibull hazard method. *Lebensm. Wiss. U Technol.* 1997;34(3):143-148.
24. Thiemig F, Buhr H, Wolf G. Characterization of shelf life and spoilage of fresh foods. First results with the Weibull hazard analysis. *Fleischwirtschaft* 1998;78:152-155.
25. Ramírez, G, Hough G. & Contarini A. Influence of temperature and light exposure on sensory shelf life of a commercial sunflower oil. *J. of Food Quality* 2001;24: 195-204.
26. ISO 7402:1993 (E). Microbiology – General guidance for the enumeration of Enterobacteriaceae without resuscitation – MPN technique and colony-count technique. 1993.
27. Food and Drug Administration (FDA). *Bacteriological Analytical Manual AOAC.* 8th Ed. 18.01-18.08. 1995.
28. American Public Health Association (APHA). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.* 2nd Ed. 1984.
29. Tamime y Robinson. *Yogur, Ciencia y Tecnología.* Editorial Acribia. España. 1991.
30. Paulus, K, Zacharias, R, Robinson L. Y Geidel H. "Kritische Betrachtungen zur bewertenden Prüfung mit Skale als einem wesentlichen Verfahren der sensorischen Analyse". *Lebensm. Wissensch. u. Technol.* 12. 1979.
31. Wittig de Penna E. "Evaluación Sensorial, una metódica que mide calidad. II. Evaluación de calidad mediante el test de valoración con escala de Karlsruhe". *Alimentos* 1981; 6(1): 25-31
32. Ibarra A, Wittig de Penna E, Àcha R, Callejas MT. Shelf life of two varieties of lactose -reduced yogurt with added *Lactobacillus rhamnosus* DR 20 (enviado a *J. Dairy Sci.*)
33. FIL-IDF (por sus siglas en ingles: International Dairy Federation) *International IDF Standard 99* (1981).
34. Hough G, Sánchez RH, Garbarini de Pablo G, Sánchez RG, Calderón Villaplana S, Giménez AM, Gámbaro A. Consumer acceptability versus trained sensory panel scores of powdered milk shelf-life defects. *J Dairy Sci.* 2002;85:2075-2080.
35. McConway KJ, Jones MC & Taylor PC. Chapter 9. Statistical modeling using Genstat. *Arnold Publishers London, U.K.* 1999.

Recibido: 05-05-2004

Aceptado: 24-01-2005

Effect of storage time on *in vitro* digestion rate and resistant starch content of tortillas elaborated from commercial corn masas

Edith Agama-Acevedo, Rodolfo Rendón-Villalobos, Juscelino Tovar, Sergio Rubén Trejo-Estrada and Luis Arturo Bello-Pérez

Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN, Yautepec, Morelos, México. Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del IPN, Unidad Puebla, Puebla, México

SUMMARY. Tortilla samples were elaborated by four small commercial factories in Mexico, employing masas prepared with the traditional nixtamalization process. Samples were stored at 4 °C for up to 72 hours and their chemical composition and *in vitro* starch digestibility features were evaluated. Chemical composition did not change with the storage time, but soluble carbohydrates decreased slightly during storage. A significant decrease in available starch content upon storage was observed, concomitant with increased resistant starch (RS) levels. These changes are possibly due to retrogradation. Retrograded resistant starch (RRS) values increased with storage time; in some samples, RRS represented more than 75% of total RS whereas in others it only accounted for 25%. The digestion rate (DR) in the freshly prepared tortillas was similar for the various samples, but after 72 h storage some differences among tortillas were found. Also, when a single tortilla sample was compared throughout the different storage times, lower DRs were determined in samples subjected to prolonged storage, which is related to the concomitant increase in RRS. The differences found among the various tortilla samples may be due to minor variations in the commercial processing conditions and to the use of different corn varieties.

Keywords: Com, texture, tortillas, resistant starch, starch digestibility.

RESUMEN. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de almidón resistente y la tasa de digestión *in vitro* de tortillas elaboradas con masas comerciales de maíz. Se elaboraron tortillas utilizando masa a partir de cuatro tortillerías, la cual fue obtenida mediante el proceso tradicional de nixtamalización. Las muestras fueron almacenadas a 4 °C hasta por 72 h y se determinó su composición química y digestibilidad del almidón *in vitro*. La composición química no cambió con el tiempo de almacenamiento, pero los carbohidratos solubles disminuyeron ligeramente durante el almacenamiento. Se observó que el contenido de almidón disponible disminuyó y el almidón resistente (AR) se incrementó con el tiempo de almacenamiento. Estos resultados se deben posiblemente a la retrogradación del almidón. Los contenidos de almidón resistente retrogradado (ARR) se incrementaron con el tiempo de almacenamiento; en algunas muestras el ARR representó más del 75 % del AR total y en otras muestras fue sólo el 25 %. La velocidad de digestión (VD) en las tortillas recién elaboradas fue similar, pero se encontraron diferencias significativas entre las tortillas almacenadas por 72 h. Al comparar las VDs de las tortillas a los diferentes tiempos, se encontró que disminuyeron significativamente con el tiempo de almacenamiento, lo cual está relacionado con el incremento en el contenido de ARR. Las diferencias determinadas en las tortillas pueden deberse a variaciones en las condiciones del proceso de nixtamalización que usa cada tortillería así como la variedad de maíz utilizada.

Palabras clave: Maíz, textura, tortillas, almidón resistente, digestibilidad del almidón.

INTRODUCTION

The nixtamalization of corn is an ancient process developed by the Mesoamerican civilizations and is still utilized in the production of "tortillas" and other corn related food products (i.e., pozole). The corn grains are cooked with alkali (i.e. lime) and steeped, in a process known as nixtamalization. After grinding and washing the "nixtamal" (i.e., alkaline-cooked corn grains) a soft dough, known as "masa", is obtained. The

"masa" is a mixture constituted by starch polymers, mixed with partially gelatinized starch granules, intact starch granules, pieces of endosperm, and lipids. All these components develop a complex heterogeneous network in a continuous water phase (1). "Masa" is used in the production of tortillas, which are the principal staple food in the Mexican diet, representing the main source of carbohydrates and calcium (2). Nowadays, table tortillas are highly popular in the United States and, to some extent, also in Canada and some

European countries (3).

The nixtamalization process produces changes that improve the nutritional quality of tortillas. Many studies have been conducted on nutritional aspects of nixtamalized corn, but very few studies have been carried out on the bioavailability of its carbohydrate constituents (4). Carbohydrates represent the main fraction of cereal grains, accounting for up to 50-70 % of the dry matter; of these, starch and non-starch polysaccharides (dietary fiber) are the main constituents. Besides, being a major plant metabolite, starch is also the dominating carbohydrate in the human diet (5,6). Current knowledge on nutritional features of starch indicates that the bioavailability of the polysaccharide in foods may vary widely (7). Hence, a nutritional classification of dietary starch has been proposed, which takes into account both the kinetic component and the completeness of its digestibility, thus comprising rapidly digestible, slowly digestible and indigestible – or resistant- fractions (8). The resistant starch (RS) is defined as the sum of starch plus the products of starch degradation not absorbed in the small intestine of healthy individuals (9). The main classification of RS has been proposed by Englyst *et al.* (8); it is based both on the nature of the starch and its environment in the food. RS1 corresponds to physically inaccessible starches, entrapped in a cellular matrix, as in legume seeds (10). RS2 are native uncooked granules of starch, such as raw potato or banana starches, whose crystallinity makes them scarcely susceptible to hydrolysis (11,12). RS3 are retrograded starches, which may be formed in cooked foods that are kept at low or room temperature (13). It has been proposed that both the rate and extent of starch digestion, and therefore the RS content of foods, will affect a number of physiological functions and thus will have different effects on health, e.g. reduction of the glycemic and insulinemic response to a food, hypocholesterolemic effects and protective action against colorectal cancer (14-17). Among the factors affecting the rate and extent of starch digestion, food processing, storage time and botanical origin of the food have a major importance. Starch in raw foods is not easily digested, exhibiting variable levels of RS2 fractions. However, during cooking, starch is gelatinized and rendered available, although a fraction of this available starch retrogrades upon cooling and becomes resistant to enzymatic digestion (RS3) (5,14,18,19). Gelatinized starch gels are thermodynamically unstable structures and, on cooling, reassociation of the starch molecules may occur. The ability of starch chains to form ordered structures in pastes, gels and baked foods during storage, a process often described by the term “retrogradation”, greatly influences the texture and shelf-life of these products (20).

In a previous study (4), experimental tortillas were prepared from laboratory-nixtamalized corn, using standardized

conditions throughout the whole process. Such materials were evaluated in terms of their *in vitro* starch digestibility. The objective of the present study was to evaluate the influence of storage on the “*in vitro*” digestibility of starch in tortilla made at the traditional commercial level in Mexico, which is more representative of the currently consumed food.

MATERIALS AND METHODS

Sample preparation: “Masas” were purchased from four small factories (A, B, C and D) called “tortillerias”, in Yautepec, Mexico, and brought immediately to the laboratory, always kept at temperatures between 28 and 32°C. These masas were obtained according to the traditional method to produce nixtamal, which shows minor differences among the different “tortillerias”; such variations relate mainly to the length of the steeping step (4). Once in the laboratory, the masa was quickly molded by pressure and extruded into thin circles to obtain 1mm-thick “tortillas”. Tortillas were baked in a home gas fired oven (Hotpoint, 6B4411LO, Leisser S.A. de C.V., San Luis Potosí, México) for 1 min per side, at an approximate temperature of 250°C. After cooling, tortilla samples were either processed for analysis (control tortillas) or packed into poly-ethylene bags (20 X 30 cm, Plásticos de México, S.A. de C.V., México) and stored for 24, 48 and 72 h at 4°C. After baking (control) or following the corresponding storage period, samples were frozen in liquid nitrogen, freeze-dried and stored at room temperature in sealed plastic containers. In the case of stored tortillas, before freeze-drying, samples were placed in an oven (30 s each side), at an approximate temperature of 250°C, cooled down to 30°C, a procedure that resembles the domestic reheating applied to cold-stored tortillas.

