

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 50

JUNIO 2000

Nº 2

Contenido

Páginas

ARTICULOS GENERALES

- Cariogenicidade e propriedades cariostáticas por diferentes tipos de leite-revisão**
Poliana Mendes Duarte, Luciane Cristina Coppi, Pedro Luiz Rosalen 113

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

- Fatores de risco ao retardo de crescimento estatural em crianças de baixo nível econômico e social de São Paulo, Brasil**
Paulo R. Gallo, Hugo Amigo, Leone Claudio 121

Bioquímica Nutricional

- Evaluación nutricional de *Lepidium meyenii* (MACA) en ratones albinos y su descendencia**
Marco Canales, José Aguilar, Ana Prada, Adolfo Marcelo, Cecilia Huamán, Luz Carbajal 126

Ciencia de Alimentos

- Huevo en polvo con bajo contenido de colesterol. Características nutricias y sanitarias del producto**
Angela Sotelo y Laura González 134

| | |
|--|-----|
| Perfil nutricional y microbiológico de los embutidos de soya disponibles en Costa Rica Rafael Monge, María Laura Arias, Thelma Alfaro, Manuel Jiménez | 142 |
| Tecnología de Alimentos | |
| Utilización de cotiledones de algarobo (<i>Prosopis chilensis</i> (Mol) Stuntz) en la elaboración de barras de cereales Ana María Estévez A., Berta Escobar A.y Viviana Ugarte A. | 148 |
| Almacenamiento de barras de cereales elaboradas con cotiledones de algarrobo (<i>Prosopis chilensis</i> (Mol) Stuntz) Berta Escobar A., Ana María Estévez A. y M. Alejandra Guíñez C. | 152 |
| Obtención de un extracto de garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.) fermentado y su uso como extensor lácteo Josefina Morales de León , Ma. Lorena Cassís Nosthas, Patricia Cecin Salomón | 157 |
| Recursos alimenticios vegetales con potencial de explotación agroindustrial de Guatemala. Elaboración de leche vegetal a partir de la semilla del fruto de morro (<i>Crescentia alata</i>) Sergio A. Figueroa Madrid y Ricardo Bressani | 164 |
| Microbiología de Alimentos | |
| Controles microbiológicos y puntos de control en una planta elaboradora de filete de merluza para exportación Silvia Esteveao Belchior, Oscar Héctor Pucci | 171 |
| Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas María Luisa de Curtis, Olgamar Franceschi y Norma De Castro | 177 |
| Toxicología de Alimentos | |
| Determinación de deoxinivalenol (DON) en trigo, cebada y maíz y su relación con los niveles de mohos totales, <i>Fusarium</i> spp., porcentaje de colonización y actividad de agua Marellys del Carmen Moreno Contreras, Amaury José Martínez Yopez y Rosa Raybaudi Martínez | 183 |
| Latin Food. Composición de Alimentos | |
| Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela Pedro Izquierdo Córser, Gabriel Torres Ferrari, Yasmina Barboza de Martínez, Enrique Márquez Salas y María Allara Cagnasso | 187 |
| Composición química y contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos en el noroeste argentino Silvina Maldonado, Norma Sammán | 195 |
| Characterization of cocoa butter extracted from hybrid cultivars of <i>Theobroma cacao</i> L. Fanny C. Padilla, Rigel Liendo, Agricia Quintana | 200 |
| NOTAS | 206 |
| NUEVOS LIBROS | 208 |
| INFORMACION PARA LOS AUTORES | 209 |

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 50

JUNE 2000

Nº 2

Contents

| | Pages |
|---|-------|
| GENERAL ARTICLES | |
| Cariogenicity and cariostatic properties of cow, human and infant formula milk-review Poliana Mendes Duarte, Luciane Cristina Coppi, Pedro Luiz Rosalen..... | 113 |
| RESEARCH PAPERS | |
| Human Nutrition | |
| Risk factors of growth retardation of low socio-economic level children, São Paulo, Brazil. Paulo R. Gallo, Hugo Amigo, Leone Claudio | 121 |
| Nutritional Biochemistry | |
| Nutritional evaluation of <i>Lepidium meyenii</i> (MACA) in albino mice and their descendant Marco Canales, José Aguilar, Ana Prada, Adolfo Marcelo, Cecilia Huamán, Luz Carbajal | 126 |
| Food Science | |
| Low cholesterol egg powder. Nutritive and sanitary characteristics of the product. Angela Sotelo y Laura González | 134 |
| Nutritional and microbiological profile of soy bean sausages available in Costa Rica. Rafael Monge, María Laura Arias, Thelma Alfaro, Manuel Jiménez | 142 |

Food Technology

Use of mezquite cotyledon (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) in the manufacturing of cereal bars
Ana María Estévez A., Berta Escobar A. y Viviana Ugarte A. 148

Storage of cereal bars with mezquite cotyledon (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz
Berta Escobar A., Ana María Estévez A. y M. Alejandra Guíñez C. 152

Obtention of chickpea extract fermented (*Cicer arietinum L.*) for use as a milky extensor
Josefina Morales de León , Ma. Lorena Cassís Nosthas, Patricia Cecin Salomón 157

Vegetable food resources from Guatemala with agroindustrial potential. Preparation of a vegetable milk from the seed of morro fruit (*Crescentia alata*)
Sergio A. Figueroa Madrid y Ricardo Bressani 164

Food Microbiology

Microbiological controls and critical control points during "for export" hake fillets manufacturing process
Silvia Esteveao Belchior, Oscar Héctor Pucci 171

Assessment of foods microbiological quality in food-service establishments
María Luisa de Curtis, Olgamar Franceschi y Norma De Castro 177

Food Toxicology

Determination of deoxynivalenol (DON) in wheat, barley and corn and its relationship with the levels of total molds, *Fusarium spp.*, infestation percentage and water activity
Marellys del Carmen Moreno Contreras, Amaury José Martínez Yopez y Rosa Raybaudi Martínez 183

Latin Food. Food Composition

Proximal analysis, fatty acids profile, essential aminoacids and mineral content of twelve fish species of commercial importance of Venezuela
Pedro Izquierdo Córser, Gabriel Torres Ferrari, Yasmína Barboza de Martínez, Enrique Márquez Salas y María Allara Cagnasso 187

Chemical composition and minerals content of leguminous and cereals produced in the Argentinean Northwest
Silvina Maldonado, Norma Sammán 195

Characterization of cocoa butter extracted from hybrid cultivars of *Theobroma cacao L.*
Fanny C. Padilla, Rigel Liendo, Agricia Quintana 200

NOTES 206

NEW BOOKS 208

INFORMATION FOR AUTHORS 209

Cariogenicidade e propriedades cariostáticas por diferentes tipos de leite-revisão

Poliana Mendes Duarte, Luciane Cristina Coppi, Pedro Luiz Rosalen

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Departamento de Ciências Fisiológicas-Piracicaba, S.P.

RESUMO. A proposta desse trabalho é apresentar uma revisão da literatura sobre o efeito tóxico e sistêmico dos diferentes tipos de leite na saúde dental, através da explicitação de sua cariogenicidade e propriedades cariostáticas. O leite em suas diferentes fórmulas bem como seus derivados são produtos consumidos em larga escala pela população mundial, merecendo há algumas décadas a atenção de pesquisadores sobre suas influências na cavidade oral. Diversos estudos têm sido conduzidos com objetivo de relacionar o consumo de leite bovino, materno e em fórmula infantil com o desenvolvimento de cáries e outros defeitos dentais. Mas, muitos resultados controversos ainda não conseguiram definir com exatidão os potenciais cariogênicos e cariostáticos dos diferentes tipos de leite. O leite bovino possui alguns componentes como a caseína, lipídios e enzimas antibacterianas que apresentam potencial cariostático, embora contenha também 4% de lactose, açúcar sugestivamente cariogênico. O leite humano, por sua vez, tem sido relatado como responsável pelo aparecimento de um tipo de cárie similar a cárie de mamadeira, apesar de alguns estudos defenderem sua não cariogenicidade. Já o leite em fórmula infantil, que é elaborado para determinadas épocas da infância, tem recebido baixo controle sobre sua capacidade de desenvolver cáries. Desvendar a controvérsia entre a cariogenicidade e propriedades cariostáticas dos diferentes tipos de leite, ou simplesmente instruir-se sobre esse assunto, poderia ter grande valor na prevenção de cáries durante a infância e na vida adulta.

Palavras chave: Leite, cárie, fórmulas infantis

SUMMARY. Cariogenicity and cariostatic properties of cow, human and infant formula milk-review. The purpose of this study is to introduce some information about local and systemic effects of different kinds of milk in oral health, through the explicitness of its cariogenicity and cariostatic properties. Different kinds of milk and milk products are consumed most commonly by the worldwide population, raising the interest of researchers in its influence in the oral health for some decades. Several studies have been conducted to associate the consumption of bovine-, human- and infant formula-milk with caries development and other dental defect, but controversial results have not been able to define the cariogenic and cariostatic potential of different kinds of milk. Bovine milk has some cariostatic components as casein, lipids and antibacterial enzyme, though it has 4% lactose, supposedly cariogenic sugar. Human milk has been related to a sort of caries which is like bottle caries, even though some studies have demonstrated its non cariogenicity. The infant formula milk, which is elaborated for specific period in the childhood, has received low control on its potential for developing caries. It could be of great value to elucidate the controversy surrounding the cariogenicity and cariostatic properties of different kinds of milk, concerning caries prevention during infant and adult life

Key words: Milk, caries, infant formula.

INTRODUÇÃO

A utilização do leite na alimentação humana é muito antiga e vem persistindo até os dias atuais de tal forma que o leite tem sido considerado um dos alimentos mais consumidos pela humanidade (1).

Embora o leite de muitas espécies seja explorado pelo homem, o leite bovino se destaca em produção e consumo e por isso merece maior atenção quanto aos seus efeitos na saúde da população. De forma geral, este produto contém glicídios (lactose), lipídios, protídeos (caseína, albumina), sais minerais, vitaminas e diversos outros elementos como ferro, flúor, iodo, cálcio e enzimas, todos consideravelmente importantes para o nosso organismo. Entre os muitos benefícios do consumo de leite e seus produtos estão o desenvolvimento e fortalecimento de ossos

e dentes (2). Restritamente em relação à saúde dental, deve ser enfatizado o potencial antibacteriano de suas enzimas (3) e anticariogênico de algumas fosfoproteínas (4), bem como o papel da vitamina D, do cálcio e do flúor na estrutura do dente (5). O leite bovino contém ainda aproximadamente 4% de lactose, que teoricamente poderia contribuir para o desenvolvimento de cárie, tornando esse alimento um dos principais responsáveis pela destruição dental (6). Com base nesses fatores, muitos trabalhos procuram esclarecer o verdadeiro papel desse tipo de leite na saúde bucal, investigando a cariogenicidade e propriedades cariostáticas de seus componentes.

Várias campanhas têm sido desenvolvidas com objetivo de motivar e orientar a população sobre a importância da amamentação materna no desenvolvimento físico e psicológico da criança. O leite humano, assim como o bovino, é

composto por proteínas, lipídios, carboidratos (lactose 7%), vitaminas lipó e hidrossolúveis, minerais como cálcio, iodo, flúor e ferro sendo a única fonte de nutrientes nas primeiras semanas de vida dos bebês. A composição do leite humano muda significativamente durante o período de lactação como um mecanismo fisiológico do organismo da mãe. Por esse motivo, diversos trabalhos tentam esclarecer se a qualidade do leite pode ser afetada por fatores externos como contaminantes e malnutrição (7). De maneira geral, o leite humano é um sistema nutricional e imunológico com adequados níveis de vitamina D e flúor para saúde dental da criança (5). Por outro lado, um prolongado e excessivo período de amamentação materna tem sido relatado por alguns autores como causa do aparecimento de um padrão de cárie rampante que se manifesta em incisivos superiores e mais tarde em molares superiores e inferiores (8-11). O verdadeiro efeito do leite humano na saúde oral ainda é algo em discussão por pediatras, dentistas e pesquisadores.

Uma grande variedade de leites formulados, líquidos ou em pó, tem sido encontrada nas prateleiras de supermercados e farmácias e vêm ganhando espaço na suplementação nutricional de bebês e crianças, muitas vezes indicados pelo próprio pediatra. A composição do leite bovino é alterada pela indústria que acrescenta ou reduz elementos originando o leite formulado, utilizado pelas mães em determinada época da vida do infante. Exemplos destes são leites conhecidos pelo maior teor de ferro e certas vitaminas, ou pelo baixo teor de lactose e gorduras. Devido a cárie de mamadeira, um caso típico de cárie rampante que afeta principalmente crianças menores de três anos, grande interesse tem sido dado ao conteúdo das mamadeiras. É lamentável observar que a discussão sobre as causas da cárie de mamadeira gira particularmente em torno de sucos de frutas e soluções açucaradas ingeridas antes do sono da criança e que informações sobre o potencial cariogênico de leite em fórmulas são surpreendentemente esparsas (12).

Em decorrência do consumo do leite bovino, materno e formulado, especialmente durante a infância, e tendo em vista a prevenção de doenças através da orientação de pais, pediatras e dentistas, esse trabalho consiste numa revisão bibliográfica sobre as propriedades cariogênicas e cariostáticas dos diferentes tipos de leite.

Leite bovino

O leite bovino é praticamente o único leite disponível em grande quantidade, com abrangência e consumo mundial, por isso sua relação com a saúde dental tem sido por muitos anos um tópico de bastante interesse. A literatura mostra uma intensa controvérsia nos resultados e conclusões a respeito das capacidades cariogênica e cariostática do leite bovino. Michal (13), examinou cuidadosamente informações de seus pacientes com cárie de mamadeira e concluiu que o leite bovino puro pode causar cárie dental. Vianna (14), num estudo *in vitro*, concluiu que leite sem adição de carboidratos pode produzir

cárie dental se estagnado sobre o dente por certo tempo. Por outro lado, pesquisas mais recentes contradizem tais informações colocando em evidência as propriedades cariostáticas do leite bovino (1,4,15-17).

O leite bovino possui fosfoproteínas, em destaque a caseína, que são fortemente adsorvidas no esmalte *in vitro* e aparentemente apresentam capacidade de prevenir a dissolução do esmalte bovino *in situ* (4,15). Um estudo *in vitro* de 1995, desenvolvido por Vacca-Smith & Bowen (18) demonstrou que a caseína do leite reduz a adsorção e a atividade da enzima glicosiltransferase (GTF), produzida pelos estreptococos, sobre a hidroxiapatita revestida por saliva (película salivar). Muitos componentes da dieta como carboidratos, lipídios e proteínas podem ser incorporados à película adquirida e afetar a atividade da glicosiltransferase sobre a superfície do dente. Segundo esse estudo, a kappa-caseína e o leite bovino são exemplos desses componentes, pois foram capazes de reduzir a adsorção da GTF sobre a hidroxiapatita resultando numa menor produção de glucano. Toda caseína derivada do leite bovino, comportou-se como um potente inibidor da adesão de *Streptococcus sanguis* (OMZ 9) e *Streptococcus sobrinus* (OMZ 176) sobre a hidroxiapatita, quando comparadas a outras proteínas, apesar de não interferir na fixação de *Actinomyces viscosus* Ny1. A caseína também mostrou-se capaz de atacar a superfície das células bacterianas. Esses resultados sugerem que essa proteína do leite bovino tem efeito inibitório dos estreptococos orais pois é capaz de interagir com a superfície da bactéria, que está envolvida na adesão (19).

O leite contém ainda uma classe de substâncias antibacterianas como a lactoferrina, a lisozima e a peroxidase, que podem afetar a microflora bucal (1). Arnold et al. (16), demonstraram que a lactoferrina pode apresentar efeito bactericida contra várias cepas bucais, inclusive *S. mutans*, em pH 5-6. Os efeitos bacteriostáticos dessa enzima foram relacionados ao seqüestro do ferro e a conseqüente privação nutricional do microorganismo (17). A lisozima, uma proteína catiônica, é bastante conhecida por sua atividade de muramidase, clivando a ligação beta-1,4 glicosídica entre o N-acetil ácido murâmico e a N-acetilglicosamina dos peptidoglicanos bacterianos. Outros trabalhos indicam que a lisozima pode apresentar diversos efeitos antimicrobianos não necessariamente ligados a atividade de muramidase. Esses mecanismos antimicrobianos incluem agregação ou aderência bacteriana, rompimento de membrana na presença de ânions e ativação de autolisinas. Em relação a peroxidase, está bem estabelecido que esta catalisa a oxidação do tiocianato na presença de peróxido de hidrogênio e gera o ânion hipotiocianeto e o ácido hipotiocianoso, produtos tóxicos que inibem o crescimento e o metabolismo bacteriano (1).

O leite bovino apresenta também aproximadamente 3,5% de gordura (20), que atua formando uma membrana protetora na superfície do dente e envolve os carboidratos da dieta, facilitando sua remoção da cavidade bucal. Esse efeito dos

lipídios presentes no leite reduz a atividade bacteriana e conseqüentemente colabora para que o leite exerça efeito cariostático (15).

Reynolds & Johnsson (21), demonstraram uma redução na incidência de cárie em ratos, que receberam uma dieta cariogênica suplementada com leite bovino e sugeriram que este efeito fosse atribuído ao leite. Por outro lado, alguns trabalhos propõem que uma vez que o leite bovino possui 4% de lactose, açúcar formado por glicose e galactose, ele é potencialmente cariogênico (21,22). Bowen et al. (6), realizaram um trabalho em ratos dessalivados que determinou a cariogenicidade do leite bovino (com 2% de gordura) e do leite com lactose reduzida comparando-os com soluções de sacarose e lactose 4% e avaliaram o índice de cárie e a microbiota bucal dos animais. Os grupos que receberam leite e leite com lactose reduzida praticamente não tiveram lesões de cárie, mesmo em condições altamente susceptíveis ao desenvolvimento de cárie criada pela dessalivação animal. O grupo que ingeriu soluções de lactose 4% apresentou maior colonização de *S. sobrinus* que os demais grupos. Segundo a discussão do trabalho, o leite possui propriedades antibacterianas pois embora o leite bovino contenha 4% de lactose, menor número de *S. sobrinus* foi observado nos animais alimentados por leite e leite com lactose reduzida em relação ao grupo que ingeriu solução de lactose a 4%. Os autores atribuíram tal fato às substâncias antibacterianas (lactoperoxidase, lactoferrina, lisozima, etc.) presentes no leite bovino, sem descartar a hipótese de que o grande volume de leite consumido pelos animais poderia ter promovido efeito de lavagem ou uma redução mecânica dos microrganismos.

Uma vez que os resultados desse trabalho mostraram que o leite não é cariogênico em ratos dessalivados, Bowen & Pearson (1), deram continuidade ao estudo, com o objetivo de esclarecer se esse alimento possui propriedades cariostáticas. A primeira fase da pesquisa examinou o efeito do leite comum, leite com lactose reduzida e soluções de lactose a 4%, sacarose a 10%, frutose a 10% e água destilada sobre a população microbiana e no desenvolvimento de cárie em ratos alimentados com uma dieta cariogênica. Os resultados dessa etapa demonstraram maior índice de cárie nos animais que receberam sacarose e frutose e concluíram que nem leite, nem leite com baixo teor de lactose são cariogênicos. Na segunda fase do experimento houve comparação entre leite comum (2% de gordura), leite comum com diversas concentrações de sacarose (2%, 5%, 10% de sacarose,) e água destilada com 10% de sacarose, a fim de determinar se o leite apresenta propriedades cariostáticas quando adicionada sacarose. O grupo que recebeu 10% de sacarose em água demonstrou maior índice de cárie, conforme as expectativas. Ficou claro que a adição de sacarose ao leite (mesmo na baixa concentração de 2%) provoca maior atividade de cárie que o leite puro, mas soluções de leite com sacarose são menos cariogênicas que soluções de água com sacarose. Essas observações sugerem que os componentes do leite exercem modesta proteção contra a sacarose quando

ingeridos simultaneamente. Os resultados desse trabalho diferem quanto a quantidade e localização de cárie em relação ao trabalho realizado por Reynolds & Johnson (23). Apesar de em ambas as pesquisas o leite ter demonstrado efeito protetor, Bowen & Pearson (1) utilizaram leite com 2% de gordura, enquanto o outro trabalho examinou leite que continha 4-5% de gordura. No estudo de Reynolds & Johnson (23) os lipídios poderiam ter influenciado o efeito cariostático do leite intensificando a proteção do dente contra cárie.

Carbonel et al. (24), desenvolveram um trabalho cujo objetivo foi avaliar o potencial cariogênico do leite bovino *in situ*. Foi aplicado em blocos de esmalte humano (contidos em resinas acrílicas fixadas na boca de dez voluntários) leite bovino ou leite bovino contendo 10% de sacarose numa frequência de oito vezes ao dia. Durante o período experimental os voluntários usaram dentifrício fluoretado *ad libitum*, mas não escovaram o esmalte do bloco. Análises estatísticas da placa e do esmalte coletado mostraram diferenças significantes ($p < 0,05$) entre os tratamentos de leite oferecidos com e sem sacarose, salvo em relação a microbiota. Considerando as condições altamente cariogênicas desenvolvidas no trabalho (dente imaturo, acúmulo de placa, alta exposição ao substrato e ação limitada da saliva) foi concluído pelos autores que o leite bovino não é cariogênico, embora a adição de açúcar ao leite suprima seu efeito cariostático.

Parte da população prefere consumir queijos e outros derivados a ingerir leite comum. Um grande número de evidências tem sido acumuladas para mostrar que uma dieta adequada com produtos derivados do leite tem um efeito inibidor da cárie dental (2). Segundo Konikof (25), os produtos laticínios têm potencial cárie inibidor quando consumidos em quantidades suficientes. Recentemente, as propriedades cariostáticas do queijo têm sido submetidas a intensas pesquisas. Estudos sugerem (2,25,26) que o queijo ingerido no final das refeições ajuda a reduzir a cariogenicidade dos alimentos. Alguns mecanismos pelos quais o queijo reduz a desmineralização têm sido propostos: 1) a mastigação do queijo estimula o fluxo salivar e origina uma saliva alcalina com capacidade tamponante; 2) a saliva estimulada tem ação diluente e aumenta a eliminação do açúcar; 3) a mastigação do queijo pode reduzir o número de bactérias cariogênicas e diminuir a incidência de cáries. 4) o conteúdo de cálcio e fósforo presente no leite colabora com a remineralização do esmalte; 5) a caseína e outras proteínas do soro do leite estão envolvidas na redução da desmineralização e concentração de cálcio e fosfato na placa dental (26).

Shaw (27), dirigiu um estudo para testar a influência do leite e alguns derivados na susceptibilidade à destruição dental. Leite, chocolate, queijo tipo cheddar e sorvete foram administrados a ratos, separadamente e em combinação. Os resultados mostraram que houve menor número de cáries nos grupos onde alguma forma de leite foi incluída na dieta.

Por fim, o leite bovino possui propriedades físicas similares a saliva que poderiam, segundo alguns autores, torná-lo um

bom substituto salivar (28). Segundo Bowen et al. (6), uma vez que leite comum ou com baixo teor de lactose, tem um insignificante potencial cariogênico, poderiam ser recomendados para aliviar o desconforto de pacientes que sofrem de hipossalivação sem que estes corram riscos de desenvolver cáries.

De forma geral, essas informações sobre os efeitos do leite bovino na saúde bucal, têm um grande valor na orientação dos hábitos alimentares e conseqüente prevenção da cárie dental, além de possibilitar um método alternativo de substituição salivar.

Leite humano

O período de amamentação materna tem sido considerado importante para o crescimento de ossos e músculos e para o desenvolvimento imunológico e psicológico da criança. Os atos de abertura, protusão, sucção e compressão da gengiva para extrair o leite do seio materno exercitam fortemente os músculos e são responsáveis pelo crescimento fisiológico e posicionamento correto da mandíbula. Tem sido encontrado que o músculo digástrico do bebê é duas vezes mais forte que do adulto e que os movimentos contribuem para a abertura e drenagem da faringe e tuba auditiva, ajudando a reduzir os riscos de infecções auditivas e respiratórias. A relação entre as práticas de alimentação, o desenvolvimento da oclusão e o posicionamento da língua tem sido investigado por alguns pesquisadores. Alguns estudos têm sugerido que muitos bicos de mamadeiras permitem que o líquido flua muito rapidamente e obrigue o bebê a empurrar sua língua para frente para obstruir o fluido de leite enquanto engole. Esse fator, associado ao baixo esforço muscular requerido para retirar o leite, seria responsável pelo mau posicionamento da língua e pelo pobre desenvolvimento oral (5).

Apesar de todas as qualidades nutricionais do leite bovino, esse não é o tipo de leite mais indicado para a alimentação do recém-nascido. O leite oferecido pela mãe nos primeiros meses de vida possui componentes nutricionais e imunológicos que o torna mais vantajoso em relação aos demais tipos de leite. Em particular interesse para saúde dental estão a vitamina D, o flúor e conteúdo de cálcio e fósforo (5).

A proporção de vitamina D presente no leite humano e sua relação com a nutrição materna ainda são controversas. Trabalhos demonstram que, quando comparada às fórmulas infantis, os níveis de vitamina D lipossolúveis tendem a ser baixos no leite materno, enquanto a proporção de hidroxivitamina D é relativamente alta (5). Hollos et al. (29), mostraram que o baixo nível dessa vitamina no leite pode ser aumentado com suplementos dados a mãe, apesar da concentração de 25-hidroxivitamina D não ser afetada pela suplementação. Como relatado por Westover et al. (5), recomendar a suplementação de vitamina D no período de amamentação é apropriado quando a mãe tem baixa ingestão dessa vitamina e/ou mãe e filho raramente são expostos ao sol. Raquitismo causado por deficiência de vitamina D é incomum em crianças que se

alimentam por leite humano. Tem sido notado que o aumento dos níveis de vitamina D no leite parece ter pequena importância fisiológica para a criança pois o maior responsável pelo raquitismo não é ausência dessa vitamina e sim a baixa exposição à luz solar (30).

A ingestão de fluoretos durante o período neonatal e sua concentração no leite materno também é ainda algo controverso. Bo Lönnerdal (7), relatou trabalhos onde o leite humano de áreas com baixo conteúdo de flúor na água apresentou menor proporção de flúor que áreas altamente fluoretadas; por outro lado alguns autores (31,32) não encontraram efeito significativo da ingestão de água fluoretada na concentração desse elemento no leite humano. Hodge (33), reportou que o conteúdo de flúor no leite materno é inferior a que 0,5mg/L, levando a uma baixa obtenção desse elemento pelo bebê. Como descrito por Westover et al (5) suplementar a dieta de uma mulher com fluoretos tem baixo ou nenhum efeito em seu leite, não sendo necessário, portanto, tal suplementação. A suplementação é muitas vezes recomendada exclusivamente para o bebê, caso este não resida numa comunidade com água fluoretada em níveis ideais.

Assim como a vitamina D e o flúor, a capacidade de outros componentes, que a mãe tem contato durante a gestação, em alterar a qualidade do leite materno de outros tem sido freqüentemente estudada. Recentemente, o conteúdo de contaminantes ambientais no leite materno e seu efeito na saúde oral têm merecido interesse (34). Alaluusa et al (11), demonstraram que há associação entre a exposição de crianças normais à dióxidos, via leite materno, e a hipomineralização do primeiro molar permanente. Neste mesmo ano, outro trabalho analisou a associação entre a duração da amamentação materna e a ocorrência de defeitos dentais. Os resultados mostraram que os defeitos foram mais extensos em crianças que passaram por prolongado contato com o leite materno. Logo, um prolongado período de amamentação no peito pode aumentar o risco de defeitos de mineralização pela interferência de contaminantes no desenvolvimento dental. O leite humano é a fonte de energia essencial para a criança, logo, todo cuidado para reduzir os níveis de contaminantes deve ser tomado a fim de que esse alimento não prejudique a saúde oral (11).

O leite humano tem sido considerado por alguns profissionais o agente responsável pelo aparecimento de uma forma típica de cárie dental. Esta condição geralmente se atribui ao fato de mães que amamentam seus filhos além de dois e três anos, permitem que a criança mame com alta freqüência por longos períodos e durma em contato com o seio. Esta circunstância leva a uma rápida destruição dos dentes anteriores originando lesões semelhantes a cárie de mamadeira (8). A cárie de mamadeira, por sua vez, pode ser observada em crianças jovens que utilizam mamadeiras, contendo leite ou outro líquido, antes ou durante o sono. As lesões têm aspecto de cárie rampante, pois são amplas, de progressão rápida, com envolvimento pulpar precoce e

atingindo os incisivos superiores. Acredita-se que os incisivos inferiores são pouco afetados pois estão constantemente sendo banhados pela saliva (20), além de estarem sob a proteção da língua (35,36). A posição do bico do seio ou da mamadeira, entre o palato e a língua, permite um prolongado contato dos dentes superiores com o líquido cariogênico (20), enquanto a diminuição do fluxo salivar durante o sono favorece ainda mais a utilização do substrato pela bactéria (8).

O leite humano possui uma concentração de lactose (7%) superior aos demais tipos de leite (20). Kurosaw (37), relatou a variação do pH da placa dento-bacteriana em função de vários açúcares e concluiu que a lactose não reduziu o pH tão bruscamente quanto a sacarose, glicose, frutose e maltose. A hidrólise da lactose [O-β-galactopiranosil (1—4) β-D-glucapiranosil], dissacarídeo redutor que possui um carbono anomérico livre no resíduo de glicose, produz a D-galactose e a D-glucose e libera 3,3 kJ/mol de energia. A sacarose em contraste com a maioria dos dissacarídeos não age como açúcar redutor e não possui átomos de carbono anomérico livre pois os átomos das duas hexoses estão ligados entre si (38). A sacarose é mais facilmente hidrolisada que os demais dissacarídeos liberando cerca de 6 kJ/mol de energia que lhe proporciona a produção de polissacarídeos extracelulares de reserva (frutano, glucano) e uma matriz polissacarídeo insolúvel (mutano). Estes polissacarídeos extracelulares favorecem a colonização de *S. mutans* e a adesividade da placa e permitem que ela se agregue aos dentes em maior quantidade que os demais açúcares (39).

Porém, Vianna (14) concluiu que o leite puro (bovino ou humano) pode produzir cárie dental quando estagnado por um longo período de tempo sobre o dente, pois a lactose possui potencial desmineralizante. Se outros carboidratos são adicionados ao leite sua cariogenicidade aumenta ainda mais, mesmo por um pequeno período de exposição. Gardner et al. (20), relataram quatro casos em que hábitos de amamentação materna levaram à cárie dental. Segundo os autores, a amamentação materna por longos períodos de tempo e alta frequência, incluindo amamentações noturnas, foi a principal responsável pela indução de cárie dental nas crianças relatadas uma vez que, segundo relato das mães, nenhuma delas fazia uso de outro tipo de leite ou de sacarose.

Matee et al. (40), investigaram a prevalência de estreptococos do grupo mutans e de lactobacilos em crianças com presença e ausência de cáries rampantes, que se alimentavam de leite humano e não consumiam outra forma abusiva de alimentação, nem faziam uso de mamadeiras. A contagem de microrganismos foi mais acentuada na placa e saliva das crianças portadoras de cáries rampante, com prevalência de lactobacilos dentro das cavidades cariosas, meio retentivo com baixo pH e favorável para sua proliferação. Crianças livres de cáries também tiveram alta prevalência dessas bactérias, demonstrando que, na população estudada, os resultados microbiológicos explicam parcialmente a presença de cáries. Por fim, segundo Matee et al. a amamentação

materna permite a colonização e proliferação de estreptococos do grupo mutans e de lactobacilos nos dentes e cárie rampante pode ocorrer nesse período mesmo em crianças que não utilizam mamadeiras ou outra forma abusiva de alimentação. Tsubouchi et al. (41), e Hallonsten et al. (42), investigaram os fatores de risco de cárie rampante em crianças com dezoito meses, pertencentes à comunidades rurais do Japão e à diferentes partes da Suécia respectivamente, e concluíram que um prolongado aleitamento materno aumenta a ocorrência de cárie dental quando é permitido que o leite permaneça sobre o dente.

Por outro lado, existem trabalhos que discordam com o fato de que o leite humano seja responsável pelo desenvolvimento de cáries. Alaluusua et al. (43), determinaram a relação entre a prevalência de cárie e níveis de *Streptococcus mutans* na saliva e a duração da amamentação materna. Os resultados dessa pesquisa sugeriram que a amamentação materna não afeta o processo de cáries e o nível desse microrganismo. A lactose é fermentada pela bactéria, mas ainda existe dúvida se esse açúcar sozinho é capaz de promover a colonização de *Streptococcus mutans*, essencial para induzir cárie dental como ocorre em relação a sacarose. Dessa forma, a amamentação no peito não pode ter influência no aumento ou redução da prevalência de cárie e o aleitamento por um longo período pode ser indicado por dentistas para promover saúde geral e dental da criança.

Eronat & Eden (44), relataram um estudo do processo de amamentação no peito e na mamadeira, a fim de encontrar uma explicação para o aparecimento desse tipo de cárie durante a amamentação. O trabalho indicou que o bico do seio descansa entre o palato duro e mole e que após a sucção o leite é depositado na região posterior da língua e da orofaringe, estimulando o reflexo de deglutição. Através da mamadeira, muitas vezes o infante não extrai leite suficiente para que esse reflexo seja estimulado. Os volumes de leite obtido da mãe e da mamadeira são semelhantes, mas o seio ocupa maior volume na boca em comparação ao bico artificial da mamadeira. Assim, a amamentação pela mamadeira permite que o leite acumule em torno do dente até que o reflexo seja estimulado por um período de tempo maior que o aleitamento materno.

Araújo et al. (45), desenvolveram um trabalho cujo objetivo foi avaliar o potencial cariogênico do leite humano *in situ*. Aplicou-se, oito vezes ao dia, leite humano e solução de sacarose a 20% em resinas acrílicas contendo quatro blocos de esmalte humano extraídos de terceiro molar. Durante o experimento todos os voluntários usaram dentifício fluoretado *ad libitum*, mas não executaram controle mecânico de placa nos blocos. Níveis de fósforo e polissacarídeos, assim como *S. mutans* e *Lactobacillus* da placa dental coletada foram analisados. A análise estatística mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) de polissacarídeos na placa e dureza do esmalte entre os tratamentos. Os autores concluíram que mesmo em altas condições de cariogenicidade (dente imaturo, retenção de placa, grande quantidade de substrato e ação limitada da

saliva) o leite humano não é cariogênico.

Os relatos acima tornam clara a controvérsia que existe em relação à cariogenicidade do leite humano. É indiscutível que este leite é a grande fonte alimentar do bebê e que atribuir o processo de cárie somente a esse alimento seria uma condenação injusta à um produto tão essencial. Trabalhos laboratoriais e epidemiológicos devem ser conduzidos com um rígido controle para minimizar a discussão sobre os resultados de cariogenicidade do leite humano. Quanto as propriedades cariostáticas, investigações sobre esse assunto devem ser colocadas em evidência num futuro próximo.

Leite formulado

Sem dúvidas os hábitos de alimentação afetam diretamente a saúde geral e dental da criança. Odontopediatras e outros profissionais discutem o crescimento da incidência da cárie de mamadeira em pacientes com idade inferior a 3 anos (35). Este tipo de cárie possui algumas características, bem discutidas entre pesquisadores e dentistas, as quais são: 1) atinge os incisivos superiores seguidos dos molares superiores e raramente atingem os dentes inferiores; 2) está associado a um prolongado período de amamentação na mamadeira e segundo alguns trabalhos ao leite materno; 3) é atribuído principalmente ao conteúdo de açúcar na mamadeira; 4) geralmente está associado a amamentação antes ou durante o sono; 5) pode estar associada à predisposição genética (20,35,46); 6) parece ter relação com uma forte infecção por estreptococos do grupo mutans (47). A infecção dental pode atingir dentes vizinhos originando uma destruição irreparável com necessidade de remoção dos dentes e impedindo que o espaço adequado para a erupção do permanente seja mantido (48). Pesquisas têm sido conduzidas para identificar a prevalência, a causa e o tratamento dessa doença.

Eronat & Eden (44), examinaram os fatores etiológicos e as características da dieta de crianças portadoras de cárie rampante. Segundo esses autores uma dieta não balanceada, contendo alto teor de açúcar, e um prolongado uso de mamadeira são os principais fatores causadores desse tipo de cárie. Marino et al. (46) analisaram os fatores de risco da cárie de mamadeira e incluíram entre eles: o uso da mamadeira por mais de quinze meses; a frequência de amamentação antes do sono, a inadequada suplementação de flúor, a inadequada orientação médico-odontológica, crianças com forte temperamento, problemas para dormir e carência afetiva.

Em relação ao conteúdo das mamadeiras, muita atenção tem sido dada para sucos e fluidos adocicados, mas poucas pesquisas têm investigado o potencial cariogênico dos leites infantis formulados. Este tipo de leite é processado pela indústria e tem alguns de seus componentes modificados, como minerais, vitaminas, carboidratos e lipídios. É relativamente comum, em determinada época do desenvolvimento da criança, mães preencherem as mamadeiras de seus filhos com leites formulados.

Polímeros de glicose estão sendo acrescentados em fór-

mulas infantis como suplemento energético, mas informações sobre o efeito desses componentes na saúde dental são praticamente inexistentes. Um estudo recente investigou se os polímeros de glicose a 10% em água, leite bovino e colágeno são acidogênicos e têm capacidade de reduzir o pH da placa para níveis associados a desmineralização do esmalte. Os resultados mostraram que os polímeros de glicose podem reduzir o pH da placa e, portanto, podem estar associados a um aumento da cariogenicidade dos leites formulados, embora sejam menos cariogênicos que a sacarose (49).

Bowen et al. (12), utilizando um modelo de cárie experimental, determinaram o potencial cariogênico de várias fórmulas infantis comumente utilizadas no mercado americano e compararam seus efeitos com aqueles observados em ratos tratados com soluções de sacarose, água destilada e leite bovino contendo 2% de gordura. Os resultados mostraram que algumas fórmulas infantis são altamente cariogênicas e que todas elas desenvolveram algum nível significativo de cárie. A solução de sacarose induziu alta destruição dental, enquanto os leites formulados testados foram classificados em baixa, moderada e alta capacidade de induzir cáries. Os resultados mostraram também a dificuldade em prever a cariogenicidade das fórmulas baseando apenas no conteúdo de carboidratos, pois outros componentes como cálcio, fósforo, ferro e peptídeos podem influenciar a capacidade de produzir cáries dos açúcares. Neste trabalho, por exemplo, os autores concluíram que os leites classificados com alta cariogenicidade apresentaram como característica baixo teor de ferro.

Dentistas, pais e pediatras devem estar atentos a administração de leite formulado para crianças, a fim de minimizar o comprometimento precoce da saúde dental.

CONCLUSÃO

De acordo com os dados da literatura, embora exista muita controvérsia sobre as propriedades cariogênicas e cariostáticas dos diferentes tipos de leite podemos sugerir que:

- o leite bovino não é cariogênico quando utilizado de forma racional e possui propriedades cariostáticas bastante nítidas;
- o leite humano, segundo trabalhos recentes não é cariogênico, mas pode induzir uma espécie de cárie rampante quando associado a fatores coadjuvantes, tais como: queda do fluxo salivar durante o sono, presença de outros alimentos na dieta, alta frequência de consumo, longo período de amamentação etc. Em relação as suas propriedades cariostáticas outras pesquisas devem ser desenvolvidas pois a literatura é desfavorecida de tais informações;
- leites em fórmulas infantis devem ser investigados e controlados pois podem induzir cárie dental e as informações disponíveis na literatura sobre esse assunto são extremamente escassas.

Não podemos deixar de enfatizar que os leites bovino, humano e formulado não consistem fatores de risco para cárie dental

quando usado de forma racional, associado à uma higiene bucal eficaz e à utilização de fluoretos.

REFERÊNCIAS

- Bowen WH, Pearson SK. Effect of milk on cariogenesis. *Caries Res.*, 1993;27:461-6.
- White, CH. -Milk, milk products, and dental health. *J Dairy Sci*, 1987;0(2): 392-6.
- Kosikowski F. Cheese and fermented milk foods. *Ann Arbor, Edwards Brothers* 1970; p. 330.
- Reynolds EC. The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res*, 1987;66(6): 1120-7.
- Westover KM, DiIloreto MK, Shearer TR. The relationship of breastfeeding to oral development and dental concerns. *ASDC J Dent Child*, 1989;56(2): 140-3.
- Bowen WH, Pearson SK, Van Wuyckhuysse BC, Tabak LA. Influence of milk, lactose - Reduced Milk, and lactose on caries in desalivated Rats. *Caries Res*, 1991;25(4): 283-6.
- Bo Lönnnerdal. Effects of maternal dietary intake on human milk composition. *J Nutr*, 1986;116: 499-513.
- Kotlow LA. Breast feeding: a cause of dental caries in children. *J Dent Child*, 1977;44: 192-3.
- Roberts GJ. Is the breast feeding a possible cause of dental caries? *J Dent*, 1982;10:346-52.
- Alaluusua S, Lukinmaa PL, Koskimies M, Pirinen S, Hölta P, Kallio M, Holttinen T, Salmenperä L. Developmental dental defects associated with long breast feeding. *Eur. J. Oral Sci.*, 104: 493-7, 1996.
- Alaluusua S, Lukinmaa PL, Vartiainen T, Partanen M, Torppa J, Tuomisto J. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans via mother's milk may cause developmental defects in the child's teeth. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 1996;1: 193-7.
- Bowen WH, Pearson SK, Rosalen PL, Miguel JC, Shih AY. Cariogenic potential of some infant formulas, milk and sugar solutions. *J.A.D.A.*, 1997;128(7): 865-71.
- Michal BC. Bottle mouth caries. *J. Louisiana Dent. Assoc.*, 27: 10-3, 1969. Apud Gardner DE, Norwood JR, Eisonson JE. Op. cit. Ref. 20
- Vianna R. Cariogenic potential of milk. Thesis. Indiana University school of Dentistry, 1971. Apud Gardner DE, Norwood JR, Eisonson JE. Op. cit. Ref. 20
- Rusoff LL, Konikoff BS. Fluoridation of milk and dairy products. In: INT. Congr. Nutr, 10., 1975, Kyoto, Jpn. Apud White C.H. Op. cit. Ref. 56.
- Arnold RR, Brewen M, Gauthier, JJ. Bactericidal activity of human lactoferrin: sensitivity of a variety of microorganism. *Infect. Immun.*, 28: 893-8, 1980.
- Bowen WH, Tabak LA. *Cariologia para a década de 90.* São Paulo, Livraria e Editora Santos, p. 118-22, 1995.
- Vacca-Smith AM, Bowen WH. The effect of milk and kappa casein on streptococcal glucosyltransferase. *Caries Res.*, 1995;29 (6): 498-506.
- Nesser JR, Golliard M, Woltz A, Rouvet M, Dillmann ML, Guggenheim B. In vitro modulation of oral bacterial adhesion to saliva-coated hydroxyapatite beads by milk casein derivatives. *Oral Microbiol. Immunol.*, 1994;9(4): 193-201.
- Gardner DE, Norwood JR, Eisonson JE. At-will breast feeding and dental caries: four case reports *ASDC J. Dent. Child*, 186-191 may-june, 1977.
- Shaw, JH, Ensfield BJ, Wollman, DH. Studies on the relation of dairy products to dental caries in caries-susceptible rats. *J Nutr* 1959;67: 253-273.
- Stephan RM. Effects of different types of human foods on dental health in experimental animal. *J Dent Res* 1966;45: 1551-61.
- Reynolds EC, Johnson IA. Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat. *Source Arch Bio*, 1981;26(5): 445-51.
- Carbonel VV, Basile KA, Vicentini MR, Del Bel Cury AA, Maltz M, Araujo FB, Cury JA. An in situ cariogenesis of bovine milk. *J. Dental Research*, 1995;74(3): 811.
- Konikoff BS. Milk as a vehicle for sodium fluoride, for the prevention of dental caries in children. M.S. Louisiana State Univ., Baton Rouge, 1960 (Thesis) Apud WHITE C.H. Op. Cit. Ref. 56
- Herod EL. The effect of cheese on dental carie: a review of the literature. *Aust Dent J*, 1991;36(2): 120-5.
- Shaw JH. Studies on the influence of dairy products on development and maintenance of teeth. *Nutrition news*.2. Am. Dairy Assoc., 1959. Apud White C.H. Op. cit. Ref. 56
- Reynolds EC, Storey E. A review of the effect of milk on dental caries. *Aust J. Dairy Tech.*, 1975- 9, 1979.
- Hollis BW, Lambert PW, Horst RL. Factors affecting the antirachitic sterol content of native milk. In: Holick MF, Gray TK & Anast CS., eds. - Perinatal calcium and phosphorus metabolism. New York, Elsevier Science publishing Co., 1983. p. 157-182. Apud Bo Lönnnerdal Op. cit. Ref. 9.
- Ala-Houhala, M. 25- hydroxyvitamin D levels during breast-feeding with or without maternal or infantile supplementation of vitamin D. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*, 1985;4:220-6.
- Spak CJ, Hardell LI, De Chateau P. Fluoride in human milk. *Acta Paediatr Scand* 1983;72 (5): 699-701.
- Opinya GN, Bwibo N, Valderhaug J, Birkeland JM, Lokken P. Intake of fluoride and excretion in mothers' milk in a high fluor (ppm) area in Konya. *Eur J Clin Nutr* 1991;45(1): 37-41.
- Hodge HC. Metabolism of fluorides. *J. Am. Med. Assoc.*, 177-313, 1961 Apud WHITE, C.H. Op cit. Ref. 56.
- Furst P, Furst C, Imlers K. PCDDs and PCDFs in human milk statistical evaluation of a 6-years survey. *Chemosphere*, 1992;25: 1029-38.
- Shelton PG, Benkowitz RJ, Forrester DJ. Nursing bottle caries. *Pediatrics*, 1977;59(5): 777-8.
- Johnsen DC. Dental caries patterns in preschool children. *Dental Clinics N A*, 1984;28:1.
- Kurossaw A. Studies on the consuming conditions of various carbohydrates influencing the pH in plaque. *Shikwa Gaku*, 60: 68-79, 1960. Apud Gardner DE, Norwood JR, Eisonson JE. Op. Cit. Ref. 20.
- Lehninger AL. *Bioquímica -Componentes moleculares das células.* São Paulo: e. Blücher, 1976. v.1
- Newbrun E. Sucrose in the dynamics of the carious process. *Int Dent J*, 1982;32: 13-23.
- Matee, MIN, Mikx FHM, Maselle SYM, Van Palenstein Helderma VH. Mutans streptococci and Lactobacilli in breast-fed children with rampant caries. *Caries Res*, 1992;26(3): 183-7.
- Tsubouchi J, Higashi T, Shimono T, Domoto PK, Weinstein P. Baby bottle tooth decay: A study of baby bottle tooth decay and

- risk factors for 18- month old infants in rural Japan. *ASDC J. Dent. Child*, 1994;61(4): 293-8.
42. Hallonssten AL, Wendt LK, Mejare I, Birkhed D, Hakansson C, Edwardsson S, Koch G. Dental caries and prolonged breast-feeding in 18-month-old Sweden children. *Int J Paediatr Dent* 1995;5(3): 149-55.
 43. Alaluusua S, Myllärniemi S, Kallio M, Salmenperä L, Tainio VM. Prevalence of caries and salivary levels of mutans streptococci in 5-year-old children in relation to duration of breast feeding. *Scand. J. Dent. Res*, 1990;98:193-6.
 44. Eronat N, Eden E. A comparative study of some influencing factors of rampant or nursing caries in preschool children. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 1992;16(4): 275-9.
 45. Araujo DR, Velasco LF, Del Bel Cury AA, Maltz M, Araujo FB, Cury JA. An in situ evaluation of cariogenic potential of human breast milk. *J Dent Research.*, 1995;74(3): 811.
 46. Marino RV, Bomze K, Scholl TO, Anhalt H. Nursing bottle caries: characteristics of children at risk. *Clin Pediatr*, 1989;28(3): 129-131.
 47. Berkowitz RG, Turner J, Hughes C. Microbial characteristics of human dental caries associated with prolonged bottle-feeding. *Arch Oral Biol.*, 1984;29(11): 949-51.
 48. Andlaw RJ, Rock WP. *A Manual of paedodontics*; Edinburgh, Churchill Livingstone, 1987, p.82. Apud Krovesi T, Levison H. Op cit. Ref. 29.
 49. Moynihan PJ, Gould ME, Huntley N, Thorman S. Effect of glucose polymers in water, milk and milk substitute on plaque pH in vitro. *Int J Paediatric Dent*, 1996;6(1): 19-24.

Recibido:16-02-1999

Aceptado:22-05-2000

Fatores de risco ao retardo de crescimento estatural em crianças de baixo nível econômico e social de São Paulo, Brasil

Paulo R. Gallo, Hugo Amigo, Leone Claudio

Instituto da Criança da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Brasil

RESUMO. Objetivando analisar fatores determinantes do retardo de crescimento em crianças na idade escolar, realizou-se um estudo caso-controle com 153 pares de crianças entre 7 e 8 anos de idade, de escolas públicas da periferia de São Paulo. Os casos, definidos como crianças com estatura entre -1 e -2 escore Z e os controles, situados entre $\pm 0,5$ escore Z de estatura/idade, pelo referencial do NCHS-OMS. Critérios complementares de sexo, idade, escola, classe e turno escolar foram utilizados no pareamento. A estatura, foi medida na escola por profissionais treinados segundo protocolo da OMS, e as informações sócio-econômicas e ambientais, coletadas nos domicílios. As informações foram analisadas por método univariado condicional e, posteriormente, por método multivariado em regressão logística incondicional incluindo as variáveis significativas. No modelo final, a estatura materna foi tratada como variável contínua, escalonada em desvios padrão, e as demais foram tratadas como variáveis discretas, considerando apenas a presença, ou não, do fator de risco. Foram feitos também testes de correlação múltipla, mantendo-se apenas um dos fatores de risco, sempre que houvesse correlação ($r \geq 0,5$ e $p < 0,01$). Nos resultados, o modelo final de regressão revelou as seguintes razões de chance (OR) e Intervalos de Confiança (IC): estatura da mãe: aumento de 1,84 (IC: 1,35 - 2,49) na OR para baixa estatura do escolar, para cada redução de 1 dp da estatura materna; presença da condição de miséria: OR=9,20; (IC: 3,35 - 25,13); presença de baixa qualidade de alimentação: OR=2,59; (IC: 1,44 - 4,63); antecedente de baixo peso ao nascer: OR= 2,59; (IC: 1,44 - 4,63) e presença de hábito de fumar na gestação: OR=1,75; (IC: 0,98 - 3,12).

Estes resultados salientam a influência dos fatores ambientais sobre o crescimento da criança nos sete primeiros anos de vida. Entretanto, a significativa OR observada para a estatura da mãe, permite pressupor que a estatura dos pais não deve ser ignorada como um dos possíveis determinantes de prognóstico de menor estatura, mesmo entre crianças de baixo nível sócio-econômico.

Palavras chave: Baixa estatura, retardo do crescimento, escolar, fatores de risco.

INTRODUÇÃO

No Brasil está ocorrendo uma progressiva redução da prevalência das formas moderadas e graves de desnutrição infantil, como pode ser evidenciado a partir das pesquisas nacionais realizadas respectivamente nos anos 1974, 84 e 89 (1,2). Esta redução não é um fenômeno isolado, mas é con-

SUMMARY. Risk factors of growth retardation of low socio-economic level children, São Paulo, Brazil. Aiming to analyze the mild to moderate growth retardation associate factors in children at school age, a case control study was conducted with 153 pairs of seven and eight years old children from public schools of the outskirts of the city. The cases were defined as children with a height for age(H/A) between -1 and -2 Z score, according to NCHS/WHO standards, and matched with a H/A ± 0.5 Z-score children of same age, gender, school, classroom and class time, as controls. The height was measured at school according to WHO rules by trained professionals, and household visits were carried out to obtain environmental and socio-economic data. Initially the data was analyzed by the univariate conditional method and then, the statistically significant variables were included in a model of multivariate logistic regression analysis. As a result, the risk factors remaining at the end of the multivariate analyses, by Odds Ratio and it's 95% Confidence Interval were respectively:- mother's height: for each decrease of one standard deviation the OR increased 1.84(CI:1.35 to 2.49); inadequate feeding pattern: OR=2.12; CI:1.17 to 3.83, very low socio-economic level: OR=9.2; CI:3.35 to 25.13, low birth weight: OR=2.59; CI:1.44 to 4.63 and smoking during pregnancy: OR=1,75; CI:0.98 to 3.12.

These results highlight the environment as a determinant factor for growth performance during the first years of the child's life. Despite this, the significant OR for Mother's height allows the assumption that besides the environment, the parent's height has to be considered as one of the determinants of height deficit, even for the low socio-economic level.

Key words: Stunting, growth retardation, risk factors.

mitante à mesma tendência de declínio que se observa na mortalidade infantil e de menores de 5 anos, na proporção de nascimentos de baixo peso e outros agravos à saúde e o aumento da esperança de vida ao nascer (3).

Todos estes indicadores não são simples retratos momentâneos mas representam, e são resultantes de, um processo de mudança gradual, não só das condições de saúde,

mas, também, de um processo de transição demográfica e epidemiológica, reconhecida internacionalmente (4). Admite-se que esta transição está associada a mudanças de hábitos e comportamentos que, por sua vez, influenciam as condições e o modo de vida das pessoas.

Neste contexto de mudanças, é possível prever no futuro uma redução ainda maior das taxas de desnutrição infantil, principalmente das formas moderada e grave, mas com a persistência de algum déficit de estatura, especialmente nas populações de baixa renda existentes em diferentes áreas do país.

Atualmente, no Brasil, a relação altura para a idade vem sendo preconizada para aferir as taxas de desnutrição, dado que as prevalências de déficits ponderais já são baixas, o que torna os indicadores baseados no peso menos sensíveis tanto para o diagnóstico de prevalência quanto para o acompanhamento de sua evolução ao longo do tempo (5). Este novo cenário epidemiológico, em que há um predomínio de formas leves de retardo de crescimento estatural por desnutrição, implica na necessidade de se aprofundar o conhecimento dos fatores de risco associados a este retardo, buscando elementos que contribuam para direcionar com maior especificidade as intervenções destinadas ao seu combate.

Assim, este trabalho, desenvolvido com a perspectiva de colaborar na busca de intervenções que atenuem as consequências da desnutrição em nosso meio, tem por objetivo identificar fatores que podem ser associados ao retardo leve de crescimento na idade escolar, em uma área de risco social da região metropolitana de São Paulo. Optou-se por estudar escolares, crianças matriculadas no Sistema Público de Ensino, com idade entre 7 e 8 anos completos, considerados como um grupo privilegiado para a vigilância nutricional quando analisados individualmente e, sobretudo, coletivamente.

METODOLOGIA

Um levantamento preliminar em 21 escolas públicas estaduais da zona oeste da Grande São Paulo) identificou, entre 2205 escolares ingressantes no ciclo básico escolar de 1994, 153 pares de alunos integrados por crianças da mesma escola, classe, turno escolar, idade cronológica (variabilidade de 1 mês para mais ou para menos) e sexo, sendo uma delas, conceitualmente portadora de déficit estatural leve ou moderado, de acordo com o valor de seu escore Z de altura para a idade. O universo dos escolares das 21 escolas apresentava um escore Z médio de altura para idade, calculado a partir dos valores de referência do NCHS/OMS6, de menos 0,2738 ($\pm 0,9914$).

As escolas incluídas no universo de estudo foram selecionadas de acordo com um critério de proximidade geográfica a um agrupamento habitacional extremamente precário, da periferia da cidade, ainda não urbanizado e com

más condições de salubridade e saneamento básico (favela). Assim, foram incluídas apenas as escolas que distassem no máximo duas quadras, cerca de 300 metros, de uma favela.

Os pares de alunos foram classificados em criança caso ou controle segundo características antropométricas. Foram consideradas "casos", as crianças com retardo leve no crescimento estatural, ou seja, relação altura para a idade compreendida entre menos 1 e menos 2 escores z do referencial NCHS-OMS (6). A faixa de escore Z selecionada, -1 a -2, reunia 22,6% das crianças do universo de estudo, ou seja, uma proporção praticamente 50% maior do que a esperada na distribuição da curva normal entre estes limites. Isto, na prática, significava que um escolar em cada três, compreendidos neste intervalo de escore Z, era possivelmente portador de retardo de crescimento estatural não muito intenso.

As crianças "controles" estavam compreendidas entre menos 0,5 e mais 0,5 escore Z do mesmo referencial de altura para sexo e idade. Neste intervalo estavam compreendidos 37,9% dos escolares do universo, proporção praticamente idêntica à esperada na distribuição normal, de 38,2%. Foi selecionado apenas um controle para cada caso e só participou do estudo uma criança de cada família. O emparelhamento das crianças obedeceu a um ordenamento seqüencial decrescente dos valores de escore Z apresentados pelos casos. O aplicativo Anthro, da Divisão de Nutrição do Centro de Controle de Enfermidades-EUA (CDC-USA), foi utilizado para o cálculo dos valores do escore z e o «software» de estatística SPSS® para a análise (7,8).

Outros critérios para inclusão e permanência dos pares no estudo, além dos já referidos para o emparelhamento, foram observados e estão pormenorizados no quadro 1. No caso de não cumprimento das exigências para uma das crianças, o par era descartado, sem substituição.

QUADRO 1

Critérios para inclusão, permanência e análise das crianças no estudo.

1. Critérios para inclusão de crianças:
 - Concordância dos pais
 - Ausência visível de malformações em exame clínico realizado pelo pediatra treinado das equipes de campo observação: Nas situações em que houve a seleção de mais de uma criança de uma mesma família, apenas uma de las, escolhida aleatoriamente, poderia fazer parte do estudo.
2. Critérios para permanência de crianças no estudo:
 - Renda familiar per capita inferior a 2,5 salários mínimos na ocasião da entrevista domiciliar. (US\$: 150).

O tamanho da amostra, 153 pares, foi calculado para um nível de significância de 5% e um poder de teste de 80%, definindo-se uma razão de chances (OR) maior ou igual a 2,5 e uma prevalência mínima do fator de risco entre os controles de 10%.

Em um segundo momento, um formulário padronizado, com aproximadamente 50 tipos de informações, com base em experiência similar realizada em estudos de crescimento no Chile⁹ e validado para a realidade brasileira em etapa anterior à sua utilização, foi aplicado a cada uma das 306 famílias (153 pares de crianças) coletando-se informações bio-médicas e histórico-sociais, por equipes compostas por pediatras, enfermeiros e auxiliares de enfermagem, previamente treinados. Os entrevistadores atuaram desconhecendo se se tratava de caso ou de controle e eram orientados a preencher todas as informações dos formulários em até três tentativas previamente marcadas. As informações foram digitadas a seguir e avaliadas quanto à sua consistência.