Chemical composition: Moisture content was determined gravimetrically ($130 \pm 2^\circ\text{C}$ for 2 h) using between 2-3 g of ground sample (sieved through 50 U.S. mesh). Ash, protein and fat were analyzed according to AACC(21) methods 08-01, 46-13, and 30-25, respectively (21). Soluble carbohydrates were determined as follows: a sample dispersion in deionized water (1% wt/wt, neutral pH) was prepared in a flask and then heated in a boiling water bath for 30 min with stirring every 5 min. The slurry was then centrifuged (5000 x g/10 min) and the supernatant volume measured. Total soluble carbohydrates were determined by colorimetry in aliquots of the supernatant (22).

***In vitro* digestibility tests:** Total starch was determined using the method of Goñi *et al.* (23). Potentially available starch content was assessed following the multienzymatic protocol of Holm *et al.* (24) using Termamyl® (Novo A/S, Copenhagen) and amyloglucosidase (Boehringer, Mannheim). Resistant starch was measured by two different protocols: 1) Retro-

graded resistant starch (RRS or RS3) content was measured as starch remnants in dietary fiber residues, according to the so called "Lund method" as modified by Saura-Calixto *et al.* (25,2) The method proposed by Goñi *et al.* (26) was employed to estimate the total amount of indigestible starch (comprising RS2, RS3 and part of RS1 fractions). The *in vitro* rate of hydrolysis was measured using hog pancreatic amylase, according to Holm *et al.* (27); each assay was run with 500 mg available starch.

Statistical analysis: A randomized complete design with three replications was used to analyze changes during tortilla storage. Data were analyzed using one-way Analysis of Variance (ANOVA) procedures. Where analysis showed significant differences ($p < 0.05$), means were compared using Tukey's tests at a level a significance of 0.05. Statistical analyzes were run using the computer SPSS V. 6.0 (software (SPSS Institute Inc., Cary NC) (28).

RESULTS

Chemical composition

The chemical composition of tortillas is presented in Table 1. In general, moisture content in the same kind of tortilla did

not change with the storage time; confirming that the polyethylene bags where the tortillas were stored restricted water losses. Protein concentration did not change significantly ($P \leq 0.05$) with storage time. The highest values were recorded in sample A and the lowest ones in sample C. Ash content in tortillas did not change with the storage time nor with the masa source. Fat content in tortillas A and D had a slight decline with storage time, but samples B and C did not show changes in fat values. Soluble carbohydrates decreased with the storage time; samples A and B showed the highest values whereas C and D exhibited the lowest ones.

Total starch

The values of total starch content (TS) are presented in Table 2. Freshly cooked sample B showed the highest values and the A tortillas the lowest ones.

Available starch

The values of available starch (AS) in the tortillas analyzed ranged between 67.04 and 76.04% (Table 2). In all samples, AS values decreased with storage time. Such a tendency was more evident than in the case of TS.

TABLE 1
Chemical composition of tortillas

Simple/Storage (h)	Moisture ¹	Protein ^{2,3}	Ash ²	Fat ²	Soluble Carbohydrates ²
A					
0	9.41 ± 0.05 ^a	9.17 ± 0.40 ^a	1.47 ± 0.05 ^{a,b,c}	3.32 ± 0.08 ^a	38.33 ± 0.70 ^a
24	9.98 ± 0.22 ^b	9.58 ± 0.14 ^a	1.45 ± 0.08 ^{a,b,c}	2.95 ± 0.05 ^b	35.69 ± 0.85 ^b
48	9.61 ± 0.37 ^b	9.56 ± 0.05 ^a	1.45 ± 0.05 ^{a,b,c}	3.00 ± 0.08 ^b	33.94 ± 0.95 ^b
72	9.69 ± 0.11 ^b	9.12 ± 0.20 ^a	1.51 ± 0.17 ^{b,c}	3.28 ± 0.27 ^c	29.23 ± 0.25 ^c
B					
0	8.33 ± 0.19 ^c	8.97 ± 0.20 ^{a,b}	1.61 ± 0.05 ^{b,c}	3.23 ± 0.16 ^{a,c}	45.45 ± 1.11 ^d
24	8.68 ± 0.15 ^d	8.61 ± 0.12 ^b	1.48 ± 0.15 ^{b,c}	3.24 ± 0.19 ^c	40.19 ± 0.45 ^e
48	8.56 ± 0.17 ^{c,d}	8.99 ± 0.22 ^{a,b}	1.63 ± 0.00 ^{b,c}	3.43 ± 0.00 ^c	39.60 ± 0.93 ^{a,c}
72	8.48 ± 0.05 ^{c,d}	9.07 ± 0.00 ^a	1.60 ± 0.00 ^{b,c}	3.40 ± 0.19 ^c	39.21 ± 0.46 ^{a,c}
C					
0	9.64 ± 0.03 ^b	8.05 ± 0.23 ^c	1.67 ± 0.00 ^{b,c}	3.97 ± 0.00 ^d	28.47 ± 0.67 ^c
24	10.38 ± 0.10 ^{e,f}	7.90 ± 0.00 ^c	1.66 ± 0.00 ^{b,c}	4.10 ± 0.05 ^c	26.55 ± 0.69 ^f
48	9.60 ± 0.11 ^b	8.64 ± 0.19 ^{a,b}	1.67 ± 0.00 ^{b,c}	4.38 ± 0.23 ^e	24.70 ± 0.54 ^g
72	10.06 ± 0.40 ^{e,f}	8.63 ± 0.12 ^{a,b}	1.71 ± 0.07 ^{b,c}	4.19 ± 0.00 ^c	23.41 ± 0.67 ^h
D					
0	10.14 ± 0.55 ^f	8.79 ± 0.23 ^{a,b}	1.56 ± 0.23 ^c	3.15 ± 0.18 ^a	30.80 ± 0.47 ⁱ
24	9.63 ± 0.57 ^b	8.77 ± 0.11 ^{a,b}	1.55 ± 0.18 ^{b,c}	2.75 ± 0.08 ^g	30.43 ± 0.35 ^{i,j}
48	9.53 ± 0.20 ^b	8.77 ± 0.11 ^{a,b}	1.48 ± 0.00 ^{a,b,c}	2.86 ± 0.08 ^{b,g}	30.04 ± 0.53 ⁱ
72	9.70 ± 0.28 ^b	9.39 ± 0.30 ^a	1.51 ± 0.15 ^{a,b,c}	2.85 ± 0.00 ^h	29.86 ± 0.28 ^j

¹ Means of three replicates ± standard error ($n = 9$ determinations).

² Means of three replicates ± standard error, dry weight basis ($n = 9$ determinations).

³ $N \times 5.85$.

Values followed by the same letter in the same column (all samples) are not significantly different ($P \leq 0.05$)

TABLE 2
Total Starch (TS), Available Starch (AS), Total Resistant Starch (RS) and Retrograded Resistant Starch (RRS) in tortillas¹

Simple/Storage (h)	TS (%)	AS (%)	RS (%) ²	RRS (%) ³
A				
0	74.79 ± 0.54 ^a	74.42 ± 0.58 ^a	1.36 ± 0.17 ^a	1.06 ± 0.10 ^a
24	74.05 ± 0.27 ^a	73.34 ± 0.49 ^b	1.75 ± 0.17 ^b	1.21 ± 0.11 ^a
48	72.73 ± 0.21 ^b	72.81 ± 0.42 ^b	2.18 ± 0.20 ^c	1.45 ± 0.10 ^b
72	72.13 ± 0.63 ^b	67.38 ± 0.43 ^{c,e}	2.70 ± 0.04 ^d	1.74 ± 0.11 ^c
B				
0	79.73 ± 0.26 ^c	70.45 ± 0.46 ^{d,g}	2.39 ± 0.25 ^c	0.88 ± 0.10 ^a
24	78.81 ± 0.35 ^d	69.79 ± 0.64 ^{d,g}	2.47 ± 0.17 ^c	1.33 ± 0.12 ^b
48	77.04 ± 0.37 ^e	67.71 ± 0.49 ^{c,e}	3.28 ± 0.31 ^e	1.61 ± 0.10 ^{b,c}
72	76.37 ± 0.50 ^e	67.20 ± 0.71 ^e	4.18 ± 0.15 ^f	2.13 ± 0.12 ^d
C				
0	76.04 ± 0.31 ^e	76.04 ± 0.64 ^f	1.94 ± 0.19 ^{b,c}	1.18 ± 0.10 ^a
24	75.03 ± 0.45 ^{ac}	75.13 ± 0.63 ^{af}	2.34 ± 0.12 ^c	1.44 ± 0.10 ^b
48	72.24 ± 0.34 ^b	72.64 ± 0.87 ^b	2.56 ± 0.16 ^d	1.65 ± 0.10 ^{b,c}
72	72.57 ± 0.46 ^b	70.35 ± 0.99 ^g	2.92 ± 0.12 ^e	2.22 ± 0.10 ^d
D				
0	76.30 ± 0.44 ^e	70.10 ± 0.39 ^{d,g}	3.05 ± 0.20 ^e	0.67 ± 0.10 ^e
24	76.29 ± 0.31 ^e	69.96 ± 0.42 ^{d,g}	3.02 ± 0.21 ^e	1.16 ± 0.10 ^a
48	76.22 ± 0.45 ^e	68.03 ± 0.44 ^{c,e}	2.97 ± 0.19 ^e	1.32 ± 0.08 ^b
72	76.02 ± 0.46 ^{ac}	67.04 ± 0.41 ^{c,e}	3.12 ± 0.27 ^e	1.57 ± 0.08 ^{b,c}

¹ Dry basis ² Using method of Goñi *et al* (26) ³ Using method of Saura-Calixto *et al* (25)

Means of three replicates ± standard error, dry basis ($n = 9$ determinations).

Values followed by the same letter in the same column are not significantly different ($P \leq 0.05$).

Resistant starch

In general, total resistant starch (RS) values in tortilla samples A, B and C increased with storage time; this in accordance with the fact that tortillas were cold stored, thus favoring the retrogradation phenomenon (RRS). However, since RS in D tortillas did not change upon storage (Table 2); corn varietal differences may again be important for this characteristic.