As variáveis, em número de 39, foram preliminarmente analisadas segundo técnica univariada, adotando-se como ponto de corte o descrito na literatura ou então um ponto compatível com a distribuição percentilar observada para aquela variável. Má adequação do cardápio alimentar semanal foi definida a partir de uma escala de pontuação resultante da avaliação da frequência das refeições e do tipo e da quantidade de alimentos consumidos durante a semana pela família da criança, classificação esta baseada na proposta da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (10). A definição de miséria foi baseada no ponto de corte correspondente ao primeiro tercil da distribuição de frequências da somatória da pontuação de várias condições ambientais a saber: tamanho da família; presença de pai biológico; escolaridade do pai ou da mãe (prevalecendo a maior); ocupação do pai ou mãe (prevalecendo a de maior valor); tipo de moradia; propriedade do domicílio; relação pessoas/cama; presença de energia elétrica e água no interior do domicílio; presença de cozinha unifamiliar; destino dos excretas; destino do lixo e presença de equipamentos domésticos. Este índice foi elaborado de acordo com o método de Graffar validado à realidade brasileira (11,12).

Finalmente, foram elaborados modelos de regressão logística segundo técnica incondicional, passo a passo, com as 14 variáveis que apresentaram associação significativa dentro de um limite de aceitabilidade, p de até 10%, nas análises univariadas pela técnica da Mantell-Haenszel (18). O ingresso no modelo de regressão obedeceu, além da significância, a hierarquia presumível de um modelo explicativo teórico. De forma deliberada foram excluídas do modelo as variáveis "estatura paterna" e a "escolaridade de ambos os pais". A primeira destas variáveis, por problemas de consistência em 43% dos pares pesquisados, o que resultaria em um risco extremamente elevado de viés em sua interpretação, e a segunda, escolaridade de ambos os pais, por não poder ser considerada como variável independente. Objetivando evitar vieses decorrentes de multicolinearidade, foram feitos também testes de correlação múltipla, mantendo-se apenas um dos fatores de risco, sempre que houvesse correlação entre os mesmos ($r \geq 0,5$ e $p < 0,01$).

RESULTADOS

Na Tabela 1 destaca-se o valor da odds ratio com seus respectivos Intervalos de Confiança de 95% e valores de p obtidos na análise univariada. Destaca-se, como estatisticamente significativa, um conjunto de fatores sócio-econômicos adversos, que podem ser reunidos nos grupos: 1) saúde inadequada; reunindo as variáveis «Menos de três consultas no pré-natal» e «Calendário de vacinação incompleto»; 2) competição por escassos recursos disponíveis; reunindo as variáveis «Maior número de crianças menores na família» e «Alto número de pessoas por cômodo habitável»; 3) baixa renda familiar per capita; inferior a 0,5 salário por mês e; 4) miséria segundo classificação sócio-econômica: definida a partir de uma escala de pontuação baseada em características sócio-culturais da família e do seu ambiente de vida.

Nesta análise, também adquirem relevância fatores diretamente relacionados com a gravidez e com características do recém nascido como o baixo peso ao nascer e o hábito de fumar na gestação.

TABELA 1
Fatores associados ao retardo leve de crescimento dos escolares pela análise univariada, pela ordem de entrada no processo de modelagem multivariada

| Ordem de entrada | Fator em estudo | ORMH* | IC** | pORMH*** |
|------------------|---|-------|-----------|----------|
| 1 | Ausência do pai biológico no núcleo familiar | 1,63 | 0,9 a 2,2 | 0,0777 |
| 2 | Menos de 3 consultas no pré-natal | 1,29 | 0,4 a 4,1 | 0,0803 |
| 3 | Calendário de vacinação incompleto | 1,96 | 1,2 a 3,3 | 0,0090 |
| 4 | Má adequação do cardápio alimentar semanal | 1,81 | 1,1 a 3,0 | 0,0055 |
| 5 | Antecedentes de internação da criança | 1,59 | 1,0 a 2,7 | 0,0730 |
| 6 | Mais de 3 menores de 14 anos de idade na família | 2,04 | 1,2 a 3,5 | 0,0059 |
| 7 | Mais de 2 pessoas por cômodo do domicílio | 2,33 | 1,4 a 4,1 | 0,0012 |
| 8 | Idade do pai inferior a 40 anos | 1,94 | 1,1 a 3,6 | 0,0279 |
| 9 | Idade da mãe menor de vinte anos | 1,62 | 0,9 a 2,9 | 0,0796 |
| 10 | Miséria segundo classificação sócio-econômica | 2,88 | 1,6 a 5,4 | 0,0002 |
| 11 | Renda familiar per capita abaixo de 0,5 salários mínimos | 1,72 | 1,0 a 2,9 | 0,0395 |
| 12 | Hábito de fumar da mãe durante a gestação | 2,20 | 1,3 a 3,9 | 0,0040 |
| 13 | Peso ao nascer inferior a 2500 g | 3,21 | 1,7 a 6,3 | 0,0009 |
| 14 | Escalonamento da estatura materna a intervalos de um desvio padrão (5,9 cm) | 2,0 | 1,4 a 3,1 | 0,0001 |

*ORMH :- razão de chances segundo método de Mantell-Haenszel,

**IC:- intervalo de confiança de 95%,

*** pORMH:- probabilidade de associação.

A Tabela 2 mostra o modelo final da análise de regressão com os 5 fatores em estudo que permaneceram residuais no processo de modelagem. Nota-se que, apesar de se tratar de um estudo que controlou, na seleção da casuística o grupo social, a miséria é apontada como o fator mais significativo na determinação do retardo leve de crescimento. Interessante, inclusive, destacar a presença do baixo peso ao nascer e do hábito de fumar durante a gestação, indicando direta ou indiretamente a relevância do passado gestacional da criança, além da inadequação alimentar da família na época da entrevista. Também persiste no modelo, de forma bastante significativa, a baixa estatura materna.

TABELA 2

Valores das razões de chance (OR) e intervalo de confiança de 95%, dos fatores de risco resultantes do processo de análise multivariada

| Variável | OR | Intervalo com 95% de Confiança | |
|---|------|--------------------------------|-----------------|
| | | Limite Inferior | Limite Superior |
| Hábito do tabagismo materno na gestação | 1,75 | 0,99 | 3,12 |
| Peso ao nascer abaixo de 2500 g | 2,58 | 1,44 | 4,62 |
| Miséria segundo classificação sócio-econômica | 9,18 | 3,35 | 25,12 |
| Má adequação do cardápio alimentar semanal | 2,12 | 1,17 | 3,83 |
| Escalonamento da estatura materna a intervalos de um desvio padrão (5,9 cm) | 1,83 | 1,35 | 2,49 |

-2 log. razão de verossimilhança= 274,347; p=0,0000; 5 graus de liberdade

DISCUSSÃO

A análise do modelo final, destaca o importante papel dos fatores ambientais na definição do risco de retardo leve de crescimento dos escolares mas sugere também a possibilidade da influência do componente genético, representado aqui, pelo menos em parte, pela estatura da mãe, como um fator de risco. Conclusão esta, próxima à verificada por outros pesquisadores em crianças de baixo nível sócio-econômico (9). No presente estudo, a baixa estatura da mãe apresentou o segundo maior nível de significância, o que pressupõe, portanto, que não deve ser ignorada. A importância da estatura materna já tem sido indicada no que se refere à expectativa, pelo menos individual, da eficácia das intervenções preconizadas pelos programas de recuperação nutricional (13). No presente estudo, a associação verificada com a estatura materna, permite supor que, mesmo em condições ambientais desfavoráveis, o componente genético, neste caso em particular, o materno, também deve ser considerado como um dos possíveis determinantes na definição de um prognóstico de menor estatura no início da idade escolar.

Mas o fato da baixa estatura da mãe ser considerada fator

de risco significativo, não permite excluir completamente a possibilidade de que esta estatura materna também resulte do efeito acumulado da pobreza em várias gerações destas famílias, dado que as duas variáveis mais explicativas que ingressam no modelo final são a Estatura da mãe e a Miséria segundo Classificação sócio-econômica.

É importante notar que o tabagismo na gestação, embora cronologicamente distante da idade escolar, surge como um fator de risco, independentemente de seu possível impacto sobre o peso ao nascer. Sua importância é ainda maior quando se considera a elevada frequência deste hábito na população. A prevalência de mulheres fumantes em idade fértil na cidade de São Paulo no ano de 1990, estava ao redor de 38% (14). Frequentemente o tabagismo é apresentado como fator de risco do baixo peso ao nascer, ao parto prematuro, à morbimortalidade neonatal (15), neste estudo, porém, vai além. Aparentemente crianças filhas de mães carentes que fumam na gestação, têm um risco aumentado (praticamente o dobro) de apresentar filhos com um desempenho insatisfatório de crescimento estatural.

No tocante ao peso ao nascer observou-se que está incluído entre os principais determinantes da baixa estatura analisados neste estudo. Deve-se destacar que, em diversos estudos, o pequeno comprimento ao nascer é um fator de risco mais associado à baixa estatura na idade de ingresso à escola (16,17). Contudo, em nosso meio, esta é uma medida pouco confiável quando coletada na rotina dos serviços de saúde.

Completando o elenco de fatores de risco para o retardo do crescimento, apareceu a má adequação do cardápio alimentar semanal, provavelmente por estar a criança em idade que se apresenta com uma velocidade ainda intensa do crescimento ósteo-muscular, pois a idade pré-escolar e o início da idade escolar correspondem ainda a um período de estirão de crescimento, o que coincide com uma fase de elevadas necessidades protéico-calóricas da alimentação diária.

Por outro lado, o modelo final não revelou significância de diversos fatores tradicionalmente citados como associados a condições sócio-econômicas menos favoráveis, tais como saneamento, acesso aos serviços de saúde, internações hospitalares, tamanho e composição da família e que portanto, poderiam interferir negativamente sobre o crescimento das crianças.

Três são, as possibilidades para o desaparecimento destes fatores. De um lado, estatisticamente, o poder do teste estabelecido a priori, poderia não ser suficiente para detectar tais associações, mas, de outro lado, ou até mesmo concomitantemente, a mudança no perfil demográfico-epidemiológico da população de São Paulo, poderia estar paulatinamente reduzindo o valor explicativo de alguns destes fatores, sobre as variações do processo de crescimento; ou ainda porque na inclusão hierarquizada das variáveis no modelo multivariado se incorpora, em primeiro lugar, o nível sócio econômico, e, este possivelmente acaba englobando o

eventual efeito de outras condições ambientais adversas.

Entre estas variáveis tradicionais que desapareceram no avançar do processo de elaboração do modelo e que merecem atenção, estaria o não cumprimento do calendário vacinal, habitualmente interpretado como um indicador da qualidade do acesso da criança aos serviços de saúde, e que pode ter perdido sua importância relativa neste estudo, já que a população está domiciliada em área próxima a Postos de Saúde, o que poderia resultar em níveis elevados de cobertura vacinal, dificultando a discriminação de pequenas diferenças.

Outros fatores que desaparecem no decorrer do processo de modelagem são os relacionados ao grupo familiar. Obviamente, a maior aglomeração de indivíduos no interior do domicílio traz potencialmente um conjunto de problemas que resultam em múltiplas repercussões negativas sobre a saúde e o crescimento da criança. Aparentemente estas eventuais repercussões sobre o processo de crescimento podem ter sido minimizadas por uma contrapartida positiva, na população estudada, decorrente de melhores oportunidades de acesso aos serviços, que estariam disponíveis na cidade de São Paulo.

Finalmente, não se pode perder de vista que as crianças analisadas neste momento são portadoras de retardo leve de crescimento e, portanto, é também possível que os fatores descartados durante o processo de análise, ainda tenham importância e, explicação inversa, nos casos graves de retardo de crescimento, cujo modelo explicativo pode não ser o mesmo que o observado neste estudo. Mesmo assim, não se pode esquecer que o retardo leve de crescimento é um indicador de que, muito provavelmente, esta criança sofreu um processo de amputação de seu potencial de crescimento e desenvolvimento, que pode eventualmente resultar em um pior desempenho social do indivíduo.

Em conclusão, fica evidente que, ao lado da extrema importância dos fatores sócio- econômicos, aparecem como fatores de risco de baixa estatura em crianças que ingressam na escola em regiões urbanas, as condições da gestação e os fatores genéticos. Todos estes fatores devem ser considerados sempre que se tenha que avaliar o prognóstico e a evolução da estatura da criança em idade escolar.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos muitos profissionais pelo incentivo e apoio que nos ofereceram nos vários momentos de elaboração deste trabalho e durante a fase de coleta de dados. Dentre estes profissionais, merecem destaque, a Professora Patrícia Bustos (Universidade do Chile), e toda a equipe de profissionais da Sessão de Assistência Comunitária do Instituto da Criança da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

REFERÊNCIAS

1. Monteiro CA. O panorama da nutrição infantil nos anos 90. Brasília DF: UNICEF; Cadernos de Políticas Sociais 1996.
2. Monteiro CA, Mondini L, De Souza AL, Popkin BN. The nutrition transition in Brazil. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49: 105-13.
3. Barreto MI, Carmo EH. Mudanças em padrões de morbimortalidade: conceitos e métodos In: Monteiro CA, organizador. Velhos e novos males da saúde no Brasil. São Paulo: Editora Hucitec /Nupens/USP; 1995, p: 7-32.
4. Omran AR. The epidemiologic transition in the Americas. Washington DC: Pan- American Health Organization/ University of Maryland at College Park; 1996.
5. Monteiro CA. Coleta e análise da altura dos escolares ingressantes nas escolas de primeiro grau do país: uma proposta para um Sistema Nacional de acompanhamento do estado de saúde e nutrição da população. *J Pediatr* 1989; 65: 89-92.
6. World Health Organization. Measuring change in nutritional status guidelines for assessing the nutritional impact of supplementary feeding programmes. Geneva, WHO, 1983.
7. Sullivan KM, Gorstein J. ANTHRO. Software for calculating pediatric anthropometry. Version 1. Atlanta; Nutrition Division, Center for Disease Control.
8. SPSS for Windows . Release 8.0, December; 1997.
9. Amigo HC, Bustos P. Factores condicionantes de la estatura en escolares de alta vulnerabilidad social. Santiago de Chile; Maigret; 1994.
10. Colli AS. Adolescentes: aspectos globais de saúde [PhD thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina da USP; 1972.
11. Alvarez ML, Wurgaft F, Salazar ME. Mediciones del nivel socio-económico bajo urbano en familias con lactante desnutrido. *Arch Latinoam Nutr* 1982; 32: 150-62.
12. Issler MS. Níveis de pobreza e sua repercussão no estado de saúde de populações urbanas de baixa renda: um estudo em Porto Alegre-RS. [dissertação] Porto Alegre: Faculdade de Medicina da UFRGS; 1992.
13. Alvear A, Vial RM, Artaza BC. Crecimiento después de desnutrición grave precoz. *Rev Chil Pediatr* 1991; 62 : 242-7.
14. Rego RA, Berardo FAN, Rodrigues SSR, Oliveira ZMA. Fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis: inquérito domiciliar no Município de São Paulo, SP (Brasil): metodologia e resultados preliminares. *Rev Saúde Pública* 1990; 24: 277-85.
15. Piloto RF, Magna LA, Beigelman B. Factors influencing human birth weight in normal pregnancy: a prospective study in a Brazilian university hospital. *Rev Bras Genet* 1993; 16: 457-69.
16. Amigo H, Bustos P. Factores de riesgo de talla baja en escolares chilenos de zonas rurales de alta vulnerabilidad social. *Arch Latinoam Nutr* 1995; 45:97-102.
17. Ruel MT, Rivera J, Habicht JP. Length screens better than weight in stunted populations. *J Nutr* 1995; 125: 1222-8.
18. Hennekens CH, Buring J. Epidemiology in medicine. 1st Edition, Boston/Toronto, Little, Brown and Company, 1987, p: 295-321.

Recibido: 03-09-1999

Acceptedo:27-04-2000

Evaluación nutricional de *Lepidium meyenii* (MACA) en ratones albinos y su descendencia

Marco Canales, José Aguilar, Ana Prada, Adolfo Marcelo, Cecilia Huamán, Luz Carbajal

Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt" y Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima-Perú

RESUMEN. La Maca (*Lepidium meyenii*) es un hipocotilo peruano que crece exclusivamente entre los 3700 y 4500 msnm en los andes peruanos. Tradicionalmente se le atribuyen propiedades nutricionales, energizantes, fertilizantes, entre otras. Con la finalidad de evaluar científicamente la capacidad nutricional de la Maca, realizamos un estudio controlado en dos generaciones de ratones Swiss (padres y crías). Los padres fueron aleatoriamente asignados a uno de tres esquemas alimenticios. El alimento de cada grupo fue preparado en base a polvo de un alimento balanceado comercial (ABC), al cual se le reemplazó un 30 % (peso/peso) por Maca Cruda o Cocida según el grupo correspondiente o ABC puro en el grupo control. Así los grupos fueron: 1) Grupo Maca Cruda; 2) Grupo Maca Cocida; y 3) Grupo ABC, grupo control. Los resultados mostraron curvas de crecimiento similares y adecuadas para los tres grupos. Ninguno de los grupos mostró signos de desnutrición ni sobrepeso. Sin embargo, el grupo Maca Cocida mostró mejores curvas de crecimiento incluso que el grupo ABC, mejor observable en la segunda generación de animales, con diferencias estadísticamente significativas. El grupo control, tuvo un crecimiento superior al grupo Maca Cruda. Los ratones del grupo Maca Cocida tuvieron valores de proteínas totales y albúmina séricas superiores al de los grupos Maca Cruda y grupo control. Este estudio demuestra en un modelo científico la capacidad nutricional de la Maca.

Palabras clave: Maca, *Lepidium meyenii*, Brassicaceas, nutrición, desnutrición.

SUMMARY. Nutritional evaluation of *Lepidium meyenii* (MACA) in albino mice and their descendant. The Maca (*Lepidium meyenii*) is a Peruvian hypocotyl that grows exclusively between the 3700 and 4500 masl at the Peruvian Andes. Traditionally it is attributed nutritional, energizing, fertilizing properties among others. With the purpose of evaluate scientifically the nutritional property of Maca, we carried out a controlled study in two generations of albino Swiss mice (parents and breeding). The parents were aleatorily assigned to one of three nutritional schedules. The food of each group was prepared based on powder from a commercial balanced food (CBF) of which 30 % was replaced by raw or cooked Maca according to the corresponding group or pure CBF in the control group. The groups were this way: 1) Raw Maca Group; 2) Cooked Maca Group; and, 3) Control Group. The results showed that the curves of growth were similar and adequate for the three groups. However, the cooked Maca group showed the best curve. These data were better observable in the second generation of animals, with significant statistical difference ($p < 0,05$). The CBF group had a better growth than raw Maca group. No signs of malnutrition nor overweight were observed in none of the groups. The serum values of total proteins and albumin were statistically superior for the mice group eating cooked Maca than that of the raw Maca and CBF groups. This study demonstrates, in a scientific evaluation, one of the traditionally attributed properties of Maca, the nutritional capability.

Key words: Maca, *Lepidium meyenii*, Brassicaceae, nutrition, malnutrition.

INTRODUCCION

La malnutrición, principalmente proteica, es uno de los más graves problemas que afectan actualmente a la humanidad, haciéndose más notable en países sub-desarrollados o en vías de desarrollo, incluyendo al Perú (1-3).

Por ello, es de constante interés la búsqueda de productos nutricionales accesibles a la mayoría de la población general, así como a grupos con requerimientos particulares como personas seniles, gestantes o convalecientes de enfermedades debilitantes crónicas. Además, frecuentemente personas eutróficas buscan suplementar su dieta para incrementar su rendimiento físico y energético (4).

En los últimos años se está produciendo una tendencia de rápido crecimiento mundial hacia la revalorización de los cono-

cimientos sobre uso de productos naturales, principalmente plantas tradicionales, por sus posibles efectos beneficiosos medicinales o nutricionales (5). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que casi 80 % de la población del planeta sustenta el cuidado de su salud en métodos tradicionales (6). Es así como en los últimos años se están evaluando científicamente muchos productos naturales por sus potenciales efectos nutricionales (7) y/o medicinales (8-10).

El *Lepidium meyenii*, conocido popularmente como Maca, es un hipocotilo que se cultiva casi exclusivamente en los Andes peruanos a una altura entre 3 700 a 4 500 m.s.n.m. (11-15). La Maca pertenece a la familia Brassicaceae (previamente conocidas como Cruciferaeae) (16). Tradicionalmente se atribuye a la Maca una serie de bondades, tanto nutricionales como terapéuticas, por lo que los pobladores

altoandinos la utilizan como nutriente, vigorizante, mejorador de la fecundidad, etc (17-18). Existen recopilaciones de las informaciones disponibles acerca de la Maca (13,15,19,20) y de sus componentes nutricionales, describiéndose una proporción de proteínas entre 12 al 18 %, con una alta concentración de todos los aminoácidos esenciales (7,20), un bajo nivel de grasas, principalmente constituido por ácidos grasos insaturados y una alta concentración de ácidos grasos esenciales (7), presencia de varios tipos de vitaminas (como provitamina A, B1, B2, B6, C) y minerales (como calcio, hierro, zinc, magnesio, cobre, entre otros) (7,13,19,20) en concentraciones importantes.

Tradicionalmente la Maca es utilizada en forma de producto cocido, y dado que es sabido que las diferentes formas de preparación de los alimentos antes de su consumo pueden influir en facilitar o no la biodisponibilidad de sus componentes nutricionales (21), es interesante demostrar si existe una diferencia en la capacidad nutricional de la Maca cruda comparada a la Maca cocida.

En este estudio controlado se evaluó la Maca como suplemento nutricional en la dieta de ratones en dos formas de administración: cruda y cocida, comparándola con un alimento balanceado comercial (ABC) comúnmente utilizado, evaluando su influencia sobre los patrones de crecimiento y estado nutricional en dos generaciones de animales alimentados con esta dieta suplementada. Además se tuvieron observaciones respecto a la influencia de estas dietas experimentales en la fertilidad de estos ratones, y se buscó la presencia macroscópica de malformaciones congénitas en sus crías.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en el bioterio del Instituto de Medicina Tropical «Alexander von Humboldt» a cargo de los laboratorios de Inmunología y de Enfermedades Entéricas y Nutrición de la misma institución, pertenecientes a la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), en Lima, Perú.

De los animales experimentales y grupos

Se utilizaron para este estudio ratones albinos raza Swiss provenientes del bioterio del Instituto de Investigaciones de la Altura de la UPCH. En la primera generación de animales, luego del período de lactancia (ablactancia, aproximadamente a las 2 semanas) los ratones fueron separados de sus madres y asignados a uno de tres grupos:

Grupo MACA CRUDA: Ratones alimentados con el ABC, al cual se le había reemplazado el 30% (peso/peso) por Maca Cruda.

Grupo MACA COCIDA: Ratones alimentados con el ABC, al cual se le había reemplazado el 30% (peso/peso) por Maca Cocida.

Grupo CONTROL, ALIMENTO BALANCEADO COMERCIAL (ABC): Ratones alimentados con una dieta habi-

tual a base de un ABC, en este caso el producto Purina®, un producto comercial para alimentación de animales de experimentación pequeños, especialmente diseñado para lograr un desarrollo equilibrado, sin llevar a desnutrición, pero tampoco a sobrepeso al animal (22).

La composición comparativa del ABC respecto a la Maca se puede apreciar en el siguiente cuadro (13,23,24):

| | ABC | MACA |
|---------------|--------|-------|
| | g/100g | |
| Proteínas | 18,00 | 13,32 |
| Grasas | 3,50 | 2,83 |
| Fibra | 6,00 | 6,25 |
| Carbohidratos | 53,60 | 68,40 |
| Cenizas | 4,90 | 3,52 |
| Humedad | 14,00 | 4,68 |

En forma previa, al inicio del estudio, se evaluó la dosis máxima en porcentaje que los ratones tolerarían de reemplazo del ABC por Maca. El concepto de tolerancia de los ratones por el alimento fue basado en la medición comparativa del peso del alimento consumido por los animales en cada grupo. Cuando el peso del alimento diario consumido por los grupos suplementados no difería en $\pm 5\%$ del peso del alimento consumido por los grupos controles se atribuía una buena tolerancia. Si consumían menos del 5% del peso del alimento consumido por el grupo control se atribuía falta de tolerancia al alimento suplementado. El reemplazo de 100% del ABC por Maca, no fue tolerado por los ratones, notándose falta de ingesta del alimento y una alta mortalidad. Con modificaciones posteriores se logró obtener una mezcla con un reemplazo de un 30% del ABC por Maca (o sea, cada pellet estaba compuesto de 70% del ABC y 30% Maca), lo cual fue bien tolerado por los animales. Dosis mayores, de 40% y 50 % fueron parcialmente toleradas por los ratones, sin embargo, como la evaluación era específicamente del aspecto nutricional, se prefirió usar la dosis bien tolerada.

Debido al sabor que tiene la Maca distinto al del ABC, para asegurar que los animales consuman el producto en evaluación, se mezcló el ABC en forma de polvo con el polvo de Maca en cualquiera de sus dos formas. Si se producían pellets independientes se corría el riesgo que los animales consuman sólo el ABC y no los pellets de Maca. Entonces, luego de combinar ambos productos en forma de polvo, se prepararon los pellets en la misma forma que tiene el producto ABC original. De esta forma el animal necesariamente consumía la combinación completa. Los animales recibieron el alimento y el agua *ad libitum*.

Cada grupo estuvo constituido de 12 ratones, 6 machos y 6 hembras, mantenidos en jaulas independientes por grupo asignado y por sexos.

Se llevó un registro diario cuantitativo del peso individual por animal medido en gramos, así como, las primeras semanas de evaluación, se midió el consumo diario de alimento. Esta evaluación se realizó a partir de la ablactancia por 100 días en el grupo de ratones padres (primera generación) y desde el nacimiento por 40 días en el grupo de ratones crías (segunda generación).

La Maca (*Lepidium meyenii*) utilizada fue Macandina, *Naturalfa*, Química Suiza, cordialmente proporcionada para este estudio.

Apareamiento, fertilidad y reproducción

Luego de los 100 días de observación se colocaron en una jaula independiente 3 hembras con un macho seleccionado al azar de cada grupo correspondiente, para inducir el apareamiento. Dado que es conocido que después de los 90 días de vida la fertilidad de los ratones empieza a declinar (22), el apareamiento se empezó tardíamente en este estudio para: i) para tener mayor tiempo de observación nutricional de los animales; y ii) evaluar la fertilidad en condiciones de mayor exigencia, para poder encontrar diferencias con el grupo control.

Luego de 7 días se separaron nuevamente los machos de las hembras y se observó el índice de fertilidad en cada grupo, que se midió como el número de animales hembras preñadas luego de cada apareamiento.

Las hembras preñadas eran separadas en una jaula propia, manteniéndose el grupo de alimentación al que pertenecían. Si al cabo de 3 semanas no habían evidencias de preñez o de partos en alguno de los animales hembras, se volvía a colocar el macho de cada grupo por 7 días adicionales y se repetía el mismo procedimiento anterior. Este procedimiento se repitió hasta por 3 veces para el grupo de hembras que lo requiriera.

Se hizo el recuento de crías nacidas de cada madre, y se mantuvo las crías con la madre todo el tiempo, manteniendo el mismo alimento que le correspondía por grupo, esto aseguró que los ratones nacidos en los grupos Maca nunca tengan contacto con el ABC puro, a diferencia de la generación de los ratones padres que durante su lactancia estuvieron en contacto con el ABC puro.

Del aspecto morfológico de las crías

Todas las crías fueron examinadas minuciosamente por la presencia de algún tipo de malformación congénita ectoscópicamente demostrable.

Del peso de las crías

Todas las crías fueron marcadas e independientemente pesadas desde el momento de su nacimiento hasta los primeros 40 días de vida.

Determinaciones bioquímicas sanguíneas de ratones padres

Después de los 100 días la mitad de los miembros de cada

grupo (3 machos y 3 hembras de cada grupo, salvo en el caso Maca cruda machos, en los cuales fueron 5 machos y 3 hembras) se les tomó una muestra de sangre de 600 μ L a cada uno para realizar los siguientes análisis bioquímicos por técnicas convencionales: proteínas totales (reacción de Biuret) (25), albúmina (verde de bromocresol) (26), globulina y colesterol (método enzimático estearasa-oxidasa) (27), todos con reactivos Biosystem®, España. Los exámenes fueron realizados con un procesador de microvolúmenes Microlab 200 (Wiener®, Argentina).

Del análisis estadístico

El tamaño muestral para los animales en cada grupo fue estimado por la técnica del muestreo aleatorio simple para un nivel de confianza del 95 %. Los datos de resultados fueron sometidos a evaluación en un paquete estadístico informatizado, el SPSS. Se aplicó análisis de varianza (ANOVA) para la comparación de medias entre los 3 grupos, utilizando la prueba de Scheffe para hallar las diferencias significativas entre grupos con una significancia de 0,05.

RESULTADOS

De los animales padres y sus pesos comparativos

No se produjo muerte de ningún animal durante el período de evaluación en ninguno de los grupos.

Todos los animales evaluados mantuvieron un peso adecuado durante todo su desarrollo independiente del grupo al que pertenecían. Ningún animal dentro de ninguno de los grupos tuvo evidencias de desnutrición ni de sobrepeso.