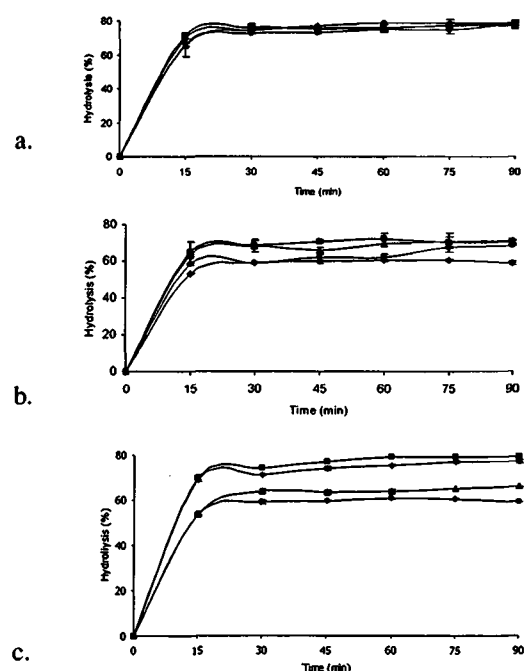
Rate of enzymatic starch hydrolysis

The *in vitro* α -amylolysis reaction of tortillas is represented in Figure 1. The control samples (0 h of storage, Fig. 1a) did not show differences at the different hydrolysis times. Starch in tortillas was rapidly hydrolyzed by pancreatic amylase, as 70% of the polysaccharide in the samples was digested in 15 minutes.

DISCUSSION

Differences were found in moisture level among the different tortilla samples, which may be due to either corn variety or, more likely, to variations in the nixtamalization process, as all tortillas were cooked under the same temperature and time conditions. Rendón-Villalobos *et al.* (4) reported moisture content (between 6.90 and 7.80%) in tortillas stored

FIGURE 1



In vitro starch hydrolysis of Tortillas (a, 0 hr, control samples ■), Tortilla A: ♦, Tortilla B: ▲, Tortilla C: ●, Tortilla D. (b, 72 hr of storage): ■, Tortilla A; ♦, Tortilla B; ▲, Tortilla C; ●, Tortilla D. (c) Tortilla B: (■) at 0 hr, (♦) at 24 hr, (▲) at 48 hr, (●) at 72.

during different times and freeze dried values that were lower than those found in this study. However, they found increased moisture levels at the longest storage times. The differences found in protein content among the tortillas prepared with masas from different "tortillerias" may be attributed to perceived differences in corn variety and the process for "masa" preparation used in each "tortilleria"; as a matter of fact, Méndez-Montealvo et al. (unpublished data) found protein values that ranged between 8.2 and 11.2% in raw samples of twenty corn varieties cultivated in Mexico. Similarly, Rendón-Villalobos et al. (4) reported protein values (7.35-7.84%) in tortillas; levels that did not change with storage time ($P \leq 0.05$). Ash content usually does not vary with the nixtamalization process (29,30). The ash values ranged between 1.45 and 1.71%, which were similar to those reported by Méndez-Montealvo et al. (unpublished data) in raw corn (1.1-1.7%), and by Rendón-Villalobos et al. (4) for tortillas (1.55-1.59%). These values are in agreement with the fact that lime concentration used in the nixtamalization process applied to the different samples was rather similar. The differences determined in fat values may be also attributable to the corn variety and conditions prevailing during nixtamalization process. Méndez-Montealvo et al. (unpublished data) determined fat content in raw corn varieties between 4.0 and 7.0%, which is lower than those found by Rendón-Villalobos et al. (4) (2.40-2.61%) in tortillas stored at different times. There is no clear explanation for the soluble carbohydrate pattern, although it might be due in part to the retrogradation phenomenon, as crystalline structures are formed during storage, resulting in decreased starch solubilization. However, leaching of partly hydrolyzed starch fractions during grain nixtamalization cannot be ruled out.

Variations in TS among the diverse tortilla samples may be explained by the corn variety used for the masa preparation in each "tortilleria". Regarding the storage impact, in general, TS values showed only minor decay with time; the exception was tortilla sample D, the TS level of which remained constant. To the best of the authors' knowledge, there are no published data on TS content in corn tortillas.

The reduction in AS content during storage may be explained by the formation of resistant starch due to the retrogradation phenomenon that takes place when a cooked starch product is cold-stored (8). The tortilla sample B exhibited the highest difference between TS and AS, whereas A and C presented the lowest one. Thus, when stored, the latter samples seem to contain smaller amounts of indigestible starch fractions. Differences in TS-AS values among the diverse tortillas may reflect differences in corn variety and nixtamalization process, since there is appreciable variation in AS measured in twenty Mexican corn hybrids and varieties (unpublished data). It is therefore important to make the appropriate choice of corn variety for obtaining major or minor

AS content in tortillas. According to Rendón-Villalobos et al. (4), AS values in tortillas ranged between 72.92 and 70.97, and they tended to decrease during cold storage.

The AS value variability recorded among tortillas elaborated with the different masas may also be related to corn variety or nixtamalization conditions, specially in the steeping time or nixtamal washing which, in addition to an important removal of fibrous material (31), may as well result in RS reduction. Tortillas A and B showed the highest variation in RS with storage time, as the "fresh" control samples contained 1.36% and 2.39%, respectively, but after 72 h values rose to 2.70% and 4.18%, which represents a relative increase of 98% and 75%, respectively. For tortilla C, the RS values changed from 1.94 (t=0h) % to 2.97 % (t=72h), i.e., a relative increase of 50 %. These data may have interesting implications, as tortillas bought from different "tortillerias" are likely to have different RS levels and, presumably, different structural firmness. In general, the A, C and D tortillas exhibited lower RS values than those determined in laboratory-made tortillas (3.12-3.87%) (4); corn botanical type and nixtamalization conditions may play an important role in this behavior. Such a raise in RS during cold storage is consistent with the recorded AS decrease after 72 hours (Table 2). Wet thermal treatment followed by cooling and storage produces retrograded resistant starch (RRS), as reported for corn flour (32) and for various starch gels (33,34). The formation of retrograded starch requires dehydration of the gelatinized sample (5,33), a phenomenon that is likely to take place when tortillas are baked, at approximately 250°C, and cooled. It should be mentioned that the additional heating/cooling step applied to tortillas before analyses, probably influenced present results, but this condition is also valid for the product "as eaten".

It is noteworthy that RS and RRS values in 72h-stored C tortilla are similar (Table 2); a fact that suggests most indigestible starch in this sample consists of retrograded fractions. Appreciable differences between RS and RRS levels were registered for the remaining 72h-stored samples, which indicates that RS2, and perhaps some RS1, are also present in these materials.

A RRS value of 2.5% was determined in tortillas immediately elaborated and analyzed (2); a value that was higher than those reported here. It has been mentioned that during baking, heat treatment promotes the interaction of starch with other corn components, making it less accessible to enzyme hydrolysis; the tortilla making process appears largely responsible for the recorded changes in indigestible starch levels. RRS values between 2.2% and 2.9% were determined in tortillas stored for 2, 24, 48 and 72 h, either at room or refrigeration temperature, without appreciable differences at both temperatures (35). Hence, the tortilla-making process may be considered a suitable way to increase

resistant starch levels in corn-based products.

Rendón-Villalobos *et al.* (4) determined RRS values for stored tortillas between 1.06 and 1.84%, similar to here reported ones. However, they are lower than those reported by Campas-Baypoli *et al.* (2,35). This apparent discrepancy may be consequence of the accuracy differences existing among resistant starch methods of analysis (7), although the impact of varietal or processing conditions cannot be ruled out.

The high hydrolysis rate (70% of starch was digested during the first 15 minutes) was also observed by Tovar *et al.* (36), and is an indicator of the effective gelatinizing effect of nixtamalization and tortilla making on corn starch. For the 72 h-stored materials (Fig. 1b), on the other hand, differences were found among tortillas elaborated with diverse masas; in fact, B and D tortillas did not show differences ($p < 0.05$) between 30 and 60 min hydrolysis time, with constant values (approximately 70% of hydrolysis) after 30 min. However, at 75 min the A, C and D tortillas behaved similarly. B tortilla had the lowest digestion index at 15 min and the hydrolysis values remained constant during the experiment (approximately 58%). When the behavior of this tortilla sample was compared along the different storage times (Fig. 1C), two groups were described: a) fresh tortillas and those stored for 24 h had the greatest hydrolysis rates, with values (approximately 70%) that did not change along most of the reaction time, and b) tortillas kept for 48 and 72 h displayed a similar pattern, with constant hydrolysis degrees (of approximately 60%). Hence, present results suggest that longer storage times increase RS contents (Table 2) and produce a concomitant decrease in hydrolysis rates.

CONCLUSIONS

No change was observed in moisture content in tortillas stored for different times, which is likely due to the restricted water-losses occurring in the poly-ethylene containers used. Protein, lipids and ash contents did not change with storage time, but protein and ash contents in tortillas were similar to those reported in raw corn, but lower lipid values were determined, which may be related to solubilization during nixtamalization and nixtamal washing. Decreased available starch and slightly augmented resistant starch (RS) levels were recorded upon cold-storage. However, retrograded resistant starch (RRS) content was variable in the different tortillas; in some samples RRS represents more of 70% of RS, whereas in others it only accounts for approximately 25%. α -amylolysis rates of stored samples tended to decrease at prolonged (72h) storage times. The differences found in starch bioavailability in tortillas may be mainly due to both corn variety and nixtamalization conditions used in each tortilleria for masa preparation. In general, hydrolysis rate fell as storage time

increased, this pattern relates to RRS formation during tortilla storage.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to acknowledge the economic support from CGPI-IPN and COSNET. Technical assistance of Tech. Juan Alcantar and Tech. Teresa Rodríguez is gratefully acknowledged.