Los resultados mostraron que tanto machos como hembras, mantienen una tendencia similar, pero con algunas diferencias, por lo cual son analizados independientemente :

Machos: Como puede apreciarse en la gráfica 1, las curvas de crecimiento tuvieron tendencias variables durante el período de observación, pero al final de los 100 días ambos grupos alimentados con Maca Cruda y Cocida habían logrado el mejor desarrollo, los cuales fueron estadísticamente diferentes del grupo control alimentado con el ABC ($p < 0,05$). Los valores para cada momento de observación puede apreciarse en la Tabla 1 y Gráfico 1.

Hembras: A diferencia de los machos, las hembras de la primera generación tuvieron curvas de crecimiento similares desde el inicio hasta los 70 días. Después ambos grupos de ratones alimentados con Maca tuvieron una tasa de crecimiento estadísticamente superior al grupo alimentado con el ABC. Ver Tabla 2 y Gráfico 2. No hubo diferencia significativa entre ambos grupos alimentados con Maca.

TABLA 1
Pesos (gramos) comparativos de ratones padres machos alimentados con dietas experimentales (a)

| Grupo | T1 10 días | T2 20 días | T3 30 días | T4 40 días | T5 50 días | T6 60 días | T7 70 días | T8 80 días | T9 90 días | T10 100 días |
|-------------------------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Maca Cruda | 9,68 ±,527 | 11,60 ±,980 | 15,68 ±1,243 | 18,02 ±1,892 | 21,63 ±1,094 | 26,10 ±,759 | 28,83 ±,693 | 30,92 ±,285 | 31,98 ±,287 | 32,16 ±,384 |
| Maca Cocida | 9,22 ±,475 | 12,87 ±1,233 | 13,42 ±,968 | 15,30 ±,702 | 15,92 ±,534 | 18,43 ±,680 | 21,04 ±1,047 | 29,17 ±,797 | 31,56 ±,369 | 31,97 ±,101 |
| ABC | 8,78 ±,603 | 12,67 ±,757 | 16,43 ±1,264 | 21,03 ±,389 | 23,55 ±,455 | 23,88 ±,586 | 24,31 ±,542 | 26,01 ±1,253 | 26,14 ±1,533 | 26,96 ±1,282 |
| Signifi- cancia (b), Fo | — | — | — | 3 | 1 y 3 | 1 y 3 | 1,2 y 3 | 2 | 2 y 3 | 2 y 3 |

(a) (cifras representan la media ± Error Estándar)
 (b) Análisis de Varianza con Prueba de Scheffe donde :
 1 = p< 0,05 para Maca Cruda vs Maca Cocida
 2 = p< 0,05 para Maca Cruda vs ABC
 3 = p< 0,05 para Maca Cocida vs ABC

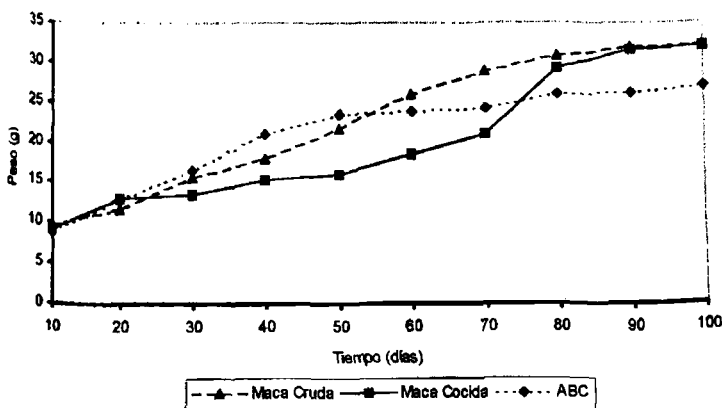
TABLA 2
Pesos (gramos) comparativos de ratones padres hembras alimentados con dietas experimentales(a)

| Grupo | T1 10 días | T2 20 días | T3 30 días | T4 40 días | T5 50 días | T6 60 días | T7 70 días | T8 80 días | T9 90 días | T10 100 días |
|-----------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Maca Cruda | 8,47 ±,640 | 11,32 ±,700 | 14,10 ±,688 | 14,87 ±,800 | 18,60 ±,963 | 22,45 ±,438 | 24,17 ±,399 | 23,26 ±,925 | 25,19 ±1,400 | 24,45 ±,669 |
| Maca Cocida | 9,95 ±,259 | 14,33 ±,318 | 15,37 ±,447 | 17,60 ±,791 | 18,72 ±,764 | 21,20 ±,587 | 23,43 ±,531 | 26,52 ±1,432 | 25,75 ±,900 | 26,94 ±1,203 |
| ABC | 9,65 ±,327 | 13,97 ±,650 | 17,58 ±,729 | 18,80 ±,905 | 19,90 ±,852 | 22,40 ±,671 | 23,12 ±,856 | 19,34 ±,630 | 20,41 ±,678 | 21,35 ±,618 |
| Signifi- cancia(b) Fo | — | 1 | 2 | — | — | — | — | 3 | 2 y 3 | 3 |

(a) (cifras representan la media ± Error Estándar)
 (b) Análisis de Varianza con Prueba de Scheffe donde :
 1 = p< 0,05 para Maca Cruda vs Maca Cocida
 2 = p< 0,05 para Maca Cruda vs ABC
 3 = p< 0,05 para Maca Cocida vs ABC

GRAFICO 1

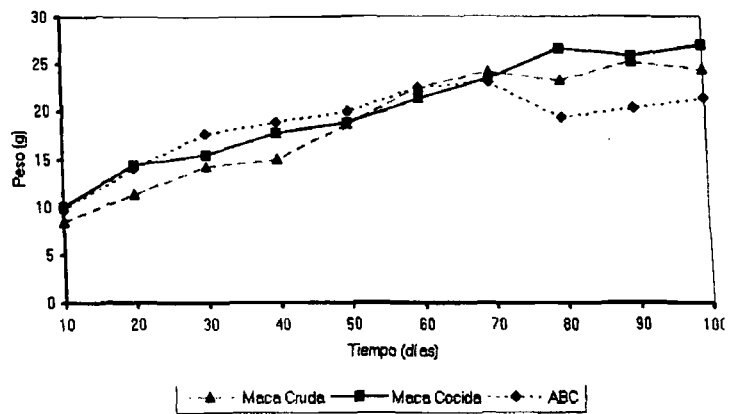
Curvas de crecimiento de ratones padres machos con dietas experimentales



(Para datos estadísticos, ver Tabla 1)

GRAFICO 2

Curvas de crecimiento de ratones padres hembras con dietas experimentales



(Para datos estadísticos, ver Tabla 2)

De la fecundidad y reproducción

Salvo una hembra en el grupo Maca Cocida, bastó una sesión de apareamiento con el macho de su grupo para que las hembras de los grupos Maca Cruda y Maca Cocida queden preñadas (5 de 6 hembras). Para la única hembra del grupo Maca Cocida que no resultó preñada en la primera sesión de apareamiento, resultó preñada en la segunda sesión.

Mientras en el grupo control alimentado con el ABC, en la primera sesión sólo una hembra resultó preñada, en la segunda sesión resultó preñada la segunda y se requirió una tercera sesión para que resultara preñada la tercera hembra.

El número de crías fue mayor para el grupo Maca Cocida con 19 crías (6,33 crías por animal), luego el grupo Maca Cruda con 13 crías (4,33 crías por animal) y finalmente el grupo ABC con 11 crías (3,67 crías por animal).

De las características morfológicas de las crías

Todas las crías en los tres grupos de animales nacieron en buenas condiciones con características morfológicas normales y sin ninguna evidencia externa de teratogenicidad.

De las crías y sus pesos comparativos

Dado que las curvas de crecimiento de las crías tanto machos como hembras fue muy similar en comportamiento, éstas se analizaron conjuntamente. Al evaluar las curvas comparativas, apreciamos que existe una diferencia estadísticamente significativa favorable para el grupo Maca Cocida comparado al grupo Maca Cruda durante todos los momentos de observación ($p < 0,05$). Igualmente existió una tendencia favorable al grupo Maca Cocida sobre el grupo control durante todos los puntos de observación, llegando a ser estadísticamente significativa en el día 20 de vida. El grupo ABC tuvo una tasa de crecimiento superior al grupo Maca Cruda ($p < 0,05$) durante varios momentos de la observación. Ver Tabla 3 y Gráfico 3.

TABLA 3
Pesos (gramos) comparativos de ratones crías alimentados con dietas experimentales(a)

| Grupo | T1 Día 0 | T2 10 días | T3 20 días | T4 30 días | T5 40 días |
|-----------------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Maca Cruda | 3,22 ± 0,086 | 4,22 ± 0,082 | 7,52 ± 0,251 | 13,29 ± 0,330 | 18,20 ± 0,500 |
| Maca Cocida | 3,58 ± 0,081 | 5,50 ± 0,110 | 10,77 ± 0,180 | 17,27 ± 0,310 | 20,70 ± 0,540 |
| ABC | 3,38 ± 0,140 | 5,70 ± 0,086 | 9,54 ± 0,440 | 15,74 ± 1,170 | 19,36 ± 1,100 |
| Significancia (b), Fo | 1 | 1 y 2 | 1,2 y 3 | 1 y 2 | 1 |

(a) (cifras representan la media ± Error Estándar)

(b) Análisis de Varianza con Prueba de Scheffe donde :

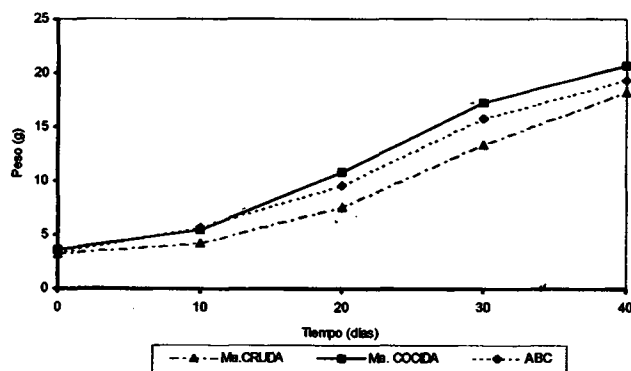
1 = $p < 0,05$ para Maca Cruda vs Maca Cocida

2 = $p < 0,05$ para Maca Cruda vs ABC

3 = $p < 0,05$ para Maca Cocida vs ABC

GRAFICO 3

Curvas de crecimiento de ratones crías en dietas experimentales



(Para datos estadísticos, ver Tabla 3)

De los resultados de las determinaciones bioquímicas sanguíneas

El grupo Maca Cocida presenta valores de proteínas totales y albúmina estadísticamente superiores tanto al grupo Maca Cruda así como al grupo control ABC. Ver Tabla 4.

Respecto a los valores de colesterol juntos machos y hembras no hubieron diferencias significativas entre grupos, sin embargo se notaron resultados diferentes entre machos y hembras. Las hembras no tuvieron ninguna diferencia entre grupos. Mientras en los machos ambos grupos suplementados con Maca tuvieron tendencia a tener menores valores séricos de colesterol, los cuales no lograron niveles de significancia estadística ($p=0,63$), sin embargo, por el pequeño tamaño muestral se hace necesario continuar estas evaluaciones. Ver Tabla 4.

TABLA 4
Valores séricos promedios de proteínas totales y albúmina en ratones alimentados con Maca Cruda, Maca Cocida o ABC(a)

| Grupo | N | Prot. Totales (mg/dL) | Albúmina (mg/dL) | Colesterol (mg/dL) |
|----------------------|---|-----------------------|------------------|--------------------|
| Maca Cruda | 8 | 5,38 ± 0,080 | 2,99 ± 0,013 | 103,00 ± 10,156 |
| Maca Cocida | 6 | 5,90 ± 0,127 | 3,30 ± 0,152 | 95,83 ± 10,303 |
| ABC | 6 | 5,40 ± 0,124 | 2,93 ± 0,033 | 109,17 ± 15,224 |
| Significancia(b), Fo | | 1 y 3 | 1 y 3 | — |

(a) (cifras representan la media ± Error Estándar)

(b) Análisis de Varianza con Prueba de Scheffe donde :

1 = p < 0,05 para Maca Cruda vs Maca Cocida

2 = p < 0,05 para Maca Cruda vs ABC

3 = p < 0,05 para Maca Conocidas vs ABC

DISCUSION

Este trabajo es un estudio controlado para evaluar la Maca (*Lepidium meyenii*) por sus cualidades nutricionales en dos formas de administración Cruda y Cocida. Los resultados muestran que las curvas de crecimiento y ganancias de peso son favorables al grupo suplementado con Maca Cocida sobre el grupo Maca Cruda y sobre el grupo control alimentado sólo con el ABC sin suplemento de Maca.

Es importante recordar que el ABC es un producto científicamente diseñado, desarrollado en base a una combinación de proteínas animales, marinos, aceites animales y vegetales y otros suplementos (22), que proporciona una alimentación balanceada para animales experimentales pequeños como ratones, que asegura un crecimiento y desarrollo dentro de límites normales sin tendencia a la desnutrición ni al sobrepeso, por lo cual frecuentemente se lo toma como producto de comparación (Gold Standard) de cualquier dieta experimental.

Al haber reemplazado un tercio de la dieta del ABC por Maca y lograr una curva de incremento de pesos igual o inclusive superior al ABC (en el caso de la Maca Cocida), la Maca demuestra sus excelentes cualidades desde el punto de vista nutricional, en un modelo científicamente diseñado, tal como ha sido mostrado en estudios previos en animales experimentales como cuyes o borregos (28,29).

La Maca cruda, por su parte, logró una adecuada curva de crecimiento, sin embargo los valores tuvieron tendencia a ser menores que los alcanzados por la Maca cocida o el ABC.

El resultado favorable para la Maca Cocida era esperable ya que es conocido que el cocimiento de un alimento altera la biodisponibilidad de sus sustancias nutrientes, frecuentemente haciéndolas más fáciles de absorber en el aparato digestivo (30), mejorando la utilización de las proteínas de la Maca cocida y por tanto sus cualidades nutricionales.

La comparación entre los resultados de las curvas de crecimiento de padres e hijos requiere algunos comentarios

adicionales. El ratón experimental albino alimentado por generaciones en base al ABC es bastante exigente en cuanto a su dieta. En estos animales el procesamiento de alimentos y los esquemas de alimentación pueden fácilmente afectar el incremento de peso u otros parámetros fisiológicos del ratón (22). Por este motivo, ensayamos inicialmente el porcentaje del ABC que podría ser reemplazado por Maca sin afectar, la ingesta del alimento por el animal. Encontramos que un reemplazo del 30% del ABC por Maca era bien tolerada por el ratón. Reemplazos porcentuales mayores de 40 a 50% del ABC por Maca eran parcialmente tolerados, sin embargo, se afectaba la cantidad de alimento consumido diariamente, por lo cual se prefirió no usarlas. En la continuación de estos estudios se está incrementando el porcentaje de reemplazo en generaciones sucesivas de ratones.

En las curvas de crecimiento de los ratones padres alimentados con los suplementos de Maca, puede apreciarse que hay fluctuaciones de los pesos de los ratones a lo largo del período de observación, siendo inicialmente favorables para el grupo control, alimentado con el ABC, pero posteriormente los grupos alimentados con Maca logran superar al grupo control. Este comportamiento podría ser explicado por la adaptación de los animales al cambio de alimento. La primera generación de ratones (ratones padres) fueron iniciados en la dieta diferenciada recién desde el momento de la ablactancia, a los 14 días de vida, cuando ya habían oído e incluso ingerido pequeñas porciones del alimento original no suplementado que los ratones padres dejan caer hacia la base de la jaula al momento de alimentarse, por lo tanto, al tiempo de la ablactancia los ratones crías ya conocen el sabor y olor del alimento original y rechazan el cambio de dieta, lo cual afecta su crecimiento inicial. En contraste a esto la segunda generación de ratones en todo momento han reconocido el sabor de la dieta combinada y ya no tuvieron ese período de rechazo al nuevo alimento, lo cual se refleja en un comportamiento más constante en las curvas de crecimiento, como puede apreciarse en la Tabla y Gráfico 3.

Otra evidencia sólida de la capacidad nutricional de la Maca fueron los datos bioquímicos nutricionales donde los valores de proteínas totales y albúmina fueron estadísticamente superiores en el grupo suplementado con Maca Cocida. Sin embargo, se necesitan estudios con mayor tamaño muestral para confirmar esta observación. Además los niveles más bajos de colesterol encontrados en los animales machos alimentados con Maca Cruda o Cocida, sería de utilidad en el diseño de esquemas nutricionales bajos de colesterol.

No existe una clara explicación que justifique la mejor capacidad nutricional de la Maca comparativamente al ABC. Probablemente la presencia de todos los aminoácidos esenciales y no esenciales, vitaminas y minerales y quizá su adecuado balance porcentual podrían brindar alguna pauta explicativa (29). Sin embargo, aún no se ha estudiado la posibilidad de que algunos de sus componentes fitoquímicos cumpla algún rol facilitando la absorción de otros nutrientes.

Se han realizado evaluaciones de toxicidad de *Lepidium meyenii*. En el libro de Obregón (13) se menciona el trabajo no publicado de los investigadores J. Arroyo y S. Sandoval, quienes realizaron la búsqueda de la dosis letal-50 (DL50) y llegaron hasta una dosis de 15 000 mg/Kg, siguiendo la tabla modificada de Hodge y Stender, para la clasificación 1: Prácticamente no tóxico (31), sin haber encontrado ninguna mortalidad, estableciendo por lo tanto que la DL50 es mayor de 15 000 mg/kg. Otra evaluación por nuestro grupo de trabajo evaluó la citotoxicidad de *Lepidium meyenii* en cultivos celulares, encontrando que un extracto acuoso de *Lepidium meyenii* ensayado en células en cultivo RAW 264.7 y en células HT-29 tenía muy buena tolerancia en los ensayos de viabilidad utilizando colorantes vitales. Igualmente, evaluamos la DL50 llegando hasta una dosis de 16 400 mg/Kg sin encontrar ninguna mortalidad, ni ninguna evidencia de modificaciones del estado de los animales experimentales (32), lo cual nuevamente establece un DL50 mayor de 16 400 mg/kg de peso de los animales ensayados.

Algo que no ha sido previamente reportado en trabajos de evaluación de este tipo es la posibilidad de inducción de malformaciones congénitas por una dieta a base de Maca utilizada por el animal experimental durante toda su vida. En este estudio de observación de 2 generaciones de animales, en las crías no se encontró macroscópicamente ninguna evidencia de teratogenicidad tanto en el grupo control como en los grupos suplementados con Maca.

En nuestro estudio todos los animales hembras (salvo uno en el grupo Maca Cocida) lograron ser preñadas durante la primera sesión de colocación del macho, a diferencia del grupo control que requirió 3 sesiones para lograr la preñez del total de hembras. Esto concuerda con estudios previos que han mostrado que la Maca tiene efectos favorecedores de la fertilidad (29,33), así como se han encontrado efectos modificatorios sobre los órganos genitales internos tanto masculinos como femeninos (34,35), que podrían explicar este efecto favorecedor de la fertilidad.

Igualmente, estudios previos han mostrado que la suplementación con Maca ha producido un incremento en el número de crías en varios tipos de animales experimentales pequeños como ratas (34) y cuyes (28), así como en animales mayores como borregas (29). Nuestro estudio, igualmente, encontró un número de crías mayor en los grupos suplementados con Maca, siendo aún más notable en el grupo Maca Cocida.

Aunque no existe una explicación científicamente demostrada respecto a este efecto, se podrían plantear algunas hipótesis. No se ha reportado fitohormonas en la Maca, sin embargo, algunos compuestos químicos de la Maca (como glucosinolatos o esteroides) podrían indirectamente abastecer de sustratos para la síntesis de compuestos hormonales. De hecho un estudio en humanos encontró que la suplementación con Maca en un grupo de mujeres postmenopáusicas produjo una marcada disminución de los niveles séricos elevados de

LH que tenían antes del uso de Maca (36). O, por otro lado, estos compuestos podrían poseer actividades pro- o anti-estrogénicas, como ha sido descubierto para extractos de *Lepidium capitatum* (37) o afinidad por los receptores de estrógenos, como ha sido demostrado para algunos extractos de otro producto peruano, la *Uncaria tomentosa* (Uña de Gato) (38). Otras hipótesis más difíciles de sustentar (por la falta de antecedentes en la literatura) son la activación de vías metabólicas para la producción hormonal normalmente no utilizadas, como las vías metabólicas de la epiandrostenediona a partir de algunos esteroides existente en las glándulas suprarrenales, o la acción sobre centros hipotalámicos reguladores de la producción hormonal sexual.

En conclusión, este estudio muestra la capacidad nutricional de la Maca, demostrado por curvas de crecimiento favorables a la Maca Cocida sobre la Maca Cruda y sobre el ABC, hallazgo que fue ratificado por los valores séricos de proteínas totales y albúmina.

REFERENCIAS

1. FAO/OMS. Conferencia Internacional sobre Nutrición. Informe Final de la Conferencia. Roma, Diciembre 1992.
2. Morales E. Actualidades en Nutrición [Symposium]. Diagnóstico 1997;36:16-17.
3. Becerra C, Gónzales GF, Villena A, De la Cruz D, Florián A. Prevalencia de anemia en gestantes, Hospital Regional de Pucallpa, Perú. Rev Panam Salud Pública/Pan Am J Public Health 1998;3:285-291.
4. Demant TW, Rhodes EC: Effects of creatine supplementation on exercise performance. Sports Med 1999;28:49-60.
5. Farnsworth NR. Ethnopharmacology and future drug development. The North American experience. J Ethnopharm 1993;38:145-152.
6. WHO. In vitro screening of traditional medicines for anti-HIV activity: Memorandum from a WHO meeting. Bull WHO 1989;67:613-618.
7. Dini A, Migliuolo G, Rastrelli L, Saturnino P, Schettino O. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. Food Chem 1994;49:347-349.
8. Gónzales GF, Goñez C, Villena A. Serum lipid and lipoprotein levels in postmenopausal women: Short Course Effect of Caigua. Menopause 1995;2 :225-234.
9. Jang M, Cai L, Udeani GO, et al. Cancer Chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science 1997;275:218-220.
10. Vaisberg AJ, Milla M, Planas MC, Córdova JL, Rosas de Agusti E, Ferreryra R, Mustiga MC, Carlin L, Hammond GB. Taspine is the cicatrizant principle in sangre de grado extracted from *Croton lechleri*. Planta Med 1989;55:140-143.
11. Matos R. La Maca: Una planta peruana en extinción. Cielo Abjerto 1994: 3-9.
12. Antúnez de Mayolo SE. La Nutrición en el Antiguo Perú. Banco Central de Reserva del Perú. Fondo Editorial. Lima, Perú. 1988.
13. Obregón L. Maca. Planta Medicinal y Nutritiva del Perú. Edit. Instituto de Fitoterapia Americano. Lima, Perú. 1998.

14. Apumayta UP, Lock O. La Maca, importante especie vegetal peruana merece un mayor estudio. *Revista de Química (PUCP)* 1993;VII:211-217.
15. La Maca «Il ginseng delle Ande» e altre radici e tuberi andini. Instituto Italo-Latinoamericano. Serie Scienza 10. Roma, Italia. 1998.
16. Soukup J. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los Géneros. Edit. Salesiana. Lima, Perú. 1986: 441 pag.
17. Solís R. Producción de Maca en la Meseta de Bombón. Imprenta Ríos. Huancayo, Perú. 1996.
18. Pacheco M. Virtudes fecundantes de la Maca. *Revista Alimentaria* Julio 1986.
19. Yllesca M. Estudio Químico y Fitoquímico comparativo de 3 ecotipos de *Lepidium meyenii* Walp [Maca] procedente de Carhuamayo (Junín) [Tesis de Químico Farmacéutico]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). 1994. Lima, Perú.
20. Baquerizo G. Estudio químico-bromatológico del *Lepidium meyenii* Walp (Maca) y del *Aiphanes var Deltoidea* Burret (Shica-Shica). Tesis Bachiller Medicina UNMSM. 1968. Lima, Perú
21. Duhan A, Khetarpaul N, Bishnoi S: Effect of various domestic processing and cooking methods on phytic acid and HCl-extractability of calcium, phosphorus and iron of pigeon pea. *Nutr Health* 1999;13:161-9.
22. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Temas seleccionados sobre medicina de animales de laboratorio : El Ratón. Serie de Monografías Científicas y Técnicas No. 3. Organización Panamericana de la Salud. Rfo de Janeiro, Brasil. 1974.
23. Approximate Chemical Composition of Purina Laboratory Chows. *Purina Laboratory Manual*.
24. Collazos C, Robles N, Roca A, y col. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. 7a. Ed. Lima, Perú, 1996.
25. Gornall AG, Bardawill CS, David MM: Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 1949;177:751-766.
26. Doumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta* 1971;31:87-96.
27. Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determinations of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974;20:470-5.
28. Córdor D. Efecto de diferentes niveles de Maca (*Lepidium meyenii* Walp) en raciones de crecimiento para cuyes. *Revista del INIA* 1994:146.
29. Córdor D. Influencia de la Maca en el incremento de peso, en la reproducción y descendencia de borregas en la cooperativa comunal de San Ignacio de Junín [Tesis Ing. Zootecnista]. Pasco : Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión; 1991.
30. Torún B. Proteínas, química, metabolismo y requerimientos nutricionales. En : *Nutrición Clínica en la Infancia*. Vevey ;Raven Press, New York;1985.pp. 99-119.
31. Pascol D. *Toxicology* ; London, Edward Arnold (Publishers) Limited, 1983:31-50.
32. Marcelo A, Okuhama N, Canales M, Salazar R, Aguilar JL : Ausencia de toxicidad aguda (DL50) y citotoxicidad de *Lepidium meyenii*. (Artículo original enviado a publicación en *Acta Medica*).
33. Alvarez CJ. Utilización de diferentes niveles de Maca en la fertilidad de cobayos. [Tesis Ing. Zootecnista] Pasco : Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión; 1993.
34. Chacón G. Estudio Fitoquímico de *Lepidium meyenii* [Tesis biólogo]. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1961.
35. Lamas G, Quispe G, Ramos D, Ferreyra C, Casas H, Apumayta U. Estudio de la Propiedad Estrogénica del *Lepidium meyenii* en Ratas. *II Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas* ; 1994 Oct 17-21 ; Lima, Perú.
36. Lamas G, Chang A: Efecto de la Suplementación de Maca (*Lepidium meyenii*) en Mujeres Post-menopáusicas. [Tesis biólogo]. Ica, Perú. Universidad Nacional de Ica;1996.
37. Singh MM, Wadhwa DN, Gupta DN, Pal R, Khanna NM, Kamboj VP: Postcoital Contraceptive Efficacy and Hormonal Profile of *Lepidium capitatum*. *Planta Medica* 1984;48:154-7.
38. Salazar EL, Jayme V: Depletion of Specific Binding Sites for Estrogen Receptor by *Uncaria tomentosa*. *Proc Western Pharmacol Soc* 1998; 41:123-4.

Recibido:17-08-1999

Aceptado:13-01-2000

Huevo en polvo con bajo contenido de colesterol. Características nutricias y sanitarias del producto

Angela Sotelo y Laura González

Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM),
Ciudad Universitaria, México

RESUMEN. Se elaboró huevo en polvo con bajo contenido de colesterol para ser empleado en la preparación de diversos alimentos para personas a quienes se les ha restringido el consumo de huevo. Se deshidrataron mezclas de clara y yema en distintas proporciones de estos componentes: Mezcla A (1:1), que corresponde al huevo entero usado como referencia, mezclas B (2:1) y C (3:1) de clara:yema respectivamente y se hizo la caracterización del polvo. Se realizó el análisis químico proximal, evaluación de la calidad proteínica, microbiológica y sensorial, además de averiguar las características físicas y reológicas de los polvos. La concentración de grasa y colesterol en la mezcla C (3 claras y 1 yema) se disminuye el 40% y 20% respectivamente con respecto al huevo. Por las pruebas microbiológicas las 3 mezclas cumplen con la norma oficial para huevo en polvo. La razón de eficiencia proteínica (REP) en las 3 mezclas fue alta. La mezcla A correspondiente al huevo entero fue de 3.65 y el más bajo fue la mezcla C con el valor de 3.05. Las dietas de harina de maíz nixtamalizado (HMN) con las mezclas A y C dieron valores superiores al patrón de caseína. Las pruebas sensoriales de los alimentos elaborados con todas las mezclas fueron aceptables.

Palabras clave: Huevo en polvo, colesterol, calidad nutricia, pruebas microbiológicas, pruebas sensoriales.

SUMMARY. Low cholesterol egg powder. Nutritive and sanitary characteristics of the product. The purpose of this study is to obtain a low cholesterol egg powder for the preparation of different foods for persons whose egg consumption is restricted. Egg white and yolk mixtures prepared in different proportions were dehydrated; the following dried mixtures were obtained: A (1:1), B (2:1) and C (3:1) of egg white:yolk respectively. These mixtures were evaluated using the following parameters: proximal analysis, microbiological assay and protein quality evaluation. Physical characteristics of the powder and the sensorial tests of foods prepared with these mixtures were carried out. The fat and the cholesterol content in the mixture C were decreased by 40% and 20% respectively. The microbiological tests showed that the three mixtures were safe for human consumption. The PER of sample A (whole egg) was 3.65 and for the mixture C 3:1 egg white:yolk was 3.05. The PER of the 50:50 protein mixtures eggs white and yolk: with corn lime treated flour (HMN) were higher than that of the casein standard. The sensorial tests of the foods prepared with all the mixtures were acceptable.

Key words: Egg powder, egg white:yolk, cholesterol, nutritive value, microbiological quality, sensorial tests.