REFERENCES

1. Gomez MH, Rooney LW and Waniska RD. Dry corn masa flours for tortilla and snack food. *Cereal Foods World* 1987;32:372-377.
2. Campas-Baypoli ON, Rosas-Burgos EC, Torres-Chávez PI, Ramírez-Wong B and Serna-Saldívar SO. Physicochemical changes of starch during maize tortilla production. *Starch/Stärke* 1999;51:173-177.
3. Yau JC, Waniska RD and Rooney LW. Effects of food additives on storage stability of corn tortillas. *Cereal Foods World* 1994;39:396-402.
4. Rendón-Villalobos JR, Bello-Pérez LA, Osorio-Díaz P, Tovar J and Paredes-López O. Effect of storage time on in vitro digestibility and resistant starch content of nixtamal, masa and tortilla. *Cereal Chem* 2002;79:340-344.
5. Björck IM, Granfeldt Y, Liljeberg H, Tovar J and Asp NG. Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:699S-705S.
6. Skrabanja V, Liljeberg HM, Hedley CL, Kreft I and Björck IME. (1999). Influence of genotype and processing on the in vitro rate of starch hydrolysis and resistant starch formation in peas (*Pisum sativum* L.). *J Agric Food Chem* 1999;47:2033-2039.
7. Tovar J. Métodos para la determinación de almidón resistente en los alimentos. In: *Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos* (edited by F.M. Lajolo, F. Saura-Calixto, E. Wittig de Penna, and E.W. Menezes). Sao Paulo: Varela Ltd. Press. 2001 Pp.143-154.
8. Englyst HN, Kingman SM and Cummings JH. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr* 1992;46 (Suppl. 2) S33-S50.
9. Asp NG. Resistant starch. Proceedings from the second plenary meeting of EURESTA. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46 (Suppl.2), SI.
10. Tovar J, Björck IM and Asp NG. Incomplete digestion of legume starches in rats: A study of precooked flours containing retrograded and physically inaccessible starch fractions. *J Nutr* 1992;122:1500-1507.
11. Englyst HN and Cummings JH. Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. *Am J Clin Nutr* 1987;45:423-431.
12. Faisant N, Gallant DJ, Bouchet B and Champ M. Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *Eur J Clin Nutr* 1995;49:98-104.

13. Noah L, Guillon F, Bouchet B, Buleon A, Molis C, Gratas M and Champ M. Digestion of carbohydrate from white beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in healthy humans. *J Nutr* 1998;128:977-85.
14. Asp NG, Van Amelsvoort JMM and Hautvast JGAJ. Nutritional implications of resistant starch. *Nutr Res Rev* 1996;9:1-31.
15. Cassidy A, Bingham SA and Cummings JH. Starch intake and colorectal cancer risk: an international comparison. *Brit J Cancer* 1994;69:937-942.
16. De Deckere EAM, Kloots WJ and Van Amelsvoort JMM. Both raw and retrograded starch decrease serum triacylglycerol concentration and fat accretion in the rat. *Brit J Nutr* 1995;73:287-289.
17. Jenkins DJA, Wolever TMS, Collier GR, Ocana A, Rao AV, Buckley G, Lam Y, Mayer A and Tompson LU. Metabolic effects of a low-glycemic-index diet. *Am J Clin Nutr* 1987;46:968-975.
18. Bravo L, Siddhuraju P, and Saura-Calixto F. Effect of various processing methods on the in vitro starch digestibility and resistant starch content of indian pulses. *J Agric Food Chem* 1998;46, 4667-4674.
19. Snow P, and O'Dea K. Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in food. *Am J Clin Nutr* 1981;34, 2721-2727.
20. Biliaderis CG. The structure and interactions of starch with food constituents. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69, 60-78.
21. American Association of Cereal Chemists (A.A.C.C). Approved Methods of the AACC. St. Paul, MN. 2000
22. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, and Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 1956; 28, 350-356.
23. Goñi I, Garcia-Alonso A, and Saura-Calixto F. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutr Res* 1997;3, 423-433.
24. Holm J, Bjorck I, Drews A, and Asp NG. A rapid method for the analysis of starch. *Starch/Stärke* 1986; 38, 224-229.
25. Saura-Calixto F, Goñi I, Bravo L, and Mañas E. Resistant starch in foods: Modified method for dietary fiber residues. *J Food Sci* 1993;58, 642-645.
26. Goñi I, Garcia-Diaz L, Mañas E, and Saura-Calixto F. Analysis of resistant starch: A method for foods and food products. *Food Chem* 1996;56, 445-449.
27. Holm J, Bjorck I, Asp NG, Sjöberg LB, and Lundquist I. Starch availability in vitro and in vivo after flaking, steam-cooking and popping of wheat. *J Cereal Sci* 1985;3, 193-200.
28. SPSS para Windows. Programación y Análisis Estadístico. México: Mc-Graw Hill. 1996.
29. Saldaña G, and Brown HE. Nutritional composition of corn and flour tortillas. *J Food Sci* 1984; 49, 1202-1203, 1205.
30. Flores-Farias R, Martínez-Bustos F, Salinas-Moreno Y, and Rios E. Characterization of comercial nixtamalized flours. *Agrociencia* 2002;36, 557-567.
31. San Martín-Martínez E, Jaime-Fonseca MR, Martínez-Bustos F, and Martínez-Montes JL. Selective nixtamalization of fractions of maize grain (*Zea mays* L.) and their use in the preparation of instant tortilla flours analyzed using response surface methodology. *Cereal Chem* 2003;80, 13-19.
32. García-Alonso A, Goñi I, Jiménez-Escrig A, Martín-Carrón N, Bravo L, and Saura-Calixto F. Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. *Food Chem* 1999;66, 181-187.
33. Fredriksson H, Björck I, Andersson R, Liljeberg H, Silverio J, Eliasson AC, and Aman P. Studies on α -amylase degradation of retrograded starch gels from waxy maize and high-amylopectin potato. *Carbohydr Polym* 2000;43, 81-87.
34. Tovar J, Melito C, Herrera E, Rascón A and Pérez E. Resistant starch formation does not parallel syneresis tendency in different starch gels. *Food Chem* 2002;76, 455-459.
35. Campas-Baypoli ON, Rosas-Burgos EC, Torres-Chávez PI, Ramirez-Wong B, and Serna-Saldívar SO. Physicochemical changes of starch in Maize tortillas during storage at room and refrigeration temperatures. *Starch/Stärke* 2002;54, 358-363.
36. Tovar J, Sáyago-Ayerdi S, Peñalver C, Paredes-López O, and Bello-Pérez, LA. In Vitro Starch Hydrolysis Index and Predicted Glycemic Index of Corn Tortilla, Black Beans and Mexican "taco". *Cereal Chem* 2003;80, 533-535.

Recibido: 25-06-2004

Aceptado: 24-01-2005

Caracterización sensorial y química de la calidad de tés (*Thea sinensis*) consumidos en Chile

Emma Wittig de Penna, María José Zúñiga, Regina Fuenzalida, Reinaldo López-Planes

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile, Santiago, Chile.
Universidad Vicente Pérez Rosales. Santiago. Chile

RESUMEN. Mediante análisis descriptivo cualitativo, se caracterizaron cuatro variedades de té (*Thea sinensis*): Té argentino Orange Pekoe (OP) (negro), Té Brasil OP (negro), Té Ceilán OP (negro) y Té Darjeeling OP (verde). La apariencia de las hojas secas de té se caracterizaron cualitativamente, comparándolas con hojas secas estándares. Se evaluó: color, forma y regularidad de las hojas, presencia de fibra y de estacas. Las diferencias obtenidas, se relacionaron con las diferencias producidas por efecto del proceso de fermentación del té. Los licores de té se caracterizaron en base a descriptores de sabor y aroma generados por un panel sensorial entrenado. El color y la astringencia se cuantificaron por medio de una escala lineal no estructurada, comparando con estándares calificados. Con el fin de relacionar el análisis sensorial y la composición química de las distintas variedades de té, se hicieron las determinaciones de humedad, materia seca, extracto acuoso, taninos y cafeína. Se definió el color en función de la materia seca, extracto acuoso y taninos y la astringencia en función del extracto acuoso, materia seca y humedad. El Análisis de Varianza de 3 factores: muestras, jueces, repeticiones señaló que se diferenciaron significativamente 4 grupos de té para astringencia y 3 para color, no existiendo diferencias significativas entre los jueces ni entre repeticiones. Se calcularon mediante análisis de regresión multifactorial, las ecuaciones de color y astringencia en función de las variables químicas determinadas.

Palabras clave: Té, descriptores sensoriales, caracterización química, componentes principales, correlación sensorial y química.

SUMMARY. Chemical and sensory characterization of tea (*Thea sinensis*) consumed in Chile. By means of descriptive analysis four varieties of tea (*Thea sinensis*) were assessed: Argentinean OP (orange pekoe) tea (black), Brazilian OP tea (black), Ceylán OP tea (black) and Darjeeling OP tea (green). The appearance of dry tea leaves were qualitatively characterized comparing with dry leaves standard. The attributes: colour, form, regularity of the leaves, fibre and stem cutting were evaluated. The differences obtained were related to the differences produced by the effect of the fermentation process. Flavour and aroma descriptors of the tea liqueur were generated by a trained panel. Colour and astringency were evaluated in comparison with qualified standards using non structured linear scales. In order to relate the sensory analysis and the chemical composition for the different varieties of tea, following determinations were made: chemical moisture, dry material, aqueous extract, tannin and caffeine. Through multifactor regression analysis the equations in relation to the following chemical parameters were determined. Dry material, aqueous extract and tannins for colour and moisture, dry material and aqueous extract for astringency, respectively. Statistical analysis through ANOVA (3 variation sources: samples, judges and replications) showed for samples four significant different groups for astringency and three different groups for colour. No significant differences between judges or repetitions were found. By multifactor regression analysis of both, colour and astringency, on their dependence of chemist results were calculated in order to assess the corresponding equations.

Key words: Tea, sensory descriptors, chemical characterization, principal components, sensory and chemist correlation.

INTRODUCCION

Desde hace varios cientos de años existe la tradición de consumir bebidas estimulantes, costumbre que ha sido muy difundida en varias leyendas orientales, destacando el casual descubrimiento de la hoja de té y las interesantes propiedades de su infuso. Por ser una bebida natural, los orientales no tardaron en estudiarla y masificar su consumo, por lo que no fue difícil su expansión a los países occidentales, donde "tomar té" ya se ha hecho parte de su cultura.

El té proviene de la familia *Camellia sinensis*, que hace unos 5000 años los chinos descubrieron que podía producir

una amplia variedad de sabores y características. Esta especie es un árbol pequeño de hojas perennes de un tono verde oscuro, brillante; se cultiva con éxito a diferentes alturas, desde al nivel del mar hasta alturas superiores a los 1200 metros, en que se producen los mejores cultivos. Requiere de suelos ácidos con abundantes lluvias (1).

Con el correr del tiempo los chinos perfeccionaron las técnicas de procesamiento generando tres tipos de té diferentes: "té verde", no fermentado que se asocia con el color del vino blanco;" té Oolong", al que los chinos llamaron "té rojo" debido a la apariencia del licor que se fermenta parcialmente y se asocia con el color del vino rosado; y "té negro",

totalmente fermentado, que se asocia con el color del vino tinto (1).