INTRODUCCION

Uno de los alimentos de mayor consumo en el mundo es el huevo, especialmente el de gallina, ya que además de su calidad nutritiva principalmente proteínica, es un producto de gran disponibilidad y bajo costo (1). Es bien sabido que los dos componentes principales del huevo, la clara y la yema contienen proteínas de alta calidad que lo hacen un alimento ideal para todos los individuos. Sin embargo, por su elevado contenido de colesterol y la asociación que se ha establecido de alto consumo de este componente con enfermedades cardiovasculares, se recomienda disminuir el huevo en la dieta, especialmente en aquellas personas mayores de 50 años (2).

Hay muchas técnicas propuestas por varios autores para disminuir el colesterol en el huevo. Por ejemplo, extracción con solventes (3-6); extracción con fluido supercrítico (6-8); formar complejos con β -ciclodextrinas (9); modificación en dieta de las gallinas ponedoras (10) y administración a las

gallinas de un inhibidor sintético de la reductasa HMG-CoA (11).

Cada uno de estos métodos presenta distintas ventajas y desventajas sobre los demás; sin embargo, todos implican la utilización de material y equipos sofisticados, sin mencionar técnicas complicadas que también influyen sobre algunas propiedades funcionales de las proteínas del huevo (12). Esto se traduce en la necesidad de una gran inversión tanto de tiempo como de recursos y por lo tanto, se encarece el producto final.

El desarrollo de una técnica sencilla para la disminución del contenido de colesterol en el huevo, sin encarecer excesivamente el producto final, sería de gran utilidad para la alimentación de ciertos individuos, ayudaría en tratamientos preventivos de aterosclerosis y el producto podría ser utilizado en el procesamiento de alimentos, con todas las ventajas nutricionales del huevo y sin los problemas por exceso de colesterol; teniéndolo al alcance de la mayoría de la población.

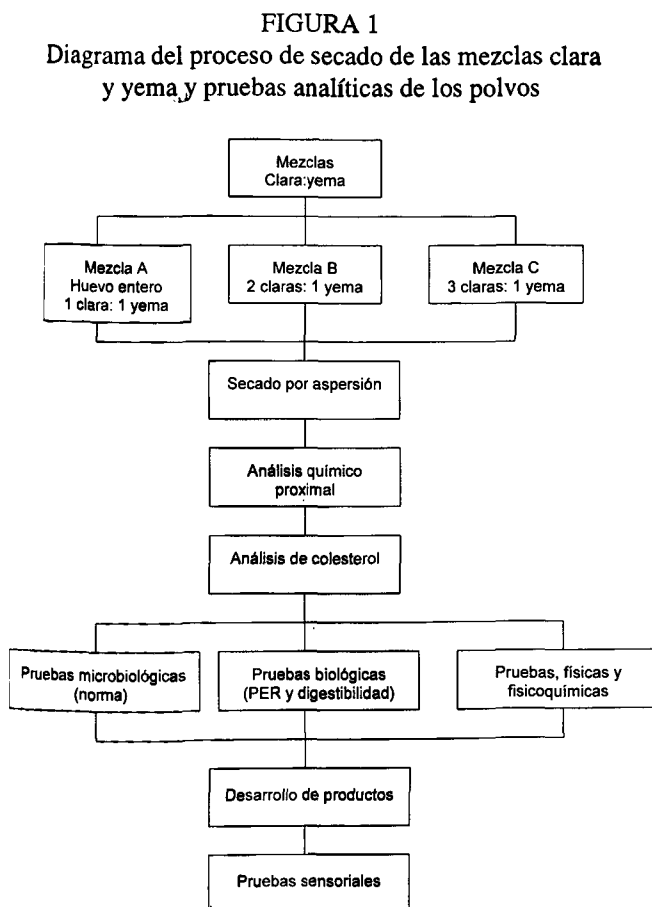
En la industria alimentaria, gran parte del huevo y sus derivados es utilizado en forma de polvo o congelado, y se procura que en el proceso no se afecten las características originales del huevo fresco.

En este trabajo se propone utilizar una técnica muy simple, consistente en la preparación de mezclas de yema y clara en diferentes proporciones, y con ellas obtener huevo en polvo bajo en colesterol.

MATERIAL Y METODOS

La investigación se dividió en dos partes. La primera fue destinada a la evaluación de las fracciones frescas del huevo; mientras que en la segunda se trabajó con 3 mezclas de clara y yema en las siguientes proporciones: 1:1 (huevo entero), 2:1 y 3:1 respectivamente, las cuales fueron secadas por aspersión para tener un producto en polvo y la posterior caracterización de estos polvos.

En la Figura 1 se presenta el desarrollo del proceso de elaboración y secado de las mezclas y las pruebas analíticas de los polvos.



Se analizó la composición del huevo entero y fresco y por separado, la yema y la clara para caracterizar la materia prima.

El huevo utilizado fue de cascarón blanco, obtenido en un supermercado. Se hizo la evaluación de su composición química proximal de acuerdo a los métodos del AOAC (13). Se determinó la cantidad de colesterol por el método colorimétrico empleando un kit de los laboratorios Lakeside Mex (14). En las mezclas en polvo se realizaron también los análisis anteriores, las pruebas microbiológicas (15,16) y las de calidad y digestibilidad proteínica (17, 18); además de las pruebas de reconstitución, físicas y reológicas. Por otro lado, se hicieron las pruebas sensoriales a los alimentos preparados con las distintas mezclas en polvo.

Secado por aspersión

Se realizó el secado por aspersión de las mezclas de trabajo de acuerdo a los procedimientos indicados por el fabricante del equipo utilizado: Niro Atomizer (No. de serie: 2556) (19).

Las condiciones del secado por aspersión fueron las siguientes:

- Temperatura del aire en la cámara de secado 210°C
- Temperatura de salida del huevo en polvo 75-80°C
- Sólidos totales del fluido 10%.

Es importante mantener constantes las condiciones de secado, ya que una de las características de la clara es la floculación por calor, por lo tanto se debe cuidar que la temperatura no se incremente para evitar problemas en el proceso.

Al huevo en polvo se le realizaron las pruebas físicas como densidad, además de las pruebas de reconstitución y reológicas (20).

Pruebas de reconstitución

A las tres muestras secadas por aspersión se les realizaron las pruebas de reconstitución siguiendo las técnicas utilizadas para polvos instantáneos.

Humectabilidad: Es una medida de la capacidad del polvo para ser humedecido con agua a una temperatura dada en un tiempo determinado.

Se pesan 10 g de muestra en polvo por duplicado, se colocan en un vaso de precipitado que contiene 75 ml de agua a $20\pm 2^\circ\text{C}$ y se mide el tiempo que se requiere para que todo el polvo se humecte.

Solubilidad: Esta medición es fundamentalmente empírica y depende de factores como el método de secado, la temperatura del mismo y la acidez. Se calcula el porcentaje de material disuelto bajo las condiciones del medio.

Se pesan 4 g de muestra, se transfieren a un tubo de centrifuga de 50 ml, se agregan 32 ml de agua a 50°C , se agitan durante 10 segundos y se colocan en un baño de agua a 50°C durante 5 minutos. Se centrifuga la suspensión a 2000 r.p.m. durante 10 minutos y se deja enfriar durante 2 horas. Una vez a temperatura ambiente, el tubo se agita hasta obtener una suspensión homogénea; se transfieren 2 ml de esta suspensión a una charola de aluminio previamente puesta a peso constante y se pesa. Se evapora a sequedad en la estufa y, posteriormen-

te, se transfieren a una estufa de vacío hasta que se tenga el peso constante.

La suspensión del tubo se vuelve a centrifugar a 2000 r.p.m. durante 10 minutos; se transfieren 2 ml del sobrenadante a una charola de aluminio y se pesa; se evapora a sequedad y luego se deja en la estufa de vacío hasta peso constante.

CALCULOS:

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{(T1) (T2)}{(T2) (S1)} \times 100$$

T1 = Peso de la suspensión tomada en la primera centrifugación (g)

T2 = Peso de la suspensión tomada en la segunda centrifugación (g)

S1 = Peso de sólidos totales en T1 (g)

S2 = Peso de sólidos totales en T2 (g)

Volumen de sedimentación: Es la relación entre el volumen de equilibrio y el volumen total de la suspensión (20).

Se pesan 10 g de muestra y se colocan en una probeta de 100 ml y se afora con agua; se agita y se mide el volumen inicial. Cada 2 horas (4 veces) se agita. Una vez que han transcurrido 24 horas, se agita y se toma la lectura del volumen de sedimentación final.

CALCULOS:

$$\text{Vol. De Sedimentación} = \frac{\text{VS final}}{\text{VS inicial}}$$

VS. inicial: Medida que se alcanza al agregar el agua.

VS. final: Medida que alcanza el sedimento de la muestra después de la agitación y reposo de 24 horas.

Lo ideal es que el valor de sedimentación sea igual a 1.

Pruebas reológicas

Angulo de reposo: Es la medida relativa de la fricción de las partículas de polvo y corresponde al ángulo que forma la superficie lateral del cono con la horizontal. El ángulo de reposo es pequeño cuando se trata de partículas finas, o pegajosas. Los valores óptimos en un polvo de buena calidad están entre 30 y 40° (21, 22).

El equipo utilizado para la medición del ángulo de reposo y velocidad de flujo fue el flujómetro (Erweka tipo GDT, Alemania). Se pesan 10 g de muestra en polvo y se pasan a través del embudo del flujómetro desde una altura de 10 cm sobre la base sólida. Se miden la altura y el radio del cono.

CALCULO:

$$\text{Tng} = (H / r)$$

$$\text{Angulo} = \text{Tng}^{-1}$$

H = Altura del cono (cm)

r = Radio del cono (cm)

Tng = Tangente del ángulo

Velocidad de flujo: Esta prueba se realizó pesando 10 g del polvo, que se hizo pasar por el embudo del flujómetro y se midió el tiempo que tardó en caer, obteniendo el valor de velocidad de flujo con la relación peso de muestra (g)/tiempo (s).

CALCULO:

$$\text{Vel. Flujo} = \frac{m}{t}$$

m = Peso de la muestra (g)

t = Tiempo (s)

Análisis microbiológico

Se midió la concentración de mesófilos aerobios de acuerdo a la norma mexicana. El medio que se utilizó para la determinación fue el agar soya-triptocaseína por el método de cuenta en placa de unidades formadoras de colonias (UFC). Se determinó la presencia y cuenta de coliformes expresando el resultado en número más probable de coliformes (NMP) por gramo de acuerdo a las tablas correspondientes. Se confirma la presencia o ausencia de *E coli* empleando los medios específicos. Se realizaron los pasos sucesivos para el aislamiento e identificación de *Salmonella* y se confirmó la presencia del *S. Aureus* inoculando de los tubos positivos, a placas con medio de Vogel- Johnson. Para la determinación y cuenta total de hongos y levaduras se siguió el método de la norma expresando el resultado en UFC por g de polvo (23).

Pruebas biológicas para medir la calidad proteínica: Razón de Eficiencia Proteínica (REP) y Digestibilidad (D) (17,18)

Animales. Se utilizaron ratas Wistar recién destetadas animales machos de 21-23 días, de 40±10g. El número por lote utilizado en el experimento fue de 6 ratas. El consumo de alimento y agua fue *ad libitum*. La temperatura del bioterio era de 21°C, con períodos de luz-obscuridad de 12 hs. El estudio duró 21 días y los animales se pesaron 2 veces por semana.

Preparación de las dietas. Tanto la dieta control como las dietas de estudio, fueron isoproteínicas (10% proteína) e isocalóricas (430 kcal / 100 g dieta).

Además de probar las mezclas generadas con el huevo, se añadieron dos dietas más, en las que se incorporó harina de maíznixtamalizado a dos de las mezclas de clara-yema. Se buscó combinar una fuente de proteína animal con una vegetal (cereal), de alta disponibilidad. Esto se hizo con el fin de averiguar la calidad nutricia de la mezcla con la que se pudieran elaborar alimentos de bajo costo y bajo colesterol. La proporción de proteína de las mezclas de huevo y la harina de maíz fue de 50:50. También se utilizó una dieta de caseína,

como patrón de comparación.

Digestibilidad. La relación entre la cantidad de nitrógeno ingerido y el nitrógeno eliminado en las heces es un estimador del nitrógeno absorbido por el animal. Es importante conocerlo, para establecer qué tan asimilable es la proteína de la muestra.

Para esta determinación se colectaron las heces de las ratas a partir del día 12 de la prueba biológica (REP) hasta su término; se secaron en estufa para evitar que se desarrollaran hongos. Al final del experimento se registró el peso de las heces, se molieron en mortero y se les determinó el contenido de nitrógeno. También se realizó la medición del nitrógeno en las dietas para conocer el ingerido por los animales durante el periodo de colección de heces. Con estos datos se calcularon los valores de nitrógeno ingerido y nitrógeno fecal para cada animal.

Para obtener el valor de REP y Digestibilidad, se efectuaron los cálculos de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$\text{REP} = \frac{\text{Peso ganado}}{\text{Proteína consumida } (\sum \text{AI} \times f)}$$

$$D = \frac{\text{NI} - \text{NF}}{\text{NI}} \times 100$$

$\sum \text{AI}$: Corresponde a la suma del alimento ingerido durante toda la prueba (g).

f: Es un factor que corresponde al contenido de proteína de la dieta: (%proteína / 100 de dieta).

NI: Nitrógeno ingerido por el animal durante la recolección de heces.

NF: Nitrógeno excretado por el animal durante el mismo período.

Los resultados se evaluaron por medio del análisis de varianza para determinar las diferencias significativas.

Evaluación sensorial

Para esta prueba se elaboraron diversos productos de alto consumo casero. Se escogieron recetas en cuya preparación se usaron las mezclas de huevo en polvo. Estos alimentos son de gran aceptación por individuos de todas las edades y de fácil preparación, utilizando las mezclas preparadas de huevo según las recetas caseras, y otros ingredientes que se encuentran en los hogares y cuyo costo no fuera elevado. Los productos elaborados fueron galletas, atoles, y postres tipo natillas o flanes.

Procedimiento de la evaluación sensorial: Se estudió el comportamiento sensorial en dos poblaciones que se consideraron como consumidores potenciales de las mezclas preparadas. La primera población correspondió a 15 niños cuyas edades variaban entre 2 y 7 años de edad, mientras que la segunda población correspondió a 13 adultos que consumían huevo por lo menos tres veces a la semana en su dieta habitual.

A cada consumidor se le presentaron en forma aleatoria, los alimentos preparados con las tres mezclas escogidas. Se calificaron las respuestas en escalas hedónicas (24).

Para los adultos se utilizó una escala estructurada de nueve puntos, mientras que para los niños se utilizó una escala de cinco puntos representada con diagramas faciales, ya que son los más recomendados para la elaboración de pruebas afectivas con niños (25). Se eligieron las claves de las muestras utilizando una tabla de números aleatorios.

Una vez realizada la prueba con las dos poblaciones, la escala hedónica se convirtió en numérica de 0 a 10 de acuerdo con el número de puntos de la escala. Los resultados se tabularon por juez-consumidor (filas) y por producto (columnas).

El análisis de datos se realizó mediante un análisis de varianza de una vía para determinar la diferencia entre la variable de estudio (mezcla de huevo en polvo). El valor de F teórico se obtuvo con un nivel de significancia del 5% de tablas (24), para determinar la diferencia significativa entre las muestras.

La escala hedónica para los adultos fue: Pésimo; Muy malo; Malo; Algo malo; Regular; Algo bueno; Bueno; Muy bueno; Excelente.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presentan los resultados del análisis químico proximal del huevo fresco completo, de la yema y de la clara.

TABLA 1
Análisis químico proximal del huevo fresco entero, yema y clara (g/100g) y contenido de colesterol (mg/100g)

| | Entero | Yema | Clara |
|-------------------|---------------|----------------|--------------|
| Humedad | 75.15 ± 0.48 | 43.35 ± 1.06 | 87.93 ± 0.05 |
| Cenizas | 0.93 ± 0.01 | 1.92 ± 0.02 | 0.74 ± 0.01 |
| Proteína (Nx6.25) | 13.55 ± 1.36 | 20.99 ± 0.42 | 10.48 ± 0.02 |
| Grasa | 8.28 ± 0.04 | 29.63 ± 0.26 | 0.01 ± 0.00 |
| ENN* | 2.09 | 4.11 | 0.84 |
| Colesterol | 409.12 ± 4.56 | 1238.45 ± 3.30 | - 0 |

* Extrato no nitrogenado

El componente mayoritario del huevo fresco es el agua; por lo tanto, un tratamiento de secado disminuiría el volumen total ocupado por el producto, presentando ventajas en la conservación (12). El contenido de proteína en base húmeda fue muy alto, tomando en cuenta su alto contenido de agua.

La fracción lipídica y la concentración de proteínas en la yema fue mayor que en la clara y esto influye en las características físicas, las propiedades funcionales y sensoriales del huevo, como por ejemplo su capacidad emulsionante (26-28). En cuanto a la clara, además de su alto contenido de agua, fue baja en grasa.

El contenido de colesterol en las fracciones frescas, mostrado en la misma Tabla 1 indica que en la clara, fue cero y la cantidad de colesterol encontrada en la yema fue muy elevada que era lo esperado. En el huevo entero, el valor es menor aunque sigue siendo un aporte significativo de colesterol a la dieta de los consumidores de este alimento. La disminución de colesterol por la adición del componente carente de colesterol (la clara), es la propiedad que se trató de aprovechar en este trabajo.

En la Tabla 2 se presentan los resultados del análisis químico proximal y colesterol de las mezclas de clara y yema secadas por aspersión y de harina de maíz nixtamalizado (HMN).

En las muestras secas de huevo se observó que los componentes mayoritarios fueron proteínas y grasa en los tres casos. El nivel de lípidos descendió conforme se aumentó la proporción de clara y el proteínico aumentó en el mismo sentido.

Algunos estudios han demostrado que las propiedades sensoriales que el huevo confiere a los alimentos se deben básicamente a la fracción lipídica del mismo (29). La mezcla A, fue la utilizada como referencia de comparación de los resultados obtenidos en las otras dos mezclas, ya que son los resultados que se esperarían de cualquier huevo entero deshidratado a nivel comercial.

TABLA 2
Análisis químico proximal en las mezclas de huevo en polvo y de la harina de maíz (HMN) (g/100g de muestra) y contenido de colesterol (mg / 100 g)

| | Mezcla A Huevo entero | Mezcla B (2:1) ¹ | Mezcla C (3:1) ¹ | HMN |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------|
| Humedad | 2.58 ± 0.02 | 2.62 ± 0.02 | 2.54 ± 0.03 | 6.35 ± 0.12 |
| Cenizas | 3.65 ± 0.01 | 4.21 ± 0.01 | 4.34 ± 0.02 | 1.43 ± 0.02 |
| Proteína ² | 48.93 ± 0.42 | 58.35 ± 0.39 | 63.56 ± 0.27 | 8.87 ± 0.17 |
| Grasa | 34.15 ± 0.17 | 24.39 ± 0.03 | 19.88 ± 0.01 | 4.56 ± 0.06 |
| Fibra | 0 | 0 | 0 | 7.76 ± 0.47 |
| ENN ³ | 10.69 | 10.43 | 9.68 | 71.03 |
| Colesterol | 2162.32 ± 138.62 | 1919.54 ± 41.44 | 1723.51 ± 27.54 | 0 |

1 Clara:yema 2 N x 6.25 3 Extracto no nitrogenado

En la mezcla B (2 claras: 1 yema) se observó disminución de la fracción de grasa (alrededor de 30%) con respecto a la referencia, así como un aumento de la fracción proteínica (alrededor de 19%). En los demás componentes no hubo variaciones significativas.

En la mezcla C (3 claras: 1 yema) se observaron cambios significativos en la proporción de grasa que disminuyó el 40%, mientras que el contenido de proteína aumentó (aproximadamente 30%). Al igual que en el caso anterior, los demás componentes permanecieron prácticamente constantes.

En cuanto al contenido de colesterol, al comparar con el valor de referencia de la mezcla A (huevo entero) se observó que efectivamente la cantidad de colesterol tendió a disminuir en las siguientes preparaciones:

En la mezcla B (2:1) hubo una reducción del 11.2% y en la C (3:1), del 20.3 % de colesterol. La cantidad de colesterol informada por otros autores (30), fue de 1918 mg/100 g de huevo entero deshidratado comercial, que corresponde al valor encontrado en la mezcla B (2:1).

En la misma Tabla 2 se presenta la composición química proximal de la harina de maíz nixtamalizado que fue necesario realizar para el cálculo de componentes de las dietas para la prueba biológica REP. Se eligió este alimento, ya que es ampliamente consumido en el país en diversas formas; además de ser mucho más barato que otros cereales (trigo o arroz).

Si se comercializara la mezcla con cereal, sería más accesible a personas de escasos recursos económicos.

Al comparar los resultados obtenidos en las pruebas microbiológicas (Tabla 3) con los de la norma oficial para huevo en polvo (31), se observó que las tres mezclas entraron en la categoría de huevo deshidratado grado A. Con base exclusivamente en sus características microbiológicas, se puede decir que se trata de un alimento inocuo para el consumo humano.

En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos de las propiedades reológicas y de reconstitución de las tres muestras de huevo en polvo. Los valores de velocidad de flujo fueron bastante similares en las tres muestras. Se observó que la mayor velocidad se obtuvo en la mezcla C, lo que indica que la disminución de la fracción de yema le afectó presentando una menor cohesión entre las partículas del polvo.

Los resultados del ángulo de reposo indicaron que las tres mezclas se pueden clasificar como polvos de flujo ligero. Sin embargo, el flujo más ligero corresponde a la mezcla C, lo que coincide con lo encontrado en los resultados de velocidad de flujo.

Con respecto a los resultados de humectabilidad, se observó que la mezcla con mayor proporción de clara fue la que tardó más en lograr la humectación completa. Esto se puede deber a que el tratamiento térmico recibido durante el secado por aspersión modificó la estructura de la albúmina de la clara, impidiendo así la entrada de las moléculas de agua para humectar (32).

TABLA 3
Pruebas microbiológicas del huevo en polvo y su comparación con la norma oficial.

| | Experimental | | | Norma oficial | |
|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------|---------|
| | Mezcla A (1:1) ¹ | Mezcla B (2:1) ¹ | Mezcla C (3:1) ¹ | Grado A | Grado B |
| Mesófilos aerobios (UFC / g) ² | 3750 | 4150 | 6800 | 25000 | 50000 |
| Coliformes (NMP / g) ³ | 3.6 | <3 | 3.6 | 10 | 10 |
| Hongos y Levaduras | Ausente | Ausente | Ausente | 10 | 10 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente |
| <i>Salmonella sp.</i> (25 g) | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente |
| <i>E. coli</i> (0.1 g) | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente |

¹ Clara:Yema; ² Unidades formadoras de colonias; ³ Número más probable.

TABLA 4
Pruebas fisicoquímicas y de reconstitución de las mezclas de huevo en polvo.

| Muestra* | Velocidad de flujo (g/s) | Angulo de reposo grados | Humectabilidad (min.) | Volumen de sedimentación | Solubilidad (%) |
|----------|--------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------|
| Mezcla A | 1.92 ± 0.13 | 36.87° ± 1.75 | 13.25 ± 0.82 | 0.68 ± 0.03 | 79.80 ± 0.78 |
| Mezcla B | 2.31 ± 0.34 | 33.18° ± 0.82 | 14.99 ± 0.65 | 0.60 ± 0.06 | 82.68 ± 1.02 |
| Mezcla C | 2.33 ± 0.19 | 31.43° ± 1.96 | 21.49 ± 1.00 | 0.50 ± 0.07 | 89.23 ± 0.15 |

Mezcla A:huevo entero, Mezcla B: (2:1) y Mezcla C: (3:1), (clara:yema) respectivamente

Con respecto al volumen de sedimentación se observó que el valor más alto corresponde a la mezcla A (huevo entero). Esto es lógico, ya que el volumen del sedimento se afecta por la presencia de los glóbulos de grasa y esta mezcla es la que tiene mayor proporción de ella. Sin embargo, las tres muestras se encuentran alejadas de la suspensión ideal (V.S. = 1).

Al relacionar los resultados de volumen de sedimentación con los de solubilidad, se observó que la mayor solubilidad se encontró en la mezcla C que coincide con el valor más bajo del

volumen de sedimentación y, por lo tanto, el más alejado de la suspensión ideal. Esto se debe esencialmente a la disminución del contenido de grasa en esta mezcla. Lo anterior podría resolverse agregando lecitina de soya a las mezclas e igualando la concentración de grasa con la mezcla A.

En la Tabla 5 se presenta la composición de las dietas que se prepararon para las pruebas biológicas de REP y digestibilidad.

TABLA 5
Composición de las dietas para las pruebas biológicas (g/100g de dieta)

| Ingrediente | Caseína | Mezcla A ¹ | Mezcla B ² | Mezcla C ³ | HMN: A ⁴ | HMN: C ⁴ |
|---------------------------------------|-------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Dieta control de Caseína ⁵ | 10.60 | — | — | — | — | — |
| Huevo en polvo | — | 20.43 | 17.14 | 15.73 | 10.22 | 7.87 |
| Maíz nixtamalizado (HMN) | — | — | — | — | 55.37 | 55.37 |
| Sacarosa | 22.00 | 21.32 | 21.40 | 21.49 | 8.29 | 8.40 |
| Dextrosa ⁵ | 19.00 | 18.41 | 18.47 | 18.56 | 6.15 | 6.20 |
| Dextrina ⁵ | 25.00 | 24.23 | 24.32 | 24.42 | 8.32 | 8.55 |
| Grasa hidrogenada | 8.00 | 4.03 | 5.61 | 6.21 | 3.44 | 5.64 |
| Aceite de maíz | 6.00 | 3.02 | 4.21 | 4.66 | 3.40 | 3.23 |
| Sales ⁵ | 4.00 | 3.18 | 3.28 | 3.32 | 2.80 | 2.75 |
| Vitaminas ⁵ | 2.00 | 2.00 | 2.00 | 2.00 | 2.00 | 2.00 |
| Celulosa ⁵ | 3.40 | 3.37 | 3.55 | 3.60 | — | — |
| Total | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.00 | 100.00 |
| % Proteína | 9.93 ± 0.23 | 9.60 ± 0.30 | 10.26 ± 0.16 | 10.51 ± 0.08 | 9.09 ± 0.23 | 10.29 ± 0.08 |

Clara:Yema: ¹ 1:1, ² 2:1 y ³ 3:1. ⁴ Aporte de proteína 50:50 de HMN:huevo. ⁵ Teklad Text Diets, Madison, WI. Los demás ingredientes fueron obtenidos en un supermercado.

En la Tabla 6 se presentan los resultados de las pruebas biológicas de REP y digestibilidad. El valor de REP más bajo correspondió a la caseína y el más alto a la dieta de huevo entero; al ajustar el valor de la caseína a 2.5, dio un valor de 3.65 Este valor es mas alto al esperado, ya que en la bibliografía se informan valores de R.E.P muy cercanos a 3 (33). Los resultados de las mezclas B y C no presentaron diferencias significativas ($\alpha=10\%$), lo que indica que la disminución de yema, al establecer las proporciones de clara huevo de 2:1 y 3:1, no afectó la calidad proteínica de las mezclas.

TABLA 6

Calidad proteínica (REP) y digestibilidad de las mezclas de clara y yema de huevo en polvo y de las mezclas huevo y maíz (HMN)

| Dieta | R.E.P. ¹ | REP Ajustado | Digestibilidad ¹ (%) |
|----------|--------------------------|--------------|------------------------------------|
| Caseína | 2.72 ± 0.22 ^a | 2.50 | 90.82 ^a ± 0.69 |
| Mezcla A | 3.93 ± 0.32 ^c | 3.65 | 91.29 ^a ± 1.11 |
| Mezcla B | 3.31 ± 0.17 ^b | 3.08 | 90.54 ^a ± 1.28 |
| Mezcla C | 3.29 ± 0.19 ^b | 3.05 | 90.38 ^a ± 0.85 |
| HMN:A | 3.14 ± 0.22 ^b | 2.92 | 86.18 ^b ± 1.69 |
| HMN:C | 2.80 ± 0.24 ^a | 2.60 | 88.09 ^b ± 1.29 |

¹ Letras distintas indican diferencia significativa; $X \pm D.S. \alpha = 10$

Al comparar los resultados obtenidos en las dietas con maíz, se observó que la dieta de HMN - Mezcla A, tuvo un valor mayor que el obtenido en la dieta HMN-Mezcla C. Esto es lógico, ya que el huevo entero fue el que presentó mejor calidad proteínica. Sin embargo, es importante mencionar que inclusive el resultado obtenido de esta última dieta, fue mayor, aunque no significativo, al encontrado con la dieta patrón de caseína, por lo que se puede decir que todas las dietas estudiadas tienen una elevada calidad proteínica.

En cuanto a los resultados de digestibilidad mostrados en la, misma Tabla 6, se observó que las diferencias entre las primeras cuatro dietas no fueron significativas, el mejor resultado fue el de la dieta de huevo entero. Con relación a las dietas que incluyen maíz, se observó un descenso en la digestibilidad debido posiblemente a la fibra aportada por el cereal. Sin embargo, los resultados obtenidos no son tan bajos como para decir que no son recomendables para su consumo.

En la evaluación sensorial (Tabla 7), se observó que ninguna de las muestras de alimentos elaborados presentó diferencias significativas en las poblaciones estudiadas ($p < .05\%$). Por lo tanto, se puede decir que la utilización de las mezclas de huevo en polvo en diversas formulaciones, no afectan las características sensoriales de los productos y por lo tanto, se pueden utilizar en la elaboración de alimentos como postres, bebidas y productos horneados.

TABLA 7

Análisis de varianza realizada con los datos de la evaluación sensorial de alimentos elaborados con las mezclas

| Muestra | Niños | | Adultos | |
|---------------------|---------------|--------------------|---------------|---------------|
| | Fexp vs Fteo* | Dif. Significativa | Fexp vs Fteo* | Dif. Signifi. |
| Galleta | 0.041 < 5.18 | No | 1.724 < 5.61 | No |
| Natilla | 0.011 < 5.18 | No | 0.122 < 5.61 | No |
| Postre de fresa | 0.001 < 5.18 | No | 1.913 < 5.61 | No |
| Bebida de chocolate | 0.005 < 5.18 | No | 0.301 < 5.61 | No |

* F exp = F experimental y F teo = F teórico (en tablas).

CONCLUSIONES

De este trabajo se puede concluir que con la mezcla de tres claras y una yema, se logra obtener un producto deshidratado bajo en colesterol que conserva las características del huevo en polvo normal que permite elaborar diversos alimentos como son atoles, postres y productos horneados que son de gran aceptabilidad y de alto valor nutritivo.

La mezcla en polvo de más bajo contenido de colesterol (3 claras y 1 yema) agregada en pequeñas concentraciones a la harina de maíz nixtamalizado permite tener una mezcla final de muy bajo costo y con alta calidad proteínica que puede ser utilizada para elaborar diversos alimentos para ser consumidos por individuos de todas las edades, pero especialmente por aquellos con restricciones en el consumo de colesterol.

Para lograr que las mezclas en polvo B y especialmente la C, presenten las características físicas y de reconstitución ideales del huevo en polvo normal, es recomendable agregar lecitina de soya y grasa vegetal para igualar la concentración de estos dos componentes a la del huevo entero.

REFERENCIAS

- Bourges H. Aterosclerosis. En Nutriología Médica. Casanueva E, Kanfer-Horwitz M., Perez-Lizaur, A., Arroyo P. Eds. Editorial Médica Panamericana. 1995;pp 232-254.
- Arredondo J. Productos de Huevo. Tec Alim 1997;32(1):34-35.
- Paraskevopoulou A, Kiosseoglou V. Cholesterol and other lipid extraction from egg yolk using organic solvents: effects on functional properties of yolk. J Food Sci 1994; 59(4):766-768.
- Chung S L, Ferrier LK. Partial lipid extraction of egg yolk powder: Effects on emulsifying properties and soluble protein fraction. J Food Sci 1991; 56(5):1255-1258.
- Larsen JE., Froning GW. Extraction and Processing of various components from egg yolk. Poultry Sci 1981;60:160-167.
- Warren MW, Ball Jr HR. Lipid composition of hexane and supercritical carbon dioxide reduced cholesterol dried egg yolk. Poultry Sci 1991;70:1991-1997.

7. Bringe NA, Howard DB, Clark DR. Emulsifying properties of low-fat, low-cholesterol egg yolk prepared by supercritical CO₂ extraction. *J Food Sci* 1996; 61(1):19-23 y 43.
8. Bringe NA, Cheng J. Low-fat, Low-cholesterol egg yolk in food applications. *Food Tech* 1995; 49(5):94-104.
9. Smith DM, Awad AC, Bennink MR, GIL JL. Cholesterol reduction in liquid egg yolk using -cyclodextrin. *J Food Sci* 1995; 60(4):691-694 y 720.
10. Stewart Hargis P. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl- a review. *World's Poultry Sci J* 1988; 44(1):17-29.
11. Elkin RG, Freed MB, Kieft KA, Newton RS. Alteration of egg yolk cholesterol content and plasma lipoprotein profiles following administration of a totally synthetic HMG-CoA reductase inhibitor to laying hens. *J Agric Food Chem* 1993; 41(7):1094-1101.
12. Earle RL. *Ingeniería de los Alimentos*, 2ª ed., Ed. Acirbia, España, 1988, cap. 7.
13. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC* 16ª ed. Washington D.C. 1995.
14. *Manual de Operación, Test-Combinación*, Cat. No., 124095, Lakeside, E.U.A.
15. Stanier RY. *Microbiología*. 4ª ed., Ed. REPLA, México, 1986, cap. 20.
16. Subsecretaría de Salubridad y Asistencia, *Técnicas generales para análisis microbiológico de alimentos S.S.A.* Dirección General de Laboratorios de Salud Pública, México, 1978; pp. 18-19, 28, 37-40.
17. Pellett PL, Young VR. *Nutritional evaluation of protein foods*. The United Nations University, Japón, 1980; pp. 1-5, 103-117.
18. Sotelo A, Lucas B. Determination of net protein utilization using whole carcass, hind leg or liver of the rat and its relationship with protein efficiency ratio determination. *J Nutr* 1978; 108(1) 61-66.
19. *Manual de Operación, Niro Atomizer*, Copenhagen, Dinamarca, No. de serie 2556.
20. Moreyra R. *Fundamentos y aplicaciones de propiedades físicas de alimentos en polvo*. *Tec Alim*, México, 1982; 17(3), pp 4-12.
21. Hard E. *Análisis químico de alimentos de Pearson*. Ed.1 C.E.C.S.A., México, 1988; pp. 25-26.
22. Remington. *Farmacología*. 17ª ed., Ed. Médica Panamericana, Argentina, 1987; Tomo 2, pp.423-424, 439-442.
23. *Normas Mexicanas Oficiales para Alimentos: NOM-092 y de la 111 a la 115-SSA1-1994*. Secretaría de Salud.
24. Pedrero DL, Pangborn RM. *Evaluación sensorial de los alimentos*. Ed. Alhambra Mexicana, México, 1989; pp. 103, 139-144, 221, 249.
25. Chen AW, Resurreccion AVA. Age appropriate hedonic scales to measure food preferences of young children. *J Sensory Studies*, 1996; 11:141-163.
26. Anton M, Gandemer G. Composition, solubility and emulsifying properties of granules and plasma of egg yolk. *J Food Sci* 1997; 62(3):484-487.
27. Mineki M., Kobayashi M. Microstructure of yolk from fresh eggs by improved method. *J Food Sci* 1997; 62(4):757-761
28. Davey EM, Zabik ME, Dawson LE. Fresh and frozen egg yolk protein fractions: Emulsion stabilizing power, viscosity, and electrophoretic patterns. *Poultry Sci* 1969; 48:251-260.
29. Gardner FA, Beck ML, Denton JH. Functional quality comparison of whole egg and selected egg substitute products. *Poultry Sci* 1982; 61:75-78.
30. Muñoz M, Ledesma JA, Roldán JA, Mendoza E, Chávez A, Pérez-Gil E, Hernández SL, y Chaparro A. G. *Tablas de valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México*. Ed. Pax, México, 1996; pp. 232, 322.
31. Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial, *Norma Oficial Mexicana NOM-F-330-S-1979, Huevo entero deshidratado o en polvo*, Dirección General de Normas, México, 24 de julio de 1979.
32. Kato A, Ibrahim HR, Takagi T, Kobayashi K. Excellent gelation of egg white preheated in the dry state is due to the decreasing degree of aggregation. *J Agric Food Chem* 1991; 38:1868-1872.
33. *Nutrition Document R.15/Add1. PAG(WHO/FAO/UNICEF)*, Marzo, 1962; pp. C119-C122.

Recibido:27-11-1999

Aceptado:09-05-2000

Perfil nutricional y microbiológico de los embutidos de soya disponibles en Costa Rica

Rafael Monge, María Laura Arias, Thelma Alfaro, Manuel Jiménez

Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (Inciensa), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

RESUMEN. Se estudió la calidad nutricional y microbiológica de 80 muestras de embutidos de soya (50% mortadela y 50% salchicha). El promedio de proteína en la mortadela fue de 17,5g/100g y en la salchicha 20g/100g. El contenido de grasa total fue de 5.5g/100g para ambos productos; no obstante, se hallaron diferencias altamente significativas (0.0000) en el contenido de los diferentes ácidos grasos entre ambos productos y en las muestras de un mismo producto dependiendo de la industria que los elaborara. Las mayores diferencias se evidenciaron en los niveles de ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1) y ácido linoleico (C18:2). En ninguna muestra se evidenció la presencia de colesterol. El índice de aterogenicidad promedio para mortadela fue 0.55 y para salchicha 0.59. El consumo de 25 gramos de proteína de soya derivada de estos embutidos puede generar aportar entre el 20-90% de la cantidad de ácidos grasos saturados recomendada por día. Así mismo, puede brindar entre el 12-70% de la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados recomendada por día. Estas variaciones responden a las importantes diferencias en la especiación de ácidos grasos evidenciadas según la marca del producto. El 20% de los embutidos estudiados mostraron niveles de coliformes totales $> 10^4$ /g, lo cual fue más frecuente en la salchicha. El 60% de las muestras de este embutido y el 10% de las muestras de mortadela mostraron niveles de psicrótrofos $> 10^6$ /g. En ninguna de las muestras se evidenció *Escherichia coli* y en el 5% *Clostridium perfringens* en niveles mayores a 10^2 /g. Los resultados señalan la urgente necesidad de implementar un sistema de control de calidad de los embutidos de soya, antes que las autoridades de salud consideren respaldar las campañas nutricionales que promuevan el consumo de los mismos.

Palabras clave: Soya, embutidos, calidad nutricional, calidad microbiológica, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*.

INTRODUCCION

Tradicionalmente las dietas ricas en proteína de soya han sido características de algunos grupos que por razones filosóficas, religiosas o ecológicas deciden mantener este tipo de alimentación. No obstante, actualmente se ha propuesto la incorporación de la proteína de soya a la dieta de la población general, como estrategia para prevenir el desarrollo de algunas enfermedades crónicas. Existe abundante evidencia científica señalando que la incorporación de al menos 25 gramos de proteína de soya en una dieta baja en ácidos grasos saturados

SUMMARY. Nutritional and microbiological profile of soy bean sausages available in Costa Rica. The nutritional and microbiological quality of 80 soybean sausage samples (50% frankfurter and 50% sausage mortadela) was studied. On average, the protein content was 17,5g/100g in sausage mortadela and 20g/100g in frankfurter. The mean total fat content was 5,5g/100g for both products. However when products of different manufacture industries were compared, a highly significant difference ($p=0,0000$) in the fatty acids speciation between both groups and between samples of the same product were found. Bigger differences were found in the content of palmitic acid (C16:0), oleic acid (C18:1) and linoleic acid (C18:2). Cholesterol was not detected in samples analyzed. On average the atherogenicity index was 0,55 for sausage mortadela and 0,59 for frankfurter. A consumption of 25 grams of soybean protein from these sausages can bring an intake of saturated fatty acids between 20-90% of the daily recommendation. Likewise, they can supply between 12-70% of the recommended daily polyunsaturated fatty acids. These variations are owing to the big difference in fatty acids speciation in each sausage brand. Around 20% of soybean sausages studied showed total coliform levels above 10^4 /g, being more frequent in sausage mortadela. Also 60% of this product and 10% of frankfurters showed psychrotroph levels of 10^6 /g. *Clostridium perfringens*, in levels above 10^2 /g was evidenced in 5% of samples, *Escherichia coli* was not isolated from them. The findings of this study suggest the urgent need for implementing a quality control system for soybean sausages, before national health authorities consider to support nutritional campaigns that promote their consumption.

Key words: Soybean, sausages, microbiological quality, nutritional quality, microbiological quality, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*.

representa una alternativa efectiva para reducir los niveles elevados de colesterol LDL en niños y adultos hipercolesterolémicos (1,2). Además por su importante contenido de isoflavonas se ha propuesto que la soya contribuye a prevenir el desarrollo de algunos tipos de cáncer (1,3).

La nueva tecnología ha hecho posible la disponibilidad de una gran variedad de alimentos de soya en el mercado. Los alimentos de segunda generación tales como la harina de soya y las leches de frijol de soya entero, y los alimentos de tercera generación como los productos de soya texturizada o estructurada hacen posible que los consumidores aumenten

fácilmente su ingestión dietética de proteína de soya. Además los productos de cuarta generación como los embutidos, favorecen en forma importante la incorporación de la proteína de soya al sustituir algunos alimentos de origen animal que tradicionalmente forman parte del patrón alimentario. Desafortunadamente en Costa Rica se carece de programas de educación nutricional bien estructurados que fomenten el consumo de los alimentos de soya; así como de programas nacionales que efectúen la inspección fisicoquímica y sanitaria de estos alimentos.

La declaración de América Latina para enfrentar el desafío nutricional (4) establece que los gobiernos y el sector privado, en especial las asociaciones de consumidores e industrias de alimentos, deben promover y fomentar la divulgación de información, sobre la calidad e inocuidad de los alimentos. Esto sugiere la implementación de sistemas de vigilancia y control permanente sobre los procesos que van desde la producción de alimentos hasta la entrega de estos al consumidor. Sin embargo debido a las limitaciones económicas que enfrenta el país como consecuencia de la crisis socioeconómica, es poco factible establecer esos sistemas, así como asegurar la efectiva aplicación de la legislación vinculada con la calidad e inocuidad de los alimentos.

Ante esta situación se pretende analizar las características nutricionales y microbiológicas de los embutidos de soya disponibles en el mercado costarricense, con el fin de brindar información que sirva de insumo para la toma de decisiones al momento de estudiar la pertinencia de promover el consumo de estos alimentos como estrategia de prevención de enfermedades crónicas no transmisibles.

MATERIAL Y METODOS

Muestras

En total se evaluaron 80 muestras de embutidos de soya, 40 muestras de mortadela y 40 de salchichas. Las muestras fueron adquiridas en un periodo de 4 meses con el fin de asegurar el análisis de diferentes lotes de los productos. En total se evaluaron 8 lotes de cada producto. Los sitios de muestreo fueron seleccionados aleatoriamente entre el total supermercados que distribuyen los productos bajo estudio.

Cada muestra, un envase sellado del producto de interés, se mantuvo a 5 °C desde el momento de la adquisición hasta su traslado al laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

Análisis nutricional

Para la determinación de los componentes nutritivos de los embutidos bajo estudio, se conformaron 16 grupos de 5 muestras cada uno. Las muestras de cada grupo pertenecían al mismo lote. Cada grupo fue licuado y mantenido a 5°C (menos de 3 días) hasta el momento de procesarlos, en el Centro de Referencia de Micronutrientes del Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (Inciensa).

La determinación de proteína se efectuó por el método de la AOAC No. 24038: Digestión en Bloque (Kjeldahl). El contenido de grasa total se determinó siguiendo el método de extracción con éter de petróleo (AOAC No. 24.005) y la especiación de ácidos grasos por cromatografía de gases, de acuerdo al método 28.060 de la AOAC. Así mismo, por medio de la cromatografía de gases se realizó la determinación de colesterol, según sugiere la AOAC en el método 28.110. (5).

El índice de aterogenicidad (IA) de cada producto se determinó de acuerdo a la fórmula definida por Ulbricht y Souhgate (6). El IA se define como la razón del contenido de los ácidos grasos hipercolesterolémicos y la de los ácidos grasos protectores:

$$IA = \frac{C_{12:0} + 4 C_{14:0} + C_{16:0}}{\sum \text{ácidos grasos monoinsaturados} + \text{ácidos grasos poliinsaturados}}$$

Para obtener el aporte de ácidos grasos por cada 25 gramos de proteína de soya suministrada por los embutidos bajo estudio, se determinó en primera instancia la cantidad máxima de grasa recomendada para una dieta de 2000 o 2500 Kcal. Para esto se utilizó la recomendación brindada por la Asociación Americana del Corazón (AAC) (7) que establece que el consumo de energía derivada de grasa por día no debe exceder el 30%. A partir del total de gramos determinado se calculó el aporte máximo de ácidos grasos saturados que deberían consumirse diariamente, así como el aporte mínimo de ácidos grasos poliinsaturados. Este cálculo se efectuó utilizando la recomendación dada por la AAC: hasta un 8%-10% de la energía proveniente de los ácidos grasos saturados y hasta un 10% de la energía derivada de ácidos grasos poliinsaturados. Posteriormente los valores resultantes se dividieron entre 9 para obtener los gramos de los diferentes ácidos grasos. Los valores obtenidos se compararon con el aporte de los ácidos grasos correspondientes, derivados de la cantidad de embutido necesaria para alcanzar los 25 gramos de proteína de soya.

Análisis bacteriológico

De cada escandallo se tomó 25 gramos que fueron suspendidos en 225 mL de agua peptonada estéril al 0.1% y homogeneizados en Stomacher durante 1-2 min. Posteriormente se prepararon diluciones decimales (10^{-1} - 10^{-6}), para realizar el recuento de bacterias psicrótrofas y *Clostridium perfringens* así como para determinar el Número Más Probable (NMP) de coliformes totales y *Escherichia coli*. Para las diferentes determinaciones se siguió la metodología descrita por Vanderzant y Splittstoesser (8).

La evaluación de los resultados se efectuó por medio de la comparación con los límites establecidos por Vanderzant y Splittstoesser para productos de soya: Recuento total de psicrótrofos: 10^2 - 10^5 /g; coliformes totales: 10^2 - 10^3 /g; *E. coli*: <10 - 10^2 /g, *Clostridium perfringens*: 1 - 10^2 /g (8).

Considerando que los embutidos son elaborados por dos industrias, los análisis microbiológicos y químicos se efectua-

ron por separado, con el único objetivo de visualizar claramente lo que ocurre en el mercado nacional, pues la misma podría ser tergiversada al utilizar valores promedio. Para el análisis de los resultados los embutidos de cada industria se identificarán con la inicial mayúscula con que se ha denominado a cada una de ellas: mortadela A y salchicha A, mortadela B y salchicha B.

RESULTADOS

El aporte de nutrientes de cada embutido evaluado se presenta en la Tabla 1. En promedio el contenido de proteína en la mortadela fue de 17.5g /100g y el de grasa total 5.5g/

100g, sin evidenciarse variaciones importantes entre las dos industrias productoras del embutido. No obstante al comparar la especiación de los ácidos grasos de las mortadelas A y B se observan diferencias relevantes. La mortadela B se caracteriza por un contenido significativamente mayor de grasa saturada, principalmente ácido palmítico, con respecto a la mortadela A (51% y 19% del total de grasa respectivamente, $p=0.0000$). Así mismo presenta un contenido mayor de ácidos grasos monoinsaturados (36% y 19% del total de grasa respectivamente, $p=0.0000$). Por el contrario, la mortadela A presenta un contenido significativamente mayor de ácidos grasos poliinsaturados, especialmente ácido linoléico (61% y 13% del total de grasa respectivamente, $p=0.0000$).

TABLA 1
Perfil nutricional de embutidos de soya por 100 gramos de producto

| Nutriente | Mortadela | | p | Salchicha | | p | Promedio | |
|------------------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------|
| | A | B | | A | B | | Mortadela | Salchicha |
| Proteína (g) * | 17,5 ± 0,2 | 17,5 ± 0,9 | NS | 20,1 ± 0,2 | 20,3 ± 0,2 | NS | 17,5 ± 0,5 | 20,4 ± 0,2 |
| Grasa total (g)* | 5,7 ± 0,1 | 5,4 ± 0,1 | NS | 4,0 ± 0,2 | 7,0 ± 0,3 | NS | 5,5 ± 0,06 | 5,5 ± 0,3 |
| Total** | | | | | | | | |
| Saturada (g) | 19,0 ± 0,5 | 51,2 ± 2,0 | 0,0000 | 20,0 ± 0,5 | 52,3 ± 2,4 | 0,0000 | 35,1 ± 1,3 | 36,1 ± 1,6 |
| C12:0 (%)** | ND | 0,31 ± 0,01 | 0,0000 | ND | 0,26 ± 0,02 | 0,0000 | 0,16 ± 0,01 | 0,13 ± 0,01 |
| C14:0 (%)** | 0,13 ± 0,01 | 1,11 ± 0,09 | 0,0000 | 0,25 ± 0,01 | 1,06 ± 0,06 | 0,0000 | 0,62 ± 0,04 | 0,65 ± 0,06 |
| C16:0 (%)** | 14,9 ± 0,1 | 44,03 ± 0,9 | 0,0000 | 15,7 ± 0,01 | 45,3 ± 1,8 | 0,0000 | 29,5 ± 0,6 | 30,5 ± 0,9 |
| C18:0 (%)** | 4,01 ± 0,06 | 5,70 ± 0,03 | 0,0000 | 4,04 ± 0,07 | 5,68 ± 0,03 | 0,0000 | 4,85 ± 0,04 | 4,86 ± 0,03 |
| Total | | | | | | | | |
| Monoinsaturada** | 19,5 ± 0,03 | 36,2 ± 0,6 | 0,0000 | 20,8 ± 0,02 | 35,8 ± 0,6 | 0,0000 | 27,9 ± 0,32 | 28,3 ± 0,3 |
| C18:1 (%)** | 19,5 ± 0,03 | 36,2 ± 0,6 | 0,0000 | 20,8 ± 0,02 | 35,8 ± 0,6 | 0,0000 | 27,9 ± 0,32 | 28,3 ± 0,3 |
| Total | | | | | | | | |
| Poliinsaturada** | 61,5 ± 0,01 | 12,6 ± 0,2 | 0,0000 | 59,2 ± 1,02 | 11,9 ± 1,01 | 0,0000 | 37,0 ± 0,01 | 35,6 ± 0,52 |
| C18:2 (%)** | 54,5 ± 0,1 | ND | 0,0000 | 52,7 ± 0,02 | 11,9 ± 1 | 0,0000 | 27,3 ± 0,1 | 32,3 ± 0,5 |
| C18:3 (%)** | 7,01 ± 0,01 | 12,6 ± 0,2 | 0,0000 | 6,45 ± 0,01 | ND | 0,0000 | 9,80 ± 0,01 | 3,22 ± 0,01 |
| Colesterol | ND | ND | | ND | ND | | ND | ND |
| IA | 0,18 | 0,93 | 0,0000 | 0,20 | 0,98 | 0,0000 | 0,55 | 0,59 |

A: industria alimentaria A, B: industria alimentaria B, ND: No Detectado, IA: Índice de Aterogenicidad, ND: no determinado

*por cada 100 gramos de producto, **por cada 100 gramos de grasa

En promedio el índice de aterogenicidad (IA) para la mortadela fue 0.55, no obstante la mortadela B presenta un IA similar (0.93) al reportado para la carne de res y mayor que el de la yema de huevo (0.66). El IA de la mortadela A fue tan bajo (0.12) como el evidenciado en productos como el queso cottage (0.13) y la carne de pollo (0.10) (9).

El contenido promedio de proteína en la salchicha de soya fue de 20g/100g y el de grasa total fue 5.5g/100. La salchicha B presentó un contenido mayor ($p=0.0000$) de grasa total que la salchicha A. El análisis de la especiación de los ácidos grasos de estos embutidos reflejó un patrón similar al evidenciado en el caso de la mortadela. El IA de la salchicha B fue 0.98 mientras que el IA de la salchicha A fue tan solo 0.20. En promedio la salchicha de soya muestra un IA de 0.59.

En general los embutidos de la industria B presentan un potencial aterogénico significativamente mayor que los de la industria A. Esto podría ser consecuencia de la adición de ácido palmítico, derivado del aceite de palma africana, tal y como se infiere después del análisis de la especiación de los ácidos grasos. Esto puede obedecer a una estrategia utilizada por la industria B para disminuir los costos de producción y brindar al producto una textura y sabor similar a lo que se puede lograr con la adición de otros aceites.

En ningún tipo de embutido se evidenció la presencia de colesterol.

Con base en el contenido de proteína de ambos embutidos se puede estimar que para alcanzar la recomendación de 25 gramos de proteína de soya por día se requiere consumir al

menos 143 gramos de mortadela (en promedio 7 rodajas) y 125 gramos de salchicha (en promedio 3 unidades). No obstante el consumo de esta cantidad de embutido puede afectar significativamente el consumo de ácidos grasos saturados y ácidos grasos poliinsaturados.

Por cada 25 gramos de proteína de soya derivada del consumo de embutidos B se logra satisfacer en promedio, el 80% del total de ácidos grasos saturados que deben ingerirse diariamente, 5 g o 6 g, si se mantienen dietas de 2000 o 2500 Kcal respectivamente (Tabla 2). En tanto los embutidos de la industria A tienen un aporte cercano al 20% del consumo recomendado de grasa saturada. Un patrón diferente se observa al evaluar la contribución al total de ácidos grasos poliinsaturados recomendado por día. En general, al consumir 25 gramos de proteína de soya por medio de la ingesta de

embutidos A, se logra satisfacer simultáneamente el 50% del total de ácidos grasos poliinsaturados que deben ingerirse diariamente (7 g por cada 2000 Kcal y 8 g por cada 2500 Kcal). Los embutidos B aportan solamente el 14% de esa recomendación.

El perfil microbiológico de los embutidos de soya analizados se presenta en la Tabla 3. En ninguna de las unidades de muestra se evidenció *Escherichia coli* y en el 5% *Clostridium perfringens*. No obstante este microorganismo se evidenció en niveles superiores al rango recomendado por Vanderzant y Splittstoesser (10^0 - 10^2 /g) (9). En promedio el 20% de las muestras analizadas mostraron niveles de coliformes totales $>10^4$ /g, lo cual fue más frecuente en las muestras de salchicha. El 60% de las muestras de este embutido y el 10% de las de mortadela mostraron niveles de psicótrofos $>10^6$ /g.

TABLA 2
Contribución porcentual de los embutidos de soya al total de grasa saturada y poliinsaturada recomendada por día para dietas de 2000 y 2500 kcal, según la cantidad del producto necesario para completar 25 gramos de proteína de soya

| Dieta | Mortadela (143g) | | Salchicha (125g) | | Promedio | |
|---|------------------|----|------------------|----|-----------|-----------|
| | A | B | A | B | Mortadela | Salchicha |
| 2000 Kcal | | | | | | |
| Ac grasos Saturados (5 g) ¹ | 30 | 78 | 20 | 92 | 54 | 56 |
| Ac grasos Poliinsaturados (7g) ² | 71 | 20 | 43 | 14 | 45 | 28 |
| 2500 kcal | | | | | | |
| Ac grasos Saturados (6g) ¹ | 25 | 65 | 17 | 77 | 45 | 47 |
| Ac grasos Poliinsaturados (8g) ² | 60 | 12 | 36 | 12 | 36 | 24 |

1. Se obtuvo del cálculo $(2000 \text{ ó } 2500 \times 0,30/\text{g}) \times 0,08/9$
2. Se obtuvo del cálculo $(2000 \text{ ó } 2500 \times 0,30/\text{g}) \times 10/9$

DISCUSION

Recientemente Erdman (10) señaló que el metaanálisis realizado por Anderson y colaboradores (11) debería proporcionar a los médicos y nutricionistas la motivación para recomendar el aumento del consumo de proteína de soya como parte de un enfoque dietético integrado para el control de la hipercolesterolemia. No obstante pareciera que tal recomendación requerirá de mayor reflexión, no por falta de evidencia sobre la efectividad de la proteína de soya, sino por la carencia de información sobre la calidad de los alimentos fuente de esta proteína.

Desde el punto de vista microbiológico, los embutidos de soya estudiados muestran una buena calidad higiénica y ausencia de contaminación fecal. No obstante, su vida útil puede ser menor a la esperada dados los recuentos de bacterias psicótrofas obtenidos. Por otro lado, como ocurre con la mayoría de enfermedades de origen alimentario, la presencia

de *C. perfringens* en algunas de las muestras estudiadas, representa un riesgo potencial importante. El tiempo de generación de este esporulado es bastante corto (8-10 minutos), por lo que un almacenamiento a temperaturas cercanas a los 45°C, puede generar grandes cantidades de formas vegetativas en el alimento, hasta niveles tan elevados como la dosis infectante (12, 13). Esto sugiere que el almacenamiento de estos embutidos a temperatura ambiente representa un riesgo potencial para la salud pública.

Por otro lado, la disparidad del contenido de ácidos grasos en los embutidos de soya analizados representa una alerta para los profesionales de salud que hayan asumido la recomendación de promover el consumo frecuente de proteína de soya. La satisfacción del consumo de la cantidad recomendada de esta proteína puede, dependiendo del origen del embutido, incrementar significativamente el potencial aterogénico de la dieta. Aunque existe controversia sobre el nivel de aterogenicidad del ácido palmítico, el elevado aporte de éste

TABLA 3
Distribución porcentual de las muestras de embutidos de soya según los niveles de los diferentes indicadores sanitarios evaluados

| Indicadores sanitarios | Morzádela | | Promedio (n=80) | Salchicha | | Promedio (n=80) |
|-----------------------------------|-----------|----------|-----------------|-----------|----------|-----------------|
| | A (n=40) | B (n=40) | | A (n=40) | B (N=40) | |
| Psicrótrofos | | | | | | |
| <10 ² | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2.5 |
| 10 ² -10 ⁵ | 80 | 100 | 90 | 0 | 75 | 37.5 |
| >10 ⁶ | 20 | 0 | 10 | 100 | 20 | 60 |
| Coliformes Totales | | | | | | |
| <10 ² | 0 | 0 | 0 | 55 | 45 | 50.0 |
| 10 ² -10 ³ | 95 | 100 | 97,5 | 40 | 25 | 37.5 |
| >10 ⁴ | 5 | 0 | 2,5 | 5 | 30 | 17,5 |
| Escherichia coli | | | | | | |
| <3 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 3 -10 ² | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| >10 ³ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>C. perfringens.</i> | | | | | | |
| Presencia | negativa | negativa | Negativa | negativa | positiva | positiva |
| <10 ¹ -10 ² | — | — | — | — | 10 | 5 |
| >10 ³ | — | — | — | — | 0 | 0 |

A: industria A

B: industria B

debe considerarse pues la Asociación Americana del Corazón ha indicado que la restricción del consumo de este ácido graso ha generado, en estudios dietéticos bien controlados, la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol LDL (7).