Con el fin de reducir el exceso de humedad, las hojas recién recolectadas se extienden en bandejas y se les aplica directamente una corriente de aire caliente durante 24 horas; de esta forma las hojas perderán un 40% de su peso.

El procesamiento de las hojas es la clave para producir los tipos de té. El té verde se prepara exponiendo las hojas recién cortadas a la acción rápida del vapor de agua para inactivar las oxidasas; luego se desecan para fijar así el color verde y se enrollan. En el proceso del té negro en cambio, se realiza una fermentación, pudiendo distinguirse las siguientes etapas:

Marchitamiento: de las hojas expuestas al aire, durante 12-24 horas a no más de 30° C, para volverlas blandas y flexibles. Hay pérdidas de humedad y de glúcidos, pues continúa la respiración; a la vez que hay liberación de aminoácidos.

Enrollamiento: en máquinas giratorias, durante 0,5 a 1 hora, en que se destruyen las células, las mezcla con su jugo permitiendo el contacto de la polifenoloxidasas con los sustratos fenólicos. Las hojas, una vez secas se someten a fermentación.

Fermentación: se realiza a 25-40° C en cámaras cerradas.

Deshidratación y secado: se efectúa a 95°C, con aire caliente, hasta que las hojas negras ya no se doblan sino se quiebran. En esta etapa se detiene la fermentación y se establece la composición química definitiva.

Selección: se emplean tamices o instalaciones neumáticas que separan las unidades según su grosor. En esta etapa las hojas pueden ser aromatizadas, superponiendo capas de flores frescas trozadas que luego se separan por tamización (2,3).

La composición química del té varía por efecto del procesamiento. Son muchos los compuestos que contiene el té, destacándose la cafeína, taninos (presente en varias formas) y polifenoles (1). La Tabla 1 muestra algunos cambios químicos que sufre la hoja después de fermentada, los que están principalmente limitados a oxidaciones y condensaciones subsiguientes de los polifenoles (4). La composición química le da distintas características a la infusión del té, conocido como "licor de té. Cuando se trata el té con agua hirviendo las sustancias extraídas pueden dividirse en cuatro grupos: sales inorgánicas, cafeína, materia gomosa y sustancias no nitrogenadas que son astringentes y que al reaccionar con sales férricas producen una coloración verde o azulada. Este último grupo comprende las catequinas oxidadas en varios grados de condensación y las catequinas no oxidadas. El material gomoso y los componentes inorgánicos contribuyen poco al sabor y color del infuso y deben considerarse sin importancia en lo

que se refiere a las propiedades licorizantes.. La cafeína es un componente menor del sabor, aunque tiene importancia porque confiere parte del aspecto opalescente que aparece cuando el licor se enfría (2,6),

TABLA 1
Composición química de la hoja fresca (té verde)
y de la hoja procesada (té negro)

Compuestos	Hoja verde (%)	Hoja procesada (%)
Insolubles en agua		
Celulosa y fibra cruda	7,3	7,9
Proteínas	15,7	16,6
Lignina	6,0	6,1
Almidón	1,9	0,6
Solubles en agua		
Catequinas y catequin-taninos	26,0	18,9
Cafeína	2,7	2,7
Aminoácidos	8,7	10,2
Azúcares	4,1	4,6
Pectinas	12,7	11,9
Cenizas	4,9	5,2
Inositol	0,8	-

Hart F.L. y Fisher H.J. (4).

Chile es un gran consumidor de té, el que es importado de diferentes países, existiendo una oferta bastante variada para los diferentes paladares y presupuestos. Trabajos anteriores mostraron que el consumidor chileno atribuía una mejor calidad a aquellos infusos intensamente coloreados, considerando este atributo como de mayor relevancia en relación al sabor y al aroma (7). Se postula que esta tendencia puede haber cambiado por efecto de la mayor oferta de variedades de té y debido al mayor desplazamiento de los chilenos hacia otras culturas que aprecian en forma diferente las características de esta bebida. Es así como se decidió hacer una caracterización sensorial de las cuatro variedades comerciales de té verde y negro más consumidas en Chile, mediante métodos cualitativos descriptivos y cuantitativos, y correlacionar esta información con la composición química de los infusos respectivos. La caracterización de las diferentes variedades de té constituye una herramienta necesaria para las empresas envasadoras de este producto, ya que permite conocer posibles alteraciones o adulteraciones en la composición de las hojas (7).

MATERIALES Y METODOS

Muestras de té comercial: A =Té negro Argentino Orange Pekoe (OP) (Té Club), B =Té negro Brasil OP (Té Samba), C =Té negro Ceylán OP (Té Club), D =Té verde Darjeeling OP (Twinnigs).

Estándares de té: Té negro Argentino Orange Pekoe (OP), té negro Ecuatoriano CTC, té negro Brasil OP, té negro Ceylán OP, té verde Darjeeling OP (4,5).

Caracterización química: Se realizaron los siguientes análisis en duplicado: humedad (8), materia seca (8), extracto acuoso (método gravimétrico), cafeína (9,10), taninos (8).

Caracterización sensorial

Entrenamiento del panel sensorial: Se partió de un grupo de 13 jueces semientrenados en técnicas de evaluación sensorial (11,12). Se realizaron 6 sesiones, las tres primeras dedicadas a practicar la técnica de evaluación de aroma y sabor del licor de té (6), consistente en sorber enérgicamente hacia la cavidad bucal el licor, seguido de movimientos envolventes para pasar la fracción aromática hacia la zona retror nasal y estimular así los receptores olfativos ubicados en la pituitaria amarilla; desarrollar descriptores de aroma y sabor de las muestras de licor de té; identificar descriptores de aroma y sabor de los licores estándares de té; discutir características de las hojas secas de los estándares (color, forma y regularidad de las hojas y presencia de fibra y estacas) y, finalmente familiarizarse con el uso de la escala de cuantificación de color y astringencia, evaluando los estándares. En las sesiones siguientes se emplearon muestras similares a los estándares lo que permitió conocer la capacidad individual de caracterizar el licor y las hojas de té.

Al cabo de las seis sesiones se descartó a tres panelistas por no cumplir con los requisitos necesarios (13,14).

Preparación de los estándares y muestras de hojas: Se presentaron en platos blancos 10 g de hojas secas de cada muestra, con iluminación artificial similar a luz diurna (6).

Preparación del licor de té de los estándares y muestras: Para cada participante se pesaron 1,4 g de hojas de té en tazas blancas de 80 ml. Sobre cada una se vertieron 75 ml de agua a 98°C. Se dejaron reposar por 5 minutos. Se filtró, recibiendo el filtrado en tazas de iguales características (6,14).

Evaluación sensorial de las muestras: Se realizó en 4 sesiones evaluando 3 muestras cada vez, presentadas aleatoriamente. Para cada muestra se hicieron 3 repeticiones. Los panelistas debían señalar los componentes que percibían en las hojas de té de las muestras en comparación con los estándares; identificar descriptores de sabor y aroma del licor de té de las muestras y cuantificar color (a 65°C en escala de 1= ámbar claro a 6= ámbar oscuro) y astringencia (escala de 1= leve a 6= intenso) en comparación con el licor de los estándares (6).

Evaluación estadística de los resultados: Los resultados de la evaluación sensorial de color y astringencia fueron analizados por ANOVA de 3 factores independientes: muestras, jueces y repeticiones (Statgraphics 5.0) seguido por el test de Duncan de comparación múltiple de promedios. Se comprobaron los requisitos de normalidad y homocedasticidad de esta prueba.

Se correlacionaron los atributos de color y astringencia con la composición química a través de análisis de Regresión Múltiple mediante el mismo programa computacional.

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización química de las muestras de tés comerciales. Los resultados de los análisis se presentan en la Tabla 2, representando el promedio de 2 repeticiones.

TABLA 2
Caracterización química de las muestras de té comerciales (x ± DS)

Análisis químico	A	B	C	D
Humedad	5,85 ± 0,02	5,80 ± 0,03	7,70 ± 0,04	6,29 ± 0,02
Materia seca	93,52 ± 0,1	94,31 ± 0,02	93,38 ± 0,05	93,88 ± 0,03
Extracto acuoso	26,00 ± 1,32	26,74 ± 0,49	22,03 ± 0,33	37,81 ± 0,16
Cafeína	4,18 ± 0,04	2,53 ± 0,01	6,74 ± 0,21	3,23 ± 0,11
Taninos	10,46 ± 1,90	12,26 ± 0,64	17,30 ± 1,29	15,91 ± 0,58

A = Té negro Argentino B = Té negro Brasil
C = Té negro Ceylan D = Té verde Darjeeling

Datos bibliográficos sugieren que un té de buena calidad no debe superar el 7% de humedad, por lo que todas las muestras, a excepción del té Ceylán, cumplirían con esta condición. El límite máximo de humedad es 9,3%. Cuando la humedad supera el 11% es probable el desarrollo de mohos, lo que confiere la evolución de tonos mohosos en el infuso (7,15). Un té con menos de 5% de humedad genera un licor pajoso, yerboso o a yerba seca, de sabor plano.

Los valores aceptables de materia seca fluctúan entre 91% y 95% (15). Las muestras de este estudio están dentro de ese intervalo, presentando mejor calidad las que están cercanas al 93%: A (Té Argentino) y D (Té Darjeeling).

El extracto acuoso se relaciona con la parte de la hoja que es soluble en agua y es de vital importancia al preparar la infusión. Para un té negro de buena calidad (grado 1) debe estar entre 32% y 41,5% (15) Valores inferiores significa que el té no posee los componentes hidrosolubles característicos del licor. Valores superiores al máximo indicarían la presencia de sustancias hidrosolubles no deseadas que constituyen una alteración del producto, por ejemplo, impurezas externas de las hojas que por efecto del proceso son fáciles de aparecer.

Según la Norma chilena (15), las muestras A (Té Argentino) y B (Té Brasil) cumplen con el valor mínimo (24%) de calidad media (grado 2). La muestra C (Ceylán) no cumple con este requisito para un té negro genuino porque está por debajo del nivel mínimo señalado para grado 3 (24%), pero si cumple con el mínimo exigido de 10% para un té comercial (9). Los valores del té verde (37,8%) corresponden a un té verde genuino, cuyos valores deben estar entre 33% y 45% (4,9).

Al observar los resultados de cafeína, sólo la muestra B (té Brasil) está dentro del rango permitido. 1,9 - 3,6 (15). La muestra A (té Argentino) sobrepasa ese máximo. La muestra C (té Ceylán) posee niveles de cafeína muy altos, lo que sumado a su valor de extracto acuoso - que, como se mencionó, equivale a un té negro comercial-, corresponde por estos antecedentes a un té de mala calidad. Los valores establecidos para té verde genuino oscilan entre 1,5 y 4,3, con lo que la muestra D cumpliría esta especificación (4,9).

Con respecto al contenido de taninos, estos junto con la cafeína representan los componentes más importantes del té. Se les atribuye la astringencia característica de esta bebida. Los valores establecidos para té negro genuino varían entre 7,3 y 15,1 (4,9). Los 4 productos difieren bastante en los contenidos de taninos, estando la muestra C (té Ceylán) por sobre el valor máximo señalado. No hay valores especificados para "té verde genuino"; estos deberían ser superiores a los del té negro, con lo que la muestra D cumpliría este requisito.

Caracterización sensorial de muestras de té

Caracterización de hojas secas: En la Tabla 3 se presentan los resultados de los 5 estándares y en la Tabla 4 los de las 4 muestras del estudio.

TABLA 3
Caracterización sensorial de las hojas secas de cinco estándares de variedades de té

Atributo	P1	P2	P3	P4	P5
Color de las hojas	Marrón negruzco	Marrón rojiza	Negro levemente	Negro marrón	Verdoso marrón
Forma de las hojas	Achatada (plana)	Fina molida	Enrollada	Enrollada larga	Larga, levemente enrollada
Regularidad de las hojas	Irregular	Uniforme	Levemente irregular	Uniforme	Levemente irregular
Presencia de fibra	Notoria presencia de fibras	Muy fibroso	No hay fibras	No hay fibras	No hay fibras
Presencia de estacas	Existe presencia de estacas (pequeños palos más claros)	No hay estacas (té limpio)	Muchas estacas	No hay estacas	No hay estacas, sólo presencia de brotes

P1= té negro Argentino OP; P2= té negro Ecuatoriano CTC; P3= té negro Brasil OP; P4= té negro Ceylán OP; P5= té verde Darjeeling OP

TABLA 4
Caracterización sensorial de las hojas secas de las muestras de té en estudio

Atributo	A	B	C	D
Color de las hojas	Marrón negruzco	Negro levemente marrón	Negro	Verdoso marrón
Forma de las hojas	Achatada (plana)	Enrollada, semi achatada	Enrollada, larga	Levemente enrollada
Regularidad de las hojas	Irregular	Levemente irregular	Regular	Levemente irregular
Presencia de fibra	Bastante fibra	No hay fibras	No hay fibras	Sin fibras
Presencia de estacas	Existe notoria presencia de estacas	Muchas estacas	No hay estacas	Presencia de brotes. Pocas estacas

A = Té negro Argentino B = Té negro Brasil
C = Té negro Ceylan D = Té verde Darjeeling

TABLA 5
 Descriptores generados para cinco estándares de variedades de té

P1	P2	P3	P4	P5
Tono yerboso	Seco	Tono yerboso	Robusto	Amargo
Metálico	Pajoso	Dulzón	Delicado	Fuerte
	Con cuerpo	Afrutado	Equilibrado	Muy aromático
		Suave	Con cuerpo	
		Con cuerpo	Tostado	
		Amargo		

P1= té negro Argentino OP; P2= té negro Ecuatoriano CTC; P3= té negro Brasil OP; P4= té negro Ceylán OP; P5= té verde Darjeeling OP

Como puede observarse no hubo grandes diferencias entre estos descriptores y los estándares, lo que significa que los jueces fueron capaces de identificar y discriminar las características de cada tipo de hoja, que diferían de ellos en las marcas. Por lo que se deduce que independiente del productor, el proceso de cada variedad de té es determinante en la caracterización de éste.

Caracterización del licor de té: El aroma y sabor del licor de té se evaluaron juntos pues están íntimamente relacionados, más aún cuando la evaluación se realiza aspirando profundamente por la boca y luego expirando el aire por la nariz. En la zona buco-faríngea se concentran los aromas que junto con la percepción sobre la lengua da la percepción final del producto (12). En la Tabla 6 se presenta la descripción cualitativa de las muestras del estudio. Se observó que los términos empleados aumentaron respecto a los entregados para los estándares (Tabla 5). Es así, como se presenta, el descriptor “yerboso”, que probablemente se relaciona con la sensación que producen las infusiones de yerbas naturales secas, que en trabajos anteriores fue señalado como “pajoso”.

Cuantificación de color: Para facilitar el uso de la escala (13) y mejorar la precisión, se intercalaron los cinco licores estándares aumentando los puntos entre 4,25 y 4,75, debido a que en ese intervalo se encuentra la mayoría de las infusiones de té. Se realizaron análisis de varianza para ambos atributos, considerando el efecto de los jueces, muestras y repeticiones (Tabla 7). Los resultados para cada muestra se presentan en la Tabla 8 y corresponden al promedio de 3 repeticiones. Esta Tabla incluye los resultados del test de Duncan de comparaciones múltiples.

TABLA 6
 Descriptores generados para el aroma y el sabor del licor de té de las muestras en estudio

A	B	C	D
Yerboso	Dulzón	Tostado	Fuerte
Metálico	Suave	Tierroso	Verde
Amargo	Con cuerpo	Robusto	Aromático
Grueso	Amargo	Equilibrado	Amargo
Tostado	Afrutado	Con carácter	Con cuerpo
Acido		Amargo	
Agrio			
Con cuerpo			
Plano			
Suave			
Seco			

A = Té negro Argentino B = Té negro Brasil
 C = Té negro Ceylan D = Té verde Darjeeling

TABLA 7
 ANOVA para color y astringencia de muestras comerciales de té

Fuente de Variación	Color		Astringencia	
Efectos Medidos	Valor F	Significancia	Valor F	Significancia
Juez	0,67	0,7339	1,559	0,1371
Muestra	1861,178	0,0000	785,069	0,0000
Repetición	1,526	0,2222	1,626	0,2037

Como puede verse en el extremo izquierdo de la escala (entre 1 y 2) se ubica sólo el té verde, que presenta un color bastante diferente, poco frecuente. Las otras tres muestras obtuvieron valores entre 4,38 y 4,86.

Es importante señalar que la temperatura de las muestras es un factor muy definitorio de la evaluación del color porque a medida que la temperatura disminuye aparece una capa opalescente en el licor debido a la formación de un complejo entre la cafeína y las sustancias polifenólicas (6,10). Esta opacidad impide diferenciar con claridad el color, sobretodo cuando se encuentra dentro del rango frecuente de la escala mencionado anteriormente (6).

Las diferencias encontradas entre dos muestras de la misma variedad reflejan la variabilidad de los productos según procedencia, marca y probablemente en composición y grado de pureza (4,6).

Cuantificación de astringencia: Los valores de la Tabla 8 incluyen las evaluaciones de astringencia, teniendo como

referencia la escala de estándares (6). Los valores fluctuaron entre 1,4 y 5,6 correspondiendo las cifras mostradas como las significativas. Este es uno de los atributos más complejos de evaluar, pues involucra la aspereza y sequedad, atributos que no siempre son fáciles de distinguir. Además es un atributo difícil de neutralizar ya que insensibiliza los receptores táctiles y kinestésicos.

TABLA 8
Comparaciones múltiples de color y astringencia ($x \pm DS$) de las muestras en estudio (3 repeticiones)

Atributo	A	B	C	D
Color	4,81 \pm 0,15 ^a	4,38 \pm 0,14 ^b	4,86 \pm 0,11 ^a	2,18 \pm 0,22 ^c
Astringencia	1,37 \pm 0,31 ^a	3,35 \pm 0,44 ^b	4,37 \pm 0,34 ^c	5,56 \pm 0,29 ^d

Superíndices iguales indica que no hay diferencias significativas entre muestras ($p=0,05$)

A = Té negro Argentino B = Té negro Brasil

C = Té negro Ceylan D = Té verde Darjeeling

Análisis de regresión múltiple: Se relacionaron los atributos de color y astringencia con los resultados de los análisis químicos: humedad, materia seca, extracto acuoso, cafeína y taninos., mediante matrices de correlaciones múltiples (Tabla 9). Al eliminar las variables no significativas de cada modelo se obtienen las siguientes ecuaciones de regresión para astringencia y color, respectivamente:

$$\text{ASTRINGENCIA} = -260 + 0,15 (\text{extracto acuoso}) + 3,4 (\text{humedad}) + 2,5 (\text{materia seca})$$

Coefficiente de correlación: 0,98. Error estándar = 0,25
Valor de Durbin Watson = 2,3 (rango aceptable 1,5-2,4).

Este valor del Durbin y Watson asegura el cumplimiento del requisito de independencia de los residuos y conjuntamente con el coeficiente de correlación alto justifica la validez del modelo.

Las cifras que muestran los coeficientes de las variables son las significativas con un 95% de confianza.

$$\text{COLOR} = 22 - 0,12 (\text{materia seca}) - 0,17 (\text{extracto acuoso}) - 0,11 (\text{taninos})$$

Coefficiente de determinación = 0,98; Coeficiente de correlación = 0,99. Error estándar del estimado = 0,1 Valor de Durbin Watson 1,99 (rango aceptable 1,5-2,4).

De esta forma se puede explicar la dependencia de la astringencia respecto a tres variables químicas: extracto acuoso, humedad y materia seca. Es extraño que la relación de la astringencia con el contenido de taninos no haya resultado

significativa, ya que está descrito que los polifenoles son causantes de sensaciones astringentes (1,2,4), tal vez podría deberse al efecto de otros componentes del sabor, por ejemplo el descrito como pasto seco o yerboso que al ser muy intenso enmascara la astringencia de la muestra, junto a la presencia de catequin-taninos que se perciben menos astringentes (7,16).

En el caso del color, el modelo muestra la dependencia de éste con el extracto acuoso, que corresponde a la fracción soluble de las hojas, las que dan la pigmentación a la solución. La materia seca afecta en igual sentido ya que al absorber humedad, deja menos agua libre para los compuestos hidrosolubles que dan el color al licor de té.