El consumo de proteína de soya ha sido propuesto para la prevención de enfermedades cardiovasculares dentro de un contexto caracterizado por un bajo consumo de grasa total y grasa saturada. Por lo tanto, el elevado consumo de esta proteína no es suficiente para compensar el potencial aterogénico que los ácidos grasos saturados presentes le brindan a la dieta.

Los resultados de este análisis señalan la urgente necesidad de implementar un sistema de control de calidad de los productos de soya disponibles en el mercado, antes que las autoridades de salud consideren respaldar las campañas nutricionales que promuevan el consumo de los mismos. Este sistema deberá ser permanente, de manera que se le garantice a los nutricionistas y a otros profesionales de salud, la calidad nutricional de estos productos a fin de poder utilizar la proteína de soya derivada de los embutidos, como estrategia segura, de bajo costo y científicamente demostrada para reducir el riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles.

AGRADECIMIENTO

Se agradece el apoyo brindado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, proyecto 430-

98-242, así como a Laura Villalobos y los estudiantes Ana Cristina Jiménez y Edgar Martínez.

REFERENCIAS

- Messena M, Erdeman JW, eds. First international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. *J Nutr* 1995; 125 (suppl): 567s-808s.
- Laurin D, Jacques H, Moorjani S, et al. Effects of a soy-protein beverage on plasma lipoprotein in children with familial hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 98-103.
- Messina M, Barnes S. The role of soy products in reducing of cancer. *JNCI* 1991; 83: 541-46.
- OMS/FAO. Declaración de América Latina para enfrentar el desafío nutricional y plan de acción regional. Santiago, Chile: FAO;1992.
- Sidney W, Ed. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 14th Ed. Arlington, Virginia: AOAC, Inc; 1984.
- Ulbrich TL, Southgate DA. Coronary Heart Disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991; 338: 985-92.
- Krauss RM, Deckelbaum R, Ernest N, et al. Dietary guidelines for healthy American adults. *Circulation* 1996; 94: 1795-1800.
- Vanderzant M, Splittstoesser R. Compendium of methods for the microbiological examination for foods. 3th Ed. Washington: APHA, 1992.
- Acuña M. Estudio del potencial aterogénico y el contenido de colesterol en productos grasos de consumo popular en Costa Rica. Tesis. Escuela de Química, Universidad de Costa Rica. 1995.

10. Erdman JW. Control of serum lipids with soy protein. *N Eng J Med* 1995; 333: 313-15.
11. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Eng J Med* 1995; 333, 276-82.
12. Meer R. Human disease associated with *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Rev Environ Cont Toxicol* 1997; 150: 75-94.
13. Johnson E. *Clostridium perfringens*: Food poisoning. En: Cliver O. Ed. *Foodborne diseases*. San Diego, CA: Academy Press, Inc, 1990; 203-241.

Recibido: 01-12-1999

Aceptado: 22-05-2000

Utilización de cotiledones de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) en la elaboración de barras de cereales

Ana María Estévez A., Berta Escobar A. y Viviana Ugarte A.

Dpto. de Agroindustria y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. U.de Chile, Santiago, Chile

RESUMEN. Las barras de cereales con maní y nuez han demostrado ser alimentos tipo snack de alto aporte calórico dado por su contenido de proteínas, lípidos e hidratos de carbono y de buenas características organolépticas. Los cotiledones de algarrobo tienen un alto contenido de proteína cuya calidad biológica aumenta con un tratamiento térmico moderado como tostado, por microondas o calor húmedo a presión. Los objetivos de esta investigación fueron estudiar la posibilidad de usar cotiledón de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) en barras de cereales con dos niveles de maní o nuez y determinar el efecto de dos tratamientos térmicos aplicados al cotiledón sobre las dos niveles de maní o nuez (15% y 18%); incorporación de cotiledón de algarrobo (0% y 6%) y la aplicación de dos tratamientos térmicos al cotiledón (microondas y tostado en placa calefactora). A las barras de cereales elaboradas se les realizaron análisis físicos, químicos y sensoriales: humedad, actividad de agua, análisis proximal, calidad y aceptabilidad. El contenido de humedad de las barras con maní fluctuó entre 10,4% y 10,9% y para las que tenían nuez, entre 10,5% y 12,3%. El contenido de proteínas fue mayor en todos los productos que contenían cotiledón de algarrobo, siendo los de las barras con maní superiores a los de las barras con nuez. El tratamiento térmico aplicado al cotiledón de algarrobo no tuvo efecto sobre la composición química. Las barras con cotiledón de algarrobo tratado por microondas presentaron una mayor aceptabilidad

Palabras clave: Tostado, tratamiento por microondas, proteínas, barras de cereales.

SUMMARY. Use of mezquite cotyledon (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) in the manufacturing of cereal bars. Cereal bars with peanut and walnut has shown to be snack foods of good organoleptic characteristics and high caloric value, due to their content of protein, lipids and carbohydrates. Cotyledons of mezquite seeds have a high protein content which biological quality improves with thermal processing like toasting, microwave or moist heat under pressure. The purposes of this research were to study the use of mezquite cotyledon (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) in cereal bars with two different levels of peanut or walnut; and to determine the effect of two thermal treatment applied on the cotyledon upon the bar characteristics. Twelve different kind of bars were developed through the combination of two levels of peanut or walnut (15% and 18%); the use of mezquite cotyledon (0% and 6%); and the application of two thermal processing to the cotyledon (microwave and toasting). Cereal bars were analysed for chemical, physical and sensory characteristics: moisture, water activity, proximate chemical composition, sensory quality and acceptability. Moisture content of bars with peanut ranged between 10.4% and 10.9%; and for those with walnut, between 10.5% and 12.3%. Protein content was higher in the bars with mezquite cotyledon, being higher those with peanut. Thermal processing did not have any effect on the chemical composition. Bars with mezquite cotyledon treated by microwave showed a higher acceptability.

Key words: Toasting, microwave treatment, protein, cereal bars.

INTRODUCCION

Las vainas de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) se han utilizado como alimento por el hombre primitivo de las zonas semiáridas del continente americano. Al interior de las vainas se encuentran las semillas, de 6 a 7 mm de longitud, alojadas en una pulpa densa y dulce de color amarillo, constituyendo entre un 21,6% y 29,1% (1,2). En la semilla se encuentra la testa en aproximadamente 13,0% a 19,4%; mucílago entre 28,0% y 30,9%; y los cotiledones en 38,8% y 43,0% (2,3). Los cotiledones de algarrobo tienen un alto contenido de proteína, sobre 61%, lo que los hace un potencial suplemento en la elaboración de productos alimenticios; su proteína es deficiente en los aminoácidos metionina, cistina, isoleucina y treonina (4), lo que se podría compensar con la utilización conjunta con otras semillas. Según Vásquez et al

(5), un tratamiento térmico moderado como tostado, por microondas o calor húmedo a presión, aumenta la calidad biológica de la proteína de algarrobo (NPR-rel de 61,1%); también disminuye significativamente el contenido de lectinas y factores antitripticos asegurando un muy bajo nivel de riesgo toxicológico (4,6).

En la actualidad el uso de cotiledón de algarrobo en la alimentación humana es poco conocido, aunque las semillas del género *Prosopis* fueron utilizadas ampliamente como fuente alimenticia en Chile, Perú, Argentina y México antes de la colonia (4,7). Una posibilidad para aumentar su uso sería su introducción en barras de cereales.

Una barra de cereales tipo contiene una base de avena triturada, miel, aceite de soya, trigo entero, cebada triturada, triticales triturado, coco seco sin dulzor, láminas de arroz entero, suero de leche deslactosado y saborizante de malta;

además pueden utilizarse cereales expandidos, diversas frutas y nueces y como agentes ligantes, edulcorantes naturales o materias grasas (8- 11).

Las barras de cereales con maní y nuez han demostrado ser alimentos tipo snack de alto aporte calórico dado por su contenido de proteínas, lípidos e hidratos de carbono y de buenas características organolépticas. En ellas, la nuez proporciona una importante cantidad de calorías y compuestos nutritivos tales como: lípidos, fibra cruda y potasio. Por otra parte, su aporte de proteínas, minerales, vitaminas B1 y B2 es moderado y similar al del trigo. El maní se destaca por su alto contenido de proteínas y lípidos (12-14).

Se ha estudiado el uso de otros granos en la elaboración de barras de cereales que reemplacen a la avena; entre ellos, está la incorporación de amaranto tostado o dilatado lo que en las barras con maní disminuye el contenido proteico y aumenta el contenido de lípidos; en el caso de las barras con nuez, también se observa una disminución del contenido de proteínas, pero el contenido de lípidos no sufre cambios. Es importante señalar que la calidad sensorial de las barras, de maní o de nuez, con amaranto tostado es superior a las de las barras sin él. Junto a ello, la calidad biológica de la proteína de estas barras (PER-rel de 85,7%) no presenta diferencias respecto de las sin amaranto, las que a su vez tuvieron un PER relativo a la caseína entre 86,3 y 87,6% (13,14).

Los objetivos de esta investigación fueron estudiar la factibilidad tecnológica de usar cotiledón de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) en barras de cereales con dos niveles de maní o nuez y determinar el efecto de dos tratamientos térmicos aplicados al cotiledón sobre las características de las barras.

MATERIALES Y METODOS

Barras de cereales

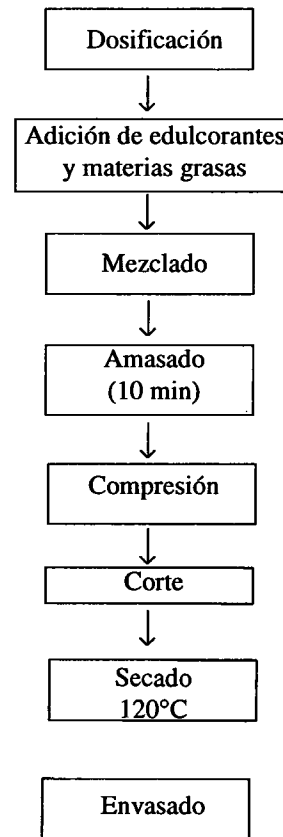
Se elaboraron barras de cereales, siguiendo la línea de flujo diseñada por Escobar et al (Figura 1) (12); se desarrollaron doce diferentes formulaciones en las que se estudiaron dos niveles de maní o nuez (15 y 18%); incorporación de cotiledón de algarrobo (0 y 6%) y la aplicación de dos tratamientos térmicos al cotiledón (microondas y tostado en placa calefactora).

El cotiledón de algarrobo se tostó en placa calefactora durante 10 min. a 140 °C y el cotiledón tratado en microondas se procesó por 3 min. a potencia máxima.

Las barras se prepararon utilizando: avena triturada tostada (15%, 18% y 21% dependiendo del nivel de cotiledón o de nuez/maní usado); germen de trigo (18%); hojuela extruída de trigo con cobertura de caramelo (6%); maní o nuez (15% o 18%); cotiledón de algarrobo (0% o 6%). Para aglutinar los ingredientes secos se usó una mezcla de edulcorantes naturales (miel de abejas, miel de palma y jarabe de azúcar rubia), agua y materias grasas (aceite de girasol, lecitina y glicerina).

FIGURA 1

Línea de flujos para la elaboración de barras de cereales



Los ingredientes se mezclaron hasta obtener una masa ligada, que se comprimió mecánicamente, se cortó en unidades de 8 cm de largo, 3,5 cm de ancho y 1 cm de espesor y cuyo peso aproximado fue 28 g. Las barras se secaron a 120°C por 30 min para las barras con maní y por 45 min para las que tenían nuez (12,13).

Caracterización

A las barras de cereales elaboradas se les realizaron análisis físicos, químicos y sensoriales.

- Humedad (sección: 14.004), cenizas (sección: 14.006), proteínas (sección: 14.067), extracto etéreo (sección: 14.018) y fibra cruda (sección: 7.070), según A.O.A.C. (15).
- Actividad de Agua (Aw) en determinador Lufft, modelo 5803.
- Aporte calórico, utilizando los coeficientes de Atwater (16).
- Calidad sensorial por el método de Scoring (17), utilizando 12 jueces entrenados.
- Aceptabilidad sensorial por el método de la Escala Hedónica de nueve puntos (17), utilizando 12 jueces entrenados y 12 jueces no entrenados.

Los tratamientos se analizaron separadamente para maní y nuez, mediante un diseño aleatorizado con estructura factorial 3x2 (sin cotiledón, cotiledón tostado, cotiledón tratado por microondas; y nivel de nuez o maní) y cuatro repeticiones. Para los análisis sensoriales se utilizó un diseño en bloques al azar. Se aplicó análisis de varianza, al 95% de probabilidad y prueba de Duncan cuando hubo diferencias significativas.

RESULTADOS Y DISCUSION

El contenido de humedad de las barras con maní fluctuó entre 10,4% y 10,9%; y para las que tenían nuez, entre 10,5% y 12,3% no existiendo diferencias significativas entre ellas. En general, se considera que bajo un 12,5% de humedad en los productos de cereales, se puede tener un almacenamiento estable sin cambios importantes en la calidad (18). Estos contenidos son levemente mayores que los de las barras elaboradas con 18% de nuez (7,7%) o maní (9,8%) y amaranto tostado (13,14).

La actividad de agua (A_w) aumentó al incorporar cotiledón de algarrobo a las barras, independientemente del tratamiento térmico aplicado (de 0,615 a 0,650 en las barras con maní; y de 0,605 a 0,648 en las barras con nuez); esto se puede deber al mayor aporte de proteínas que éste proporciona a las barras, las que aumentarían la retención de agua disponible. Las barras elaboradas con maní y nuez están bajo los límites mínimos para el crecimiento de hongos micotóxicos y bacterias patógenas (19).

El aporte calórico de las barras es normal para este tipo de productos, fluctuando para las barras con maní entre 434 Kcal/100g para las con 15% y 445 Kcal/100g para las con 18%. En el caso de las barras con nuez, es algo superior lo que es consecuencia de su mayor contenido de lípidos (443 Kcal/100g para las con 15% y 460 Kcal/100g para las con 18%).

En las Tablas 1 y 2 se presenta la composición química proximal de las barras de cereal con maní o nuez. Se puede apreciar que el contenido de proteínas es mayor en todos los productos que contienen cotiledón de algarrobo, siendo los de las barras con maní superiores a los de las barras con nuez. Como podía esperarse, la incorporación de un mayor nivel de nuez o maní aumenta el contenido de lípidos en el producto terminado; sin embargo es importante señalar que la composición de ácidos grasos de estos productos se caracteriza por un alto porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, (42,4% y 35,0% para maní y 17,3% y 71,3% para nuez), los cuales tienen un efecto positivo en la prevención de enfermedades cardiovasculares y en el buen funcionamiento del cerebro y los ojos (20,21).

El contenido de fibra cruda de la nuez es muy alto, de manera que la incorporación de cotiledón de algarrobo no tiene efecto sobre la cantidad de fibra cruda de la barra; en cambio, en el caso de las barras con maní, cuyo contenido de fibra cruda es mucho menor, se observa un aumento significa-

tivo de esta, al incorporar cotiledón de algarrobo. En las barras con maní, inicialmente, el contenido de cenizas es más alto que el de las barras con nuez y disminuye al agregar cotiledón en la formulación. El tratamiento térmico aplicado al cotiledón de algarrobo no tuvo efecto sobre la composición química de las barras.

TABLA 1
Composición química de barra de cereales y maní con cotiledón de algarrobo (g/100g b.m.s.)

| | SC-M15 | SC-M18 | T-M15 | T-M18 | O-M15 | O-M18 |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Proteínas | 13,9aA | 13,9aA | 16,7bA | 16,9bA | 16,5bA | 16,5bA |
| Lípidos | 18,0aA | 20,0aB | 17,9aA | 18,5aB | 18,6aA | 20,2aB |
| Fibra cruda | 1,1aA | 1,0aA | 1,4bA | 1,5bA | 1,5bA | 1,5bA |
| Cenizas | 2,3aA | 2,2aA | 1,5bA | 1,5bA | 1,6bA | 1,3bA |
| ENN* | 64,7aA | 62,9aA | 62,5bA | 61,6bA | 61,8bA | 60,5bA |

SC=sin cotiledón; M15=15% de maní, M18=18% de maní; T=cotiledón tostado en placa; O=cotiledón tratado en microondas.

*Extracto no Nitrogenado: por diferencia

Letras minúsculas diferentes comparan dentro de un mismo nivel de maní. Letras mayúsculas diferentes comparan entre niveles de maní.

TABLA 2
Composición química de barra de cereales y nuez con cotiledón de algarrobo (g/100g b.m.s.)

| | SC-N15 | SC-N18 | T-N15 | T-N18 | O-N15 | O-N18 |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Proteínas | 10,1aA | 11,2aA | 13,6bA | 14,1bA | 13,8bA | 14,0bA |
| Lípidos | 24,6aA | 27,0aB | 24,0aA | 26,2aB | 23,0aA | 26,2aB |
| Fibra cruda | 4,8aA | 5,4aA | 5,3aA | 6,0aA | 4,7aA | 6,0aA |
| Cenizas | 1,6aA | 1,7aA | 1,8aA | 1,8aA | 1,9aA | 1,9aA |
| ENN* | 58,9aA | 54,7aB | 55,3aA | 51,9aB | 56,6aA | 51,9aB |

SC=sin cotiledón; N15=15% de nuez, N18=18% de nuez; T=cotiledón tostado en placa; O=cotiledón tratado en microondas.

*Extracto no Nitrogenado: por diferencia

Letras minúsculas diferentes comparan dentro de un mismo nivel de nuez. Letras mayúsculas diferentes comparan entre niveles de nuez.

Con relación a la calidad y la aceptabilidad sensorial de las barras, se puede observar que en las elaboradas con maní (Tabla 3), la incorporación de cotiledón de algarrobo solamente afecta el color, siendo menor en el caso del tratamiento térmico de microondas. Los parámetros de apariencia, dulzor, sabor, textura y astringencia no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. Las barras con cotiledón de algarrobo tratado por microondas presentaron una mayor aceptabilidad equivalente a me gusta algo/me gusta medianamente, lo que es muy semejante a los valores obtenidos por Escobar et al (14) en barras de cereales y maní con amaranto tostado.

TABLA 3
Calidad y aceptabilidad sensorial de barra de cereales y maní con cotiledón de algarrobo (puntos)

| | SC-M15 | SC-M18 | T-M15 | T-M18 | O-M15 | O-M18 |
|---------------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|
| Apariencia | 7,0aA | 6,6aA | 7,0aA | 6,6aA | 6,7aA | 6,8aA |
| Color | 5,1aA | 5,3aA | 5,3aA | 5,0aA | 4,7bA | 4,6bA |
| Dulzor | 4,4aA | 4,8aA | 4,8aA | 4,9aA | 5,0aA | 5,1aA |
| Sabor | 5,3aA | 5,1aA | 5,5aA | 5,5aA | 5,1aA | 5,2aA |
| Textura | 5,4aA | 5,1aA | 5,4aA | 5,5aA | 6,1aA | 5,9aA |
| Astringencia | 1,9aA | 2,0aA | 1,9aA | 2,0aA | 2,1aA | 2,3aA |
| Aceptabilidad | 6,1aA | 5,4aA | 6,1aA | 5,7aA | 6,4bA | 6,8bA |

SC=sin cotiledón; M15=15% de maní, M18=18% de maní; T=cotiledón tostado en placa; O=cotiledón tratado en microondas
Letras minúsculas diferentes comparan dentro de un mismo nivel de maní.
Letras mayúsculas diferentes comparan entre niveles de maní.

En las barras con nuez (Tabla 4) solo se presentaron diferencias significativas en el parámetro de dulzor, siendo mayor el de las que contenían 18% de nuez. La aceptabilidad de las barras fue muy similar en todos los tratamientos y estuvo en los mismos rangos que los encontrados por Estévez et al (13).

TABLA 4
Calidad y aceptabilidad sensorial de barra de cereales y nuez con cotiledón de algarrobo (puntos)

| | SC-N15 | SC-N18 | T-N15 | T-N18 | O-N15 | O-N18 |
|---------------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|
| Apariencia | 6,5aA | 6,3aA | 7,1aA | 6,0aA | 7,1aA | 6,4aA |
| Color | 5,8aA | 6,0aA | 5,3aA | 6,2aA | 5,6aA | 5,6aA |
| Dulzor | 4,1aA | 5,0aB | 4,7aA | 5,0aB | 3,9aA | 4,3aB |
| Sabor | 5,0aA | 4,6aA | 5,0aA | 4,9aA | 4,3aA | 4,9aA |
| Textura | 6,2aA | 5,5aA | 5,8aA | 5,3aA | 4,9aA | 5,8aB |
| Astringencia | 1,6aA | 1,6aA | 1,6aA | 1,7aA | 1,5aA | 1,5aA |
| Aceptabilidad | 6,3aA | 6,1aA | 6,1aA | 6,1aA | 6,0aA | 6,2aA |

SC=sin cotiledón; N15=15% de nuez, N18=18% de nuez; T=cotiledón tostado en placa; O=cotiledón tratado en microondas
Letras minúsculas diferentes comparan dentro de un mismo nivel de nuez.
Letras mayúsculas diferentes comparan entre niveles de nuez.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que la incorporación de cotiledón de algarrobo en la elaboración de barras de cereales es posible, significando un aumento en el contenido de proteínas, independientemente del tratamiento térmico a que se someta. El tratamiento térmico aplicado a los cotiledones no tuvo efecto sobre la composición química de las barras; sin embargo, el tratamiento por microondas provocó una mayor aceptabilidad sensorial de las barras con maní o nuez.

Esta investigación fue financiada por el Proyecto DTI A 3031

REFERENCIAS

- Habit M, Contreras D y Gonzalez R. *Prosopis tamarugo*: arbusto forrajero para zonas áridas. FAO, Roma 1981;p116.
- Escobar B, Romeo M, Baeza G, Soto X, Vásquez M. Caracterización y composición química del fruto de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz). Rev Chi. Nutr 1987;15(2):113-116.
- FAO. *Prosopis chilensis*. In: Especies arbóreas y arbustivas para las zonas áridas y semiáridas de América Latina: 215-225. Serie: Zonas áridas y semiáridas N° 12. Oficina regional de la FAO para América Latina y El Caribe, 1997.
- Felker P and Bandwski R. Use and potential use of leguminous trees for minimal energy input agriculture. *Economyc Botany* 1979;33(2):172-184.
- Vásquez M, Zacarias I, Escobar B, Yáñez E. Calidad biológica de la proteína de los cotiledones de algarrobo tratados por calor seco y calor húmedo. *Alimentos* 1991;16(1): 5-8.
- Del Valle FR, Marco E, Becker R and Sounders RM. Preparation of a Mesquite (*Prosopis* spp) pod enhanced protein reduced fiber fraction. *J Food Sci* 1986;51(5):1215-1217.
- Figueiredo A. Mesquite: History, composition, and food uses. *Food Tech* 1990;(11):118-128.
- Tettweiler P. *Snack Foods Worldwide*. *Food Tech*:45(February): 1991;58-62.
- Anónimo. Los entremeses «snack». Su creciente popularidad en América Latina. *Alimentos Procesados* 1986;5(4):63-67.
- Komen G. Trends and future of cereal bars (Resumen) *FSTA*.19(5):5M176.1987.
- Anónimo. Functional granola ingredients for baked goods, snack, confections (Resumen) *FSTA*. 12(7):7M 876.1980.
- Escobar B, Estévez AM, Vásquez M, Castillo E y Araya E. Aporte calórico-proteico de barras tipo snack elaboradas con cereales y maní. *Alimentos* 1992;17(3):5-10.
- Estévez AM, Escobar B, Vásquez M, Castillo E, Araya E y Zacarias I. Cereal and nut bars, nutritional quality and storage stability. *Plant Foods Human Nutr*. 1995;47:309-317.
- Escobar B, Estévez AM, Tepper A, Aguayo M. Características nutricionales de barras de cereales y maní. *Arch Latinoam Nutr*. 1998;48(2):156-159.
- Association of Official Agricultural Chemist Official Methods of Analysis of the AOAC 13th ed. Washington DC. The Association 1980.
- Tagle MA. *Nutrición 2daed*. Editorial Andrés Bello, 1980;p231.
- Watts BM, Ylimaki GL, Jeffery LE, y Elias LG. Basic sensory methods for foods evaluation. International Development Research Centre. IDRC. Ottawa, Canadá:1989;66-90.
- Schmidt-Hebbel H. Avances en ciencia y tecnología de los alimentos. Universidad de Chile, Fac. Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago, Chile. 1981;p365.
- Beuchat LR. Microbial stability as affected by water activity. *Cer Foods World* 1981;26(7):345-349.
- Masson L y Mella MA. Materias grasas de consumo habitual y potencial en Chile. Composición en ácidos grasos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas: Universidad de Chile, Santiago, 1985;p31.
- Payne T. California Walnut and light foods. *Cereal Foods Wolrd* 1985;30(3):215-218.

Recibido: 09-02-1999

Aceptado:18-02-2000

Almacenamiento de barras de cereales elaboradas con cotiledones de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz)

Berta Escobar A., Ana María Estévez A. y M Alejandra Guiñez C.

Departamento de Agroindustria y Tecnología de Alimentos.
Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. U. de Chile. Santiago, Chile.

RESUMEN. El uso de nuez o maní en la elaboración de barras de cereales representa un posible riesgo de inestabilidad durante su almacenamiento debido al alto contenido de ácidos grasos insaturados de su aceite los que al oxidarse son una de las principales causas de deterioro. El desarrollo de nuevos productos alimenticios tipo snack implica el uso de envases que deben dar protección contra el daño provocado por la luz y reducción de la concentración de oxígeno en su interior. El objetivo de esta investigación fue evaluar los cambios físicos, químicos y sensoriales en el almacenamiento de barras de cereal con maní o nuez y cotiledón de algarrobo sometido a dos tratamientos térmicos, envasadas en celofán o polipropileno opaco. Se elaboraron 4 tipos de barras con 6% de cotiledón de algarrobo tratado por microondas o tostado en placa calefactora. y con 18% de maní o nuez. Las barras se almacenaron por 90 días a temperatura ambiente y cada 30 días se midió humedad, índice de peróxidos, actividad de agua, calidad y aceptabilidad sensorial. Los contenidos de peróxidos obtenidos (4,9-13,8 meq/kg de aceite) indican que la vida útil de las barras en todos los tratamientos estudiados fue de 90 días. Los materiales de envases utilizados permiten mantener las barras de cereales en buenas condiciones de humedad (7,4-11,2%), actividad de agua, (0,50-0,65) y aceptabilidad sensorial durante 3 meses.

Palabras clave: Cotiledón de algarrobo, celofán, polipropileno opaco, índice de peróxidos.

SUMMARY. Storage of cereal bars with mezquite cotiledon (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz). The use of walnut or peanut in the elaboration of cereal bars represents a possible risk of undesirable changes during their storage due to their high content of unsaturated fatty acids in the oil; oxidizing of the fatty acids is one of the main causes of deterioration. Development of new snack products implies the use of packages that should protect the food against the damage caused by light and reduce the oxygen concentration of in their interior. The objective of this investigation was to evaluate the physical, chemical and sensory changes in the storage of cereal bars with peanut or walnut and mezquite cotiledon subjected to two thermal treatments, packed in cellophane or milky polypropilene. Four types of bars were elaborated with 6% of mezquite cotiledon, treated by microwaves or toasted, and with 18% of peanut or walnut. The bars were stored for 90 days at room temperature; and each 30 days it was measured moisture content, peroxides index, water activity, sensory quality and acceptability. The peroxides values (4.9- 13.8 meq/ kg of oil) indicates that the shelf life of the bars in all the studied treatments was 90 days. The packaging materials used allows to maintain in good conditions, for 3 months, the cereals bars of moisture (7.4-11.2%), water activity (0.50-0.65) and sensory acceptability.

Key words: Mezquite cotiledon, cellophane, milky polypropilene, peroxide index.

INTRODUCCION

La oxidación de los lípidos es una de las principales causas de deterioro de los alimentos, dando lugar a la aparición de olores y sabores desagradables, disminuyendo la calidad nutritiva; además, algunos productos de oxidación son potencialmente tóxicos. Esta oxidación ocurre como reacción en cadena debido a que los radicales hidroperóxidos reaccionan con nuevos ácidos grasos generando una mayor cantidad de peróxidos llegando a un valor máximo en la curva; posteriormente los peróxidos se transforman en aldehídos, cetonas y ácidos grasos de cadena corta que son los responsables del aroma típico a rancio, lo que se manifiesta en un descenso de la curva de peróxidos (1,2). Un factor importante de considerar durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos a base de nueces y maní es la composición de los ácidos grasos del aceite, siendo los ácidos

grasos insaturados, como el oleico, el linoléico y el linolénico los mas susceptibles a la oxidación, los que en maní ascienden a 77,4% y en nuez a 88,6% (3,4).

Por otro lado, la estabilidad en almacenamiento de los alimentos, depende además de la humedad presente en un producto y de su actividad de agua ya que estas determinan frecuentemente reacciones de deterioro que modifican la calidad final de este (5,6).