TABLA 9
Matriz de correlaciones múltiples entre análisis químicos versus color y astringencia

Análisis químico	Astringencia (valor p)	Color (valor p)
Constante	0,0000	0,0065
Cafeína	0,1566	0,2286
Extracto acuoso	0,0000	0,0000
Humedad	0,0000	0,4535
Materia Seca	0,0000	0,0319
Taninos	0,2562	0,0000

Valores de $p > 0,05$ son no significativos

Análisis de componentes principales: El propósito de este análisis fue obtener combinaciones lineales de las 7 variables cuantificadas que den cuenta de la variabilidad en los datos. En este caso los dos primeros componentes explican el 95,16% de la variabilidad total de los datos.

Las ecuaciones de los 2 componentes principales son.:

$$\begin{aligned} \text{Primer componente: } Y_1 &= 0,06 (\text{astringencia}) + 0,50 (\text{cafeína}) + 0,26 (\text{color}) - 0,34 (\text{extracto acuoso}) + 0,48 (\text{humedad}) - 0,49 (\text{materia seca}) + 0,30 (\text{taninos}) \\ \text{Segundo componente: } Y_2 &= -0,57 (\text{astringencia}) + 0,009 (\text{cafeína}) + 0,50 (\text{color}) - 0,41 (\text{extracto acuoso}) - 0,21 (\text{humedad}) + 0,013 (\text{materia seca}) - 0,46 (\text{taninos}) \end{aligned}$$

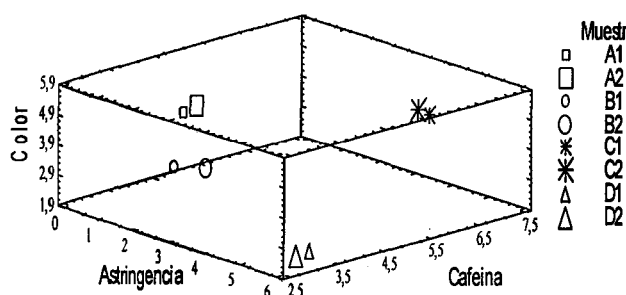
El análisis de los coeficientes de los modelos de los componentes principales se hace teniendo en cuenta los coeficientes estandarizados mayores o muy cercanos a 0,5 de donde el primer componente es una dimensión de la variable cafeína, materia seca y humedad. El segundo componente es una dimensión de la variable astringencia fundamentalmente, seguida de color y taninos en menor grado. Las cifras que muestran los coeficientes de las variables son las significativas con un 95% de confianza. Como puede observarse, en el análisis de componentes principales, aparece el efecto de

taninos (valor 0,46) casi en el límite de participación (valor 0,5) lo que demuestra su baja participación en este segundo componente.

En la Figura 1 se presentan los resultados del análisis discriminante: se observa que la muestra A (té Argentino) está más influenciada por la variable color (valor alto), la muestra B (té Brasil) por bajos valores de cafeína, la muestra C (té Ceylán) por alta cafeína, color y astringencia, lo que se correlaciona directamente con los resultados sensoriales. Y finalmente la muestra D (té verde) presentó gran dependencia de la astringencia, siendo bajo en color y cafeína. Estos resultados concuerdan con publicaciones recientes (16).

FIGURA 1

Análisis discriminante de las 4 muestras de té comercial



CONCLUSIONES

Las muestras de té se caracterizaron en forma cualitativa por medio de descriptores para las hojas secas, aroma y sabor del licor de té, y en forma cuantitativa para los atributos de color y astringencia del infuso.

La caracterización sensorial cualitativa de las hojas de té permitió identificar propiedades de las hojas según la variedad de té y el tipo de proceso aplicado.

El panel sensorial entrenado diferenció significativamente ($p \leq 0,05$) color y astringencia de las cuatro muestras, distinguiéndose tres grupos distintos para el color y cuatro grupos para el caso de la astringencia. Esto significa que las muestras de té Argentino y de té Ceylán no se percibieron de color diferente y que, las 4 muestras se percibieron diferentes en astringencia.

La composición química de las hojas define claramente las diferencias percibidas sensorialmente. Es así como la astringencia está relacionada con el contenido de extracto acuoso, humedad y materia seca. En cambio el color depende significativamente de la materia seca, extracto acuoso y taninos.

Los modelos obtenidos son:

$$\text{ASTRINGENCIA} = -260 + 0,15 (\text{extracto acuoso}) + 3,4 (\text{humedad}) + 2,5 (\text{materia seca}).$$

Coefficiente de correlación: 0,98

$$\text{COLOR} = 22 - 0,12 (\text{materia seca}) - 0,17 (\text{extracto acuoso}) - 0,11 (\text{taninos})$$

Coefficiente de correlación: 0,99

El análisis multivariado de componentes principales permitió caracterizar al té por combinaciones de variables donde sólo algunas son significativas. Se obtuvieron dos componentes principales, de donde el primer componente es una dimensión de la variable cafeína, materia seca y humedad. Mientras que el segundo componente es una dimensión de la variable astringencia fundamentalmente y de las variables color y tanino en segundo lugar.

La caracterización del té es una herramienta importante en la industria para conocer posibles alteraciones o adulteraciones en la composición de las hojas.

Se sugiere hacer similares evaluaciones de licor de té con otras variedades con el fin de obtener un modelo de regresión que permitiera generalizar la tendencia encontrada en este estudio.

REFERENCIAS

1. Harper C.R. The cultura and marketing of tea. Oxford University Press. Londres, Inglaterra. 1955.
2. Werkhoven J. Tea processing Publicado por FAO. Roma. 1974; p. 4-24, 124- 141.
3. Schmidt-Hebbel H. Avances en Ciencias y Tecnología de los Alimentos. Editado por Merck Química Chilena. Santiago 1981; p.186-188.
4. Hart FL y Fisher HJ. Análisis Moderno de los Alimentos. Editorial Acribia, España. 1991. p. 118-120.
5. Alfaro R. Algunas consideraciones acerca de la calidad del té consumido en Chile. Alimentos 1980; 5 (3). p.236 -266.
6. Romero M. Comunicación personal. Té Club. Unileber Bestfoods Chile. 1998.
7. Fuenzalida R, Alfaro R, Wittig de Penna E. Calidad de té consumido en Chile. Rev Chil Nutr. 1982; 10:1. p. 35-42.
8. NCh 1245. Of 77. Té. Métodos de Ensayo. INN (Instituto Nacional de Normalización). Chile, 1977.
9. Egan H, Kirk R, Sawyer R. Análisis Químico de Alimentos. Pearson. Compañía Editorial Continental. México. 1991; p. 295-300.
10. Kuhr S, Engelhardt UH. Determination of flavonols, theogallin, gallic acid and caffeine in tea using HPLC. Zeitschrift für Lebensmittel -Untersuchung und Forschung. 1991; 192, p. 526-529.
11. Wittig de Penna Emma. Evaluación Sensorial, una metodología actual para tecnología de alimentos. Talleres Gráficos USACH, Santiago, Chile, 1981; pp. 41, 123.

12. Jellinek G. Sensory evaluation of food. Theory and Practice. Ellis Horwood Publishers. VCH, 1985; p. 67-68, 348-387.
13. International Standard ISO 8586 -1. Sensory analysis – Methodology– Evaluation of food products by method using scales. 1993.
14. International Standard ISO 3103 - 2. Tea - preparation of liquor for use in sensory tests. 1977.
15. NCh 1244. Of 77. Té negro- Requisitos. INN (Instituto Nacional de Normalización). Chile. 1977.
16. Valera P, Pablos F, González AG. Clasification of tea samples by their chemical composition using discriminant analysis. Talanta 1996. 43:3, p. 415-419.

Recibido: 14-06-2004

Aceptado: 02-02-2005

INFORMACION PARA LOS AUTORES

En 1950 el Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela edita su revista Archivos Venezolanos de Nutrición la cual en 1965 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, en su quinta edición (1997) de los requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas (1). A continuación se reproduce esta publicación y se añaden algunas recomendaciones específicas, para ALAN.

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 presentaran 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.

Preparación del manuscrito

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.

Mecanografíese 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). Escríbase o imprímase solamente sobre una cara del papel. Utilícese doble espacio a lo largo de todo el manuscrito, incluido la página del título, el resumen, el texto los agradecimientos, las referencias, cada uno de los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones. Numérense las páginas en forma consecutiva, empezando por las del título. Sobre el ángulo superior o inferior derecho de cada página anótese el número que le corresponde.

Página del título

La primera página contendrá: 1) el título del artículo, que será conciso pero informativo; 2) nombre de pila preferido y apellidos de cada autor, acompañados de sus grados académicos más importantes y su afiliación institucional; 3) nombre del departamento o departamentos y la institución o instituciones a los que se debe atribuir el trabajo; 4) declaraciones de descargo de responsabilidad, si las hay; 5) nombre y dirección del autor que se ocupará de la correspondencia relativa al manuscrito; 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 todo ello; y 8) título abreviado (titulillo) que no pase de 40 pulsaciones (contando caracteres y espacios), el cual se colocará, debidamente identificado como tal, en la última línea de la página inicial.

Autoría

Todas las personas designadas como autores habrán de cumplir con ciertos requisitos para tener derecho a la autoría. Cada autor

(1) Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas. Rev Panam Salud Pública. Pan-Am J Pub Health. 1998;3(3):188-1998.

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 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 temas médicos] 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.

Introducción

Expresé el propósito del artículo y resume el fundamento lógico del estudio u observación. Menciones las referencias estrictamente pertinentes y no incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.

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 de comprobación de hipótesis estadísticas, tales como el uso de los valores P, que no transmiten información cuantitativa importante.

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.

Las descripciones generales de los métodos utilizados deben aparecer en la sección de métodos. Cuando resuma los datos en la sección de resultados, especifique los métodos estadísticos que se emplearon para analizarlos. Limite el número de cuadros y figuras al mínimo necesario para explicar el tema central del artículo y para 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». Defina los términos, las abreviaturas y la mayor parte de los símbolos estadísticos.

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.

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.

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. No reclame ningún tipo de precedencia ni mencione trabajos que no estén terminados. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identifícalas claramente como tales. Cuando sea apropiado, puede incluir recomendaciones.

Agradecimientos

En un lugar adecuado del artículo (como nota al pie de la primera página o como apéndice del texto; véanse los requisitos de la revista) uno o varios enunciados especificarán lo siguiente: 1) las colaboraciones que deben ser reconocidas pero que no justifican la

autoría, tales como el apoyo general del jefe del departamento; 2) el reconocimiento por la ayuda técnica recibida; 3) el agradecimiento por el apoyo financiero y material, especificando la índole del mismo; y 4) las relaciones que puedan suscitar un conflicto de intereses (véase «Conflicto de intereses»).

Las personas que colaboraron intelectualmente en el artículo pero cuya participación no justifica la autoría pueden ser citadas por su nombre, añadiendo su función o tipo de colaboración; por ejemplo, «asesoramiento científico», «examen crítico de la propuesta para el estudio», «recolección de los datos» o «participación en el ensayo clínico». Estas personas tendrán que conceder su permiso para ser nombradas. Los autores se responsabilizarán de obtener la autorización por escrito de las personas mencionadas por su nombre en los agradecimientos, pues los lectores pueden inferir que estas respaldan los datos y las conclusiones.

El reconocimiento por la ayuda técnica recibida figurará en un párrafo separado de los testimonios de gratitud por otras contribuciones.

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 indexadas 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.

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. Los autores verificarán las referencias cotejándolas contra los documentos originales.

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. En los ejemplos que siguen se han agregado notas cuando el estilo de Vancouver difiere del estilo que actualmente utiliza la NLM.

Artículos de revista*1. Artículo de revista ordinario*

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.»)

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1;124(11):980-3.

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.)

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

Más de seis autores:

Parkin DM, Clayton D, Black Rj, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996;73:1006-12.

2.. Organización como autor

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996;164:282-4.

3. No se indica el nombre del autor

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

4. 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.)

Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infrapatellar seneruptur hos tidligere frisk kvinne. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1996; 116:41-2.

5. Suplemento de un volumen

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994;102 Suppl 1:275-82.

6. Suplemento de un número

Payne DK, Sullivan MD, Massie Mj. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23(1 Suppl 2): 89-97.

7. Parte de un volumen

Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995;32(Pt 3):303-6.

8. Parte de un número

Poole GH, Mills SM. One hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994;107(986 Pt 1):377-8.

9. Número sin volumen

Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995;(320): 110-4.

10. Sin número ni volumen

Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responsos. *Curr Opin Gen Surg* 1993:325-33.

11. Paginación en números romanos

Fisher GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr;9(2):xi-xii.

12. Indicación del tipo de artículo, según corresponda

Enzensber er W, Fischer PA. Metronome in Parkinson,s disease [carta]. *Lancet* 1996;347:1337.
Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen]. *Kidney Int* 1992;42:1285.

13. Artículo que contiene una retractación

Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML, Seyfried TN. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retractación de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML, Seyfried TN. En: *Nat Genet* 1994;6:426-31]. *Nat Genet* 1995;11: 104.

(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 (N. Del t.).

14. Artículo retirado por retractación

Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBP gene expression during mouse development [retirado *por retractación* en Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:3127]. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:1083-8.

15. Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas

Hamlin JA, Kahn AM. Herniography in symptomatic patients following inguinal hernia repair [se publica una fe de erratas en West J Med 1995;162:278]. West J Med 1995; 162:28-31.

Libros y otras monografías

(Nota: Con anterioridad, el estilo de Vancouver indicaba, incorrectamente, que entre la editorial y la fecha debía ir una coma en vez de punto y coma, como debe ser.)

16. Individuos como autores

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership. skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

17. Directores ("editores"), compiladores como autores

Norinan JJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

18. Organización como autor y editorial

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

19. Capítulo de libro

(Nota: Con anterioridad, el estilo de Vancouver prescribía el uso de dos puntos en vez de la letra p antes de las páginas.)

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. En: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

20. Actas de conferencias

Kimura j, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology, Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

21. Artículo presentado en una conferencia

Bengtsson S, Tolheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. En: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

22. Informe científico o técnico

Publicado por la institución financiadora o patrocinadora:
Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report No.: HHSIGOE169200860.

Publicado por la institución ejecutora:

Field MjJ Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract No.: AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.

23. Tesis doctoral

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization [tesis doctoral]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

24. Patente

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, titular. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 jun 25.

Otros trabajos publicados**25. Artículo de periódico**

Lee C. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

26. Material audiovisual

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

27. Documentos legales

Ley pública:

Preventive Health Amendments of 1993, Pub. L. No. 103-183, 107 Stat. 2226 (Dec. 14, 1993).

Proyecto de ley sin sancionar:

Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong., 1 st Sess. (1995).

Código de normas federales:

Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441.257 (1995).

Audiencia:

Increased Drug Abuse: the Impact on the Nation's Emergency Rooms: Hearings Before the Subcomm. on Human Resources and Intergovernmental Relations of the House Comm. on Government Operations, 103rd Cong., 1st Sess. (May 26, 1993).

28. *Mapa*

North Carolina. Tuberculosis rates per 100,000 population, 1990 [mapa demográfico]. Raleigh: North Carolina Dept. of Environment, Health, and Natural Resources, Div. of Epidemiology; 1991.

29. *Libro de la Biblia*

The Holy Bible. King James version. Grand Rapids (MI): Zondervan Publishing House; 1995. Ruth 3:1-18.

30. *Diccionarios y obras de consulta semejantes*

Stedman's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p.119-20.

31. *Obras clásicas*

The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. London: Rex; 1973.

Trabajos inéditos32. *En prensa*

(Nota: La NLM prefiere referirse a estos trabajos como «en preparación» [forthcoming] porque no todos se publicarán impresos.)

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med. En prensa 1996.

Material en soporte electrónico33. *Artículo de revista en formato electrónico*

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [publicación periódica en línea] 1995 jan-mar [citada 1996 jun 51;1(1):[24 pantallas]. Se consigue en: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

34. *Monografía en formato electrónico*

CDI, clinical dermatology illustrated [monografía en CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

35. *Fichero de computadora*

Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [programa de computadora]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Cuadros

Mecanografía o imprima cada cuadro a doble espacio y en hoja aparte. No presente los cuadros en forma de impresiones fotográficas. Numérelos consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada uno. 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, utilícen 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 cuadros 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 cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto. Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para publicarlos, queden depositados en un servicio de archivo, como el Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Dichos cuadros se presentarán junto con el artículo para su consideración.

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 significado 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

Envíe por correo el número requerido de copias del manuscrito en un sobre de papel resistente; si es necesario, proteja las copias y las figuras metiéndolas entre dos hojas de cartón para evitar que las fotografías se doblen. Meta las fotografías y transparencias en su propio sobre de papel resistente.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de envío firmada por todos los coautores.

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

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: / /		
Anote las referencias bibliográficas de dos de sus publicaciones más recientes		
1. _____		
2. _____		
Socios de SLAN que le postulan		
Nombre:	Firma:	
_____	_____	
_____	_____	

Adjunte su Curriculum Vitae actualizado.

La cuota anual de SLAN es de \$ 40 con la revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición.
Los cheques deben ser emitidos en U.S. \$ a nombre de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición.

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 55

JUNIO 2005

Nº 2

Contenido

	Páginas
EDITORIAL	109
ARTICULOS GENERALES	
Péptidos bioactivos derivados de las proteínas de la leche María de Jesús Torres-Llanez, Belinda Vallejo-Cordoba y Aarón Fernando González-Córdova	111
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Deficiencias de hierro, ácido fólico y vitamina B₁₂ en relación a anemia, en adolescentes de una zona con alta incidencia de malformaciones congénitas en Venezuela Teresa Suárez, Mónica Torrealba, Neifred Villegas, Crisol Osorio y María Nieves García-Casal	118
Análise comparativa de métodos de avaliação da composição corporal em homens sadios e em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica: antropometria, impedância bioelétrica e absorptiometria de raios-X de dupla energia Ismael Forte Freitas Júnior, Sérgio Alberto Rupp de Paiva, Irma de Godoy, Suhaila Mahmoud Smaili Santos, Alvaro Oscar Campana	124
Perfil do aleitamento materno em menores de 2 anos na cidade de Itupeva, SP, Brasil Aurea T. Minagawa, Ida M. V. Oliveira, Elizabeth Fujimori, Daniela Laurenti, Rosali M. J. M. Montero	132

Nutrición Experimental

Desarrollo y validación de un método por HPLC para la determinación de niveles de vitamina A en leche materna. Su aplicación a una población rural de Argentina

Laura B. López, Andrea V. Baroni, Viviana G. Rodríguez, Carola B. Greco, Sara Macías de Costa, Silvia Rodríguez de Pece y Patricia Ronayne de Ferrer 140

Déficit estatural em crianças em idade escolar: uma análise multivariada de possíveis fatores de risco, Pernambuco - 1997

Laurentino GEC, Arruda IKG, Raposo MCF, Batista Filho M. 144

Nutrición Clínica

Effect of the diuretic furosemide on urinary essential nutrient loss and on body stores in growing rats

Yelitza Berné, Diamela Carías, Anna M. Cioccia, Eduardo González, Patricio Hevia 154

Microbiología de Alimentos

Identificación de *Enterococcus sp.* en muestras de leche cruda del Area Metropolitana de Costa Rica y evaluación del patrón de sensibilidad a antibióticos

Melania Araya, Gabriela Davidovich, Carolina Chaves y María Laura Arias 161

Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. Evaluación de su carga microbiológica

Heylin Estrada, María del Mar Gamboa, Carolina Chaves y María Laura Arias 167

LatinFoods. Composición de Alimentos

Amino acid composition of some Mexican foods

Morales de León Josefina, Bourges Héctor y Camacho Ma. Elena 172

Contenido total y disponibilidad in vitro de hierro y zinc en alimentos de mayor consumo en Sonora y Oaxaca, México

Rosa Olivia Méndez, Karla Bueno, Nayeli Campos, Daniela López, Carolyn Jane Wyatt y María Isabel Ortega 187

Variación de lípidos y ácidos grasos en camarones marinos consumidos en Venezuela

Tomás Cabrera, Gustavo Cabrera, Jesús Rosas, Aide Velásquez, Marisol Silva 194

NUEVOS LIBROS 201

INFORMACION PARA LOS AUTORES 202