Estévez et al (7) informaron que en almacenamiento acelerado (37°C) de barras de cereales y nuez, con humedad sobre 13% y actividad de agua cercana a 0,62, el desarrollo de peróxidos (alrededor de 17 meq/kg de aceite) al final del período determinó una disminución de la aceptabilidad sensorial. Una situación semejante se presentó en barras de cereales con maní, donde se obtuvieron valores de peróxido de 16,9 meq/kg de aceite, humedad de 7,7% y actividad de agua de

0,709 (8). Estudios anteriores indican que en productos derivados de cereales el desarrollo de peróxidos tiene una velocidad menor que en otros productos de mayor contenido lipídico, por lo cual el seguimiento de su aparición normalmente se hace por períodos de al menos tres meses con controles cada 30 días a temperatura ambiente o por 15 días con controles cada 5 días en condiciones de almacenamiento acelerado (9).

Junto con la creación de nuevos productos alimenticios surge la necesidad de utilizar nuevas barreras contra el medio, que protejan a los productos de daños mecánicos, climáticos, físicos o químicos. Estas barreras son los envoltorios o envases, que deben ser atractivos, fáciles de abrir y transportar y en lo posible reciclables. Los requerimientos del envase están determinados por la naturaleza del producto a envasar. En la selección del material de envase es necesario evaluar la relación costo/barrera/función, la que debe ser adecuada (10,11).

En el caso de los snacks se requiere que los materiales de envase entreguen: protección contra el daño provocado por la luz, ya que esta acelera el desarrollo de rancidez en la mayoría de ellos; y reducción de la concentración de oxígeno en su interior ya que se produce oxidación de grasas y destrucción de vitaminas y aminoácidos esenciales. La mayoría de los snacks se envasan en materiales flexibles, livianos y resistentes (10,12).

Entre las películas más utilizadas está el celofán que presenta muy buen brillo y claridad, buena resistencia a la tensión y al impacto pero no a las rasgaduras, permitiendo una fácil abertura del envase. Las condiciones de almacenamiento ideales para celofán son de 20 a 25°C y 30% a 50% de humedad relativa. Dado su alto precio, se ha reemplazado por polipropileno orientado que además de ser más barato, tiene buena opacidad, buenas propiedades de barrera a la humedad, oxígeno y grasas. Su principal problema es que su degradabilidad es mucho menor que la del celofán (10,13).

El objetivo de esta investigación fue evaluar los cambios físicos, químicos y sensoriales durante el almacenamiento por 90 días, de barras de cereal con maní o nuez y cotiledón de algarrobo sometido a dos tratamientos térmicos, envasadas en celofán o polipropileno.

MATERIAL Y METODOS

Elaboración y almacenamiento de barras

Se elaboraron 4 tipos de barras de cereales siguiendo la línea de flujo presentada por Escobar et al (14), con 6% de cotiledón de algarrobo tratado por microondas (O) o tostado en placa calefactora (T) de acuerdo a lo señalado por Estévez et al (15); y con 18% de maní (M) o nuez (N). Las barras se envasaron en envases de celofán y polipropileno orientado, de alta opacidad, y se almacenaron por 90 días en las condiciones ambientales promedio de los meses de verano de Santiago (Chile) que corresponden a una temperatura de alrededor de 20° C y humedad relativa de 55%.

Determinaciones analíticas

Cada 30 días se midió contenido de humedad según el método de la AOAC (sección: 14.004), (16); Actividad de Agua (Aw) en determinador Lufft, modelo 5803; índice de peróxidos, según el método de Melhenbacher (17); calidad sensorial por el método de Scoring (18), utilizando 12 jueces entrenados; aceptabilidad sensorial, por el método de la Escala Hedónica de nueve puntos (1=me disgusta extremadamente; 9=me gusta extremadamente), utilizando 12 jueces entrenados y 12 no entrenados (18).

Los tratamientos con maní o nuez se analizaron en forma independiente, con un diseño completamente al azar. Cada tratamiento fue realizado con cuatro repeticiones. A los resultados se aplicó análisis de varianza y test de Duncan con un nivel de significancia de 5% cuando hubo diferencias.

RESULTADOS Y DISCUSION

La humedad de las barras de cereal con maní o con nuez no presentó diferencias entre los tratamientos ni durante el almacenamiento; los valores de las barras con maní fueron mayores que los de las barras con nuez (entre 9,2-11,2% y 7,2-8,9% respectivamente); de acuerdo con los resultados, ambos tipos de materiales de envase (celofán y polipropileno opaco) actuaron como barreras eficientes frente a los cambios ambientales de humedad, lo que concuerda con lo indicado por Matz (10). Los contenidos de humedad obtenidos permiten, según lo señalado por Lloyd et al (19), una adecuada estabilidad en almacenamiento.

En relación a la actividad de agua, las barras de cereal y maní no presentaron diferencias entre tratamientos ni a través del tiempo de almacenamiento, estando los valores entre 0,59 y 0,65. En el caso de las barras de cereal con nuez no existió diferencia entre los tratamientos; sin embargo, las barras que tenían cotiledón de algarrobo tratado por microondas presentaron un aumento de la actividad de agua (de 0,50 a 0,58) durante el almacenamiento. Los valores obtenidos están bajo el límite indicado por Toledo (20) para prevenir el daño microbiológico.

El contenido de peróxidos (Tabla 1) en todas las barras elaboradas aumentó significativamente a partir del día 30 de almacenamiento. En el caso de las que tenían maní, los valores medidos al final del período fueron semejantes para todas las barras; sin embargo en los días 30 y 60, las barras que tenían cotiledón de algarrobo tostado, presentaron valores menores que las con cotiledón sometido a microondas. Las barras que tenían nuez tuvieron valores menores que las que tenían maní, debido probablemente a la presencia de compuestos antioxidantes naturales en ellas que protegerían a las materias grasas de la oxidación (21). En las barras con nueces y cotiledón tostado se observó un aumento significativo el día 90 para las envasadas en celofán y a partir del día 60 para las con polipropileno opaco; en las que tenían cotiledón tratado por microondas las diferencias fueron a partir del día 30 para

ambos envoltorios. Los valores obtenidos están bajo lo indicado por Anderson et al (22) como límite para la rancidez oxidativa en productos a base de cereales, probablemente debido a las propiedades de barrera contra el oxígeno que presentan ambos tipos de materiales usados (10).

TABLA 1
Indice de peróxidos en barras de cereal y maní o nuez durante el almacenamiento (meq/kg de aceite)

| | Día 0 | Día 30 | Día 60 | Día 90 |
|------------|-------|--------|---------|--------|
| Maní (18%) | | | | |
| T-M-C | 8,6Ac | 10,1Bb | 10,3Bb | 13,5Aa |
| T-M-P | 8,6Ac | 9,6Bb | 10,3Bb | 13,3Aa |
| O-M-C | 9,5Ac | 12,6Ab | 13,2Aab | 13,8Aa |
| O-M-P | 9,5Ac | 11,9Ab | 12,9Aab | 13,3Aa |
| Nuez (18%) | | | | |
| T-N-C | 5,6Ab | 5,9Ab | 6,1Bb | 7,2Ba |
| T-N-P | 5,6Ac | 5,8Ac | 6,9Bb | 7,6Ba |
| O-N-C | 4,9Bd | 5,9Ac | 7,6Ab | 8,9Aa |
| O-N-P | 4,9Bd | 5,5Ac | 6,5Bb | 8,2Aa |

M= maní; N= nuez; T= cotiledón tostado en placa; O= cotiledón tratado en microondas; C=celofán; P= polipropileno.

Letras minúsculas comparan horizontalmente y letras mayúsculas comparan verticalmente cada tratamiento.

En cuanto a la aceptabilidad sensorial, las barras de cereal con maní no presentaron diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento, entre los tratamientos aplicados al cotiledón, entre los materiales de envase, ni entre los tiempos de análisis (Tabla 2). En las barras con nuez, se pudo observar que en aquellas que contenían cotiledón tostado, la aceptabilidad se mantuvo hasta el día 60, aumentando a la fecha siguiente; en aquellas que tenían cotiledón tratado en

microondas disminuyó en los días 30 y 60, volviendo al valor inicial. Los resultados obtenidos muestran una tendencia similar a la reportada por Estévez et al (7) para barras de cereal con nuez y amaranto tostado.

TABLA 2
Aceptabilidad sensorial de barras de cereal y maní o nuez durante el almacenamiento (puntos)

| | Día 0 | Día 30 | Día 60 | Día 90 |
|------------|--------|--------|--------|--------|
| Maní (18%) | | | | |
| T-M-C | 6,6Aa | 6,4Aa | 7,1Aa | 6,2Aa |
| T-M-P | 6,6Aa | 6,2Aa | 6,1Aa | 6,6Aa |
| O-M-C | 6,5Aa | 6,2Aa | 6,1Aa | 7,0Aa |
| O-M-P | 6,5Aa | 6,8Aa | 6,3Aa | 7,1Aa |
| Nuez (18%) | | | | |
| T-N-C | 6,2Aab | 5,8Ab | 6,2Ab | 6,7Aa |
| T-N-P | 6,2Aab | 5,8Ab | 5,6Ab | 7,2Aa |
| O-N-C | 6,6Aa | 6,0Ab | 6,2Ab | 6,5Aab |
| O-N-P | 6,6Aa | 5,8Ab | 6,2Ab | 6,6Aa |

M= maní; N= nuez; T= cotiledón tostado en placa; O= cotiledón tratado en microondas; C=celofán; P= polipropileno.

Letras minúsculas comparan horizontalmente y letras mayúsculas comparan verticalmente cada tratamiento.

En la Tabla 3 se puede observar que el aroma y sabor de las barras de cereales con maní o nuez se mantuvieron, en general, dentro de los puntajes considerados como normal-moderado sin que los jueces detectaran indicios de rancidez. En todas las barras elaboradas se observó una tendencia hacia el aumento de la acidez y el dulzor a través del tiempo (Tabla 4). Paralelamente a este aumento se observó una disminución del amargor en el tiempo, lo que podría deberse a un equilibrio entre los componentes de los distintos ingredientes.

TABLA 3
Aroma y sabor sensorial de barras de cereal y maní o nuez en almacenamiento (puntos)

| | Aroma | | | | Sabor | | | |
|-------|--------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|
| | 0 días | 30 días | 60 días | 90 días | 0 días | 30 días | 60 días | 90 días |
| Maní | | | | | | | | |
| T-M-C | 5,2Aa | 5,0Aab | 4,8Ab | 5,3Aa | 5,3Aa | 5,2Aa | 5,1Aa | 5,2Aa |
| T-M-P | 5,2Aa | 4,9Ab | 4,6Ab | 5,2Aa | 5,3Aa | 4,9Ab | 4,9Ab | 5,4Aa |
| O-M-C | 5,3Aa | 4,7Ab | 5,3Aa | 5,3Aa | 5,2Aa | 5,1Aa | 4,9Ab | 5,6Aa |
| O-M-P | 5,3Aa | 4,9Ab | 5,0Aab | 5,3Aa | 5,2Aa | 5,3Aa | 5,0Aa | 5,8Aa |
| Nuez | | | | | | | | |
| T-N-C | 4,8Ab | 4,9Ab | 4,9Ab | 5,4Aa | 5,3Aab | 5,1Ab | 5,1Ab | 5,7Aa |
| T-N-P | 4,8Ab | 4,8Ab | 4,7Ab | 4,8Ab | 5,3Aa | 4,7Ab | 4,8Ab | 5,6Aa |
| O-N-C | 5,1Aa | 4,4Ab | 4,3Ab | 5,2Aa | 5,5Aa | 5,1Abc | 4,8Ac | 5,3Aab |
| O-N-P | 5,1Aa | 4,7Ab | 4,7Ab | 5,1Aa | 5,5Aa | 5,0Ab | 4,9Ab | 5,5Aa |

M= maní; N= nuez; T= cotiledón tostado en placa; O= cotiledón tratado en microondas; C=celofán; P= polipropileno.

Letras minúsculas comparan horizontalmente y letras mayúsculas comparan verticalmente cada tratamiento.

TABLE 4
Acidez y dulzor sensorial de barras de cereal y maní o nuez en almacenamiento (puntos)

| | Acidez | | | | Dulzor | | | |
|-------|--------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|
| | 0 días | 30 días | 60 días | 90 días | 0 días | 30 días | 60 días | 90 días |
| Maní | | | | | | | | |
| T-M-C | 3,0Ab | 3,3Ab | 3,7Ab | 4,5Aa | 4,7Ac | 5,2Aab | 4,9Abc | 5,3Aa |
| T-M-P | 3,0Ac | 3,9Aab | 3,5Abc | 4,6Aa | 4,8Ab | 5,3Aa | 4,9Ab | 5,1Aab |
| O-M-C | 3,2Ac | 3,4Abc | 3,7Aab | 4,2Aa | 4,8Ab | 5,3Aa | 4,8Ab | 5,2Aa |
| O-M-P | 2,9Ab | 3,2Ab | 3,3Ab | 4,2Aa | 4,8Ab | 5,1Aab | 4,9Ab | 5,3Aa |
| Nuez | | | | | | | | |
| T-N-C | 2,7Ab | 3,2Ab | 3,3Ab | 4,0Aa | 4,7Ab | 4,5Ab | 5,1Aa | 5,1Aa |
| T-N-P | 2,7Ab | 3,4Aa | 3,5Aa | 3,8Aa | 4,7Ab | 4,3Ac | 4,5Abc | 5,1Aa |
| O-N-C | 3,8Aab | 3,1Ab | 3,4Ab | 4,4Aa | 4,8Aa | 5,0Aa | 4,8Aa | 5,1Aa |
| O-N-P | 3,8Aab | 3,3Ab | 3,3Ab | 4,1Aa | 4,8Ab | 4,8Ab | 4,8Ab | 5,5Aa |

M= maní; N= nuez; T= cotiledón tostado en placa; O= cotiledón tratado en microondas; C=celofán; P= polipropileno.

Letras minúsculas comparan horizontalmente y letras mayúsculas comparan verticalmente cada tratamiento.

La apariencia de las barras de cereal con maní y cotiledón tostado no presentó diferencias a través del tiempo, lo que concuerda con lo obtenido por Estévez et al (8) en barras de cereal-maní con amaranto tostado; las con cotiledón tratado

con microondas no presentaron diferencias entre los días 0 y 90. En el caso de las barras con nuez, no se presentaron diferencias ni en los tiempos de análisis, ni entre los tratamientos del cotiledón, ni entre los materiales de envase (Tabla 5).

TABLE 5
Apariencia y amargor sensorial de barras de cereal y maní o nuez en almacenamiento (puntos)

| | Apariencia | | | | Amargor | | | |
|-------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 0 días | 30 días | 60 días | 90 días | 0 días | 30 días | 60 días | 90 días |
| Maní | | | | | | | | |
| T-M-C | 6,5Ba | 6,7Aa | 7,1Aa | 6,6Ba | 3,4Aa | 4,1Aa | 3,0Aa | 2,7Ab |
| T-M-P | 6,5Ba | 6,7Aa | 7,1Aa | 6,5Ba | 3,4Aa | 4,0Aa | 3,6Aa | 2,8Ab |
| O-M-C | 7,2Aab | 6,2Ab | 6,8Aab | 7,6Aa | 3,8Aa | 3,8Aa | 3,5Aa | 3,3Aa |
| O-M-P | 7,2Aab | 6,4Ab | 6,8Aab | 7,7Aa | 3,8Aa | 3,4Aa | 3,8Aa | 3,7Aa |
| Nuez | | | | | | | | |
| T-N-C | 6,5Aa | 7,0Aa | 6,8Aa | 6,4Aa | 4,9Aa | 3,7Ab | 3,3Ab | 2,9Ab |
| T-N-P | 6,5Aa | 7,3Aa | 6,9Aa | 6,8Aa | 4,9Aa | 3,7Ab | 3,3Ab | 2,9Ab |
| O-N-C | 7,0Aa | 7,1Aa | 7,0Aa | 6,8Aa | 3,7Ab | 4,5Aa | 3,3Ab | 3,0Ab |
| O-N-P | 7,0Aa | 6,8Aa | 6,8Aa | 6,8Aa | 3,7Ab | 4,6Aa | 3,1Abc | 2,8Ac |

M= maní; N= nuez; T= cotiledón tostado en placa; O= cotiledón tratado en microondas; C=celofán; P= polipropileno.

Letras minúsculas comparan horizontalmente y letras mayúsculas comparan verticalmente cada tratamiento.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que:

- La vida útil de las barras de cereal con maní o nuez y cotiledón de algarrobo (tostado y tratado por microonda) es de 90 días.
- Los materiales de envase utilizados, celofán y polipropileno orientado de alta opacidad, permiten mantener las barras de cereales en buenas condiciones de humedad, actividad de agua, aceptabilidad sensorial durante tres meses.

Esta investigación fue financiada por el Proyecto DTI A-3031

REFERENCIAS

1. Badúf S. Química de los alimentos. Ed. Alhambra, México. 1984; p430. 1984.
2. Fennema O. Química de los alimentos. Ed. Acirbia, S.A. 1989;p1095.

3. Payne, T. California Walnut and light foods. *Cereal Foods World* 1985;30(3):215-218.
4. Masson L. y Mella MA. Materias grasas de consumo habitual y potencial en Chile. 5. Composición en ácidos grasos. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago, Chile, 1985;p31p.
5. Chirife J. El agua y sus interrelaciones con los constituyentes de los alimentos. *Información Técnica* 1986;11(2): 35-45.
6. Lin RC. Water activity: good manufacturing practice: 2815-2819. In: Hui, H.(Ed). *Encyclopedia of Food Science and Technology*. Ed Wiley-Interscience Publication, Washington D.C.Vol 4. 2972p. 1992
7. Estévez AM, Escobar B, Vasquez M, Castillo E, Araya E y Zacarias I. Cereal and nuts bars, nutritional quality and storage stability. *Plant Foods Human Nutr.* 1995;47:309-317.
8. Estévez AM, Escobar B, Tepper A y Castillo E. Almacenamiento y uso de antioxidantes en barras de cereales y maní. *Arch Latinoamer Nutr.* 1998;48(2):160-164.
9. Escobar B, Estévez AM, Vásquez M, Castillo E y Yañez E. Barras de cereales maní y amaranto dilatado: composición química y estabilidad en almacenamiento acelerado. *Arch Latinoamer Nutr.* 1994; 44(1): 36-40.
10. Matz SA. *Snack food technology*. 2nd. ed. Ed. AVI Publishing Co., Inc Westport; Connecticut. 1984;p415.
11. Hirsch A. *Flexible food packaging*. Ed. Van Nostrand Reinhold, New York; USA. 1991;p217.
12. Torres E. El empaque con la época. *Alimentos Procesados* 1989;8(7):56-59.
13. Yam KL, Paik JS and Lai CC. Packaging:1978-1982. In: Hui, H.(Ed). *Encyclopedia of Food Science and Technology*. Ed Wiley-Interscience Publication, Washington D.C.Vol 4. 2972p. 1992
14. Escobar B, Estévez AM, Vasquez M, Castillo E y Araya E. Aporte calórico-protéico de barras tipo snack elaboradas con cereales y maní. *Rev. Alimentos* 1992;17(3): 5-10.
15. Estévez AM, Escobar B y Ugarte V. Utilización de cotiledones de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) en la elaboración de barras de cereales. *Arch Lat Nutr.* 2000;50(2):152-156.
16. Association of Official Chemist. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 14th ed. Virginia, USA. 1984;p1141.
17. Mehlenbacher VC. *Análisis de grasas y aceites*. Ed. Urmo, Bilbao España. 1970;p 637.
18. Watts BM, Ylimaki GL, Jeffery LE y Elias LG. *Basic sensory methods for foods evaluation*. International Development Research Centre, IDRC. Ottawa, Canadá 1989;p160.
19. Lloyd IE, McDonald BE y Crampton EW. *Fundamentos de Nutrición*. Ed. Acirbia, Zaragoza, España. 1982;p464.
20. Toledo RT. *Fundamentals of food process engineering*. Ed. Van Nostrand Reinhold, New York; USA. 1991;p602.
21. Olson W and Coates W. Maturation, harvesting, and nut quality: 172-174. In: *Walnut Orchard Management*, Univ. of California, 1985;p178.
22. Anderson RH, Moran DH, Huntley TE and Holohan JL. Responses of cereals to antioxidants. *Food Tech.* 1963;17(12):115-120.

Recibido:09-02-1999

Aceptado:18-02-2000

Obtención de un extracto de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) fermentado y su uso como extensor lácteo

Josefina Morales de León, Ma. Lorena Cassís Nosthas, Patricia Cecin Salomón

Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ), México, D.F.

RESUMEN. El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) se cultiva en forma importante en algunos estados del norte de la República Mexicana y se considera como una buena fuente de proteína vegetal (20% en promedio) de bajo costo, sin embargo, el 80% se destina a la exportación y sólo el 20% restante se utiliza en nuestro país como garbanzo de rezaga, destinándolo para la alimentación animal. El objetivo del presente trabajo fue obtener un extracto de garbanzo fermentado para utilizarlo como extensor lácteo. Se llevaron a cabo cinéticas de absorción de agua del garbanzo bajo 3 condiciones de temperatura; establecidas las condiciones de trabajo, el garbanzo se sometió a un proceso de molienda para posteriormente fermentarlo con diferentes porcentajes de inóculo de la flora natural del garbanzo, *L.casei*, *L.plantarum* y un cultivo mixto de éstos lactobacilos, en fase logarítmica. Los resultados obtenidos indicaron que la presencia de microorganismos propios de la flora natural del garbanzo, provocaron interferencias en la fermentación por lo que antes de la inoculación fue necesario someter al extracto de garbanzo (E.G.) a un tratamiento térmico durante 20 minutos a una dilución 1:4 y a una presión de 7.7 kg/cm². La utilización de un cultivo mixto en una concentración del 5% de *L.casei* y 5% de *L.plantarum* inoculados en caldo MRS, redujo el tiempo de fermentación y su adición en fase logarítmica al extracto estéril de garbanzo, incrementó la producción de ácido láctico y disminuyó el pH en 6 horas, tiempo menor al que presentaron cada uno de los lactobacillus. El extracto de garbanzo obtenido presentó características sensoriales similares a las de un queso.

Palabras clave: Garbanzo, fermentación, cultivos lácticos.

SUMMARY. Obtention of chickpea extract fermented (*Cicer arietinum* L.) for use as a milky extensor. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is cultivated in the North part of México and it is considered a good source of vegetal protein of low cost (20% average), nevertheless, the 80% used for the exportation and only the 20% less was used for animal feeding. The main objective in this study is to obtain a fermented chickpea extract for using in dairy extensor. Chickpea water absorption kinetics were carried out in e temperature conditions: while the conditions were established, chickpea was grounded and fermented in differents amounts with its natural flora, *L.casei*, *L.plantarum* and a mixture culture of both microorganism in logarithmic phase. The results showed that the presence of microorganism of chickpea natural flora interferes during the fermentation, so before the inoculation it was necessary treat the chickpea extract (CE) termically in a dilution 1:4 during 20 min at 7.7 kg/cm² of pressure. The use of a mixture culture of 5% of *L.casei* and 5% *L.plantarum* inoculated in MRS broth was used to decrease fermentation time. Its addition in logarithmic phase to the sterile chickpea extract increased the lactic acid production and decreased the pH value in 6 h which was less time that one obtained with each of lactobacillus. The fermented extract obtained finally, presented similar sensory characteristics to the ones of dairy products. Therefore, chickpea is a good alternative as a extensor for this kind of products.

Key words: Chickpea, fermentation, lactic culture.

INTRODUCCION

México, es un país en desarrollo que presenta grandes contrastes en los que prevalece la heterogeneidad geográfica, económica, social y cultural. Así mismo, en el aspecto nutricional, los contrastes no son la excepción; en un extremo están la desnutrición y las deficiencias nutricias específicas resultado, entre otros, de la privación social y pobreza; mientras que en el lado opuesto, se encuentran la obesidad y las enfermedades crónicas degenerativas resultado de la abundancia, del aumento en la esperanza de vida de la población y de la adopción de hábitos y costumbres ajenos a nuestra cultura alimentaria (1-3).

El futuro de la alimentación en México y quizá de otros países en desarrollo va a depender en gran parte de que la

tecnología de alimentos sea capaz de aprovechar las fuentes disponibles de alimentos en el país, adaptar y desarrollar nuevos productos que permitan variar y complementar la dieta de la población mayoritaria a bajo costo (4).

Una alternativa interesante en este rubro es la extensión de alimentos de origen animal como lo es la leche - que en nuestro país es insuficiente no solo como leche fluída, sino también para la elaboración de derivados lácteos - con alimentos de origen vegetal.

Dentro de los alimentos de origen vegetal que se cultivan de manera importante en México están las leguminosas, las cuales constituyen una buena fuente de proteína. Dentro de éste grupo se encuentra el garbanzo (*Cicer arietinum* L.) el cuál ocupa el tercer lugar de producción en México después del frijol y de la soya. Se cultiva principalmente en los estados

de Sinaloa, Sonora, Baja California Sur, Jalisco, Michoacán, Guanajuato, San Luis Potosí y Oaxaca. Su fruto es una fuente potencial de proteína de buena calidad y su cualidad de ser sensorialmente neutro, logra su incorporación a diversos alimentos como es la leche (5-7).

La fermentación del garbanzo y otras leguminosas combinadas con cereales, ha sido informada por diferentes autores (8) entre ellos Kao y Robinson que obtuvieron «Tempe» el cuál tradicionalmente se elabora con frijol de soya y haba (9); Zamora y Fields fermentaron el garbanzo durante 4 días a 25 °C y observaron un aumento en la cantidad de aminoácidos indispensables en el producto fermentado así como también una disminución del factor inhibidor de tripsina y en las cantidades de rafinosa y estaquiosa, azúcares responsables de la flatulencia producida por la acción de los microorganismos anaeróbicos intestinales sobre éstos oligosacáridos. Además mencionan que éste producto contiene flora natural en la que se encontraron *Lactobacillus casei*, *L. leichmanii*, *L. plantarum*, *L. helveticus*, *Pediococcus pentosaceus* y *P. acidolactici*, todos ellos microorganismos homofermentativos productores fundamentalmente de ácido láctico (10). Beuchat y Nail elaboraron un producto fermentado de leche y cacahuete, adicionado con *L. bulgaricus* y *L. acidophilus*, con el objeto de enmascarar el sabor desagradable de éste producto sin fermentar (11). Ulloa, J.A. obtuvo por ultrafiltración un concentrado proteico de garbanzo para utilizarlo como ingrediente en la elaboración de ciertos alimentos para consumo humano principalmente para incorporarlo como proteína purificada en alimentos infantiles de uso especial o terapéutico (12-14).

Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fué obtener un extracto fermentado de garbanzo para utilizarlo como «extensor» lácteo.

MATERIAL Y METODOS

Desarrollo Experimental

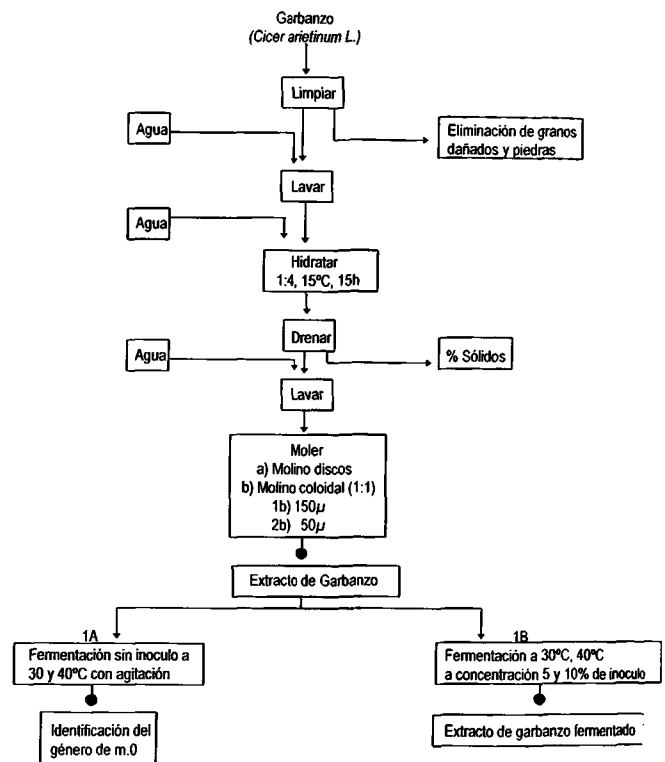
El garbanzo (*Cicer arietinum L.*), se adquirió en un lote de 10 kg y se caracterizó mediante un análisis químico proximal, el cuál se realizó por duplicado.

Se seleccionaron como cultivos lácticos a *L. casei* y *L. plantarum* con base en estudios anteriores (4) en donde se observó que éstos proporcionan y mejoran las características físicas y sensoriales de los productos fermentados.

Para establecer el tiempo y la temperatura de remojo del garbanzo, se llevaron a cabo diferentes cinéticas de absorción de agua bajo tres condiciones de temperatura: a) $15 \pm 1^\circ\text{C}$; b) $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y c) $40 \pm 1^\circ\text{C}$. En cada caso, se determinó el porcentaje de absorción de agua del garbanzo así como el porcentaje de sólidos totales en el agua de remojo.

Posteriormente, para obtener el extracto de garbanzo (E.G.) se siguió el diagrama de operaciones que se presenta en la Figura 1. El extracto obtenido, se sometió a un proceso de fermentación (utilizando su flora natural).

FIGURA 1
Obtención del extracto de garbanzo y alternativas de fermentación utilizando la flora natural del garbanzo



Al término de la fermentación, se aislaron 10 colonias con morfología diferente y se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: catalasa, movilidad, oxidasa, crecimiento aeróbico o anaeróbico y la de Hugh-Leifson (para determinar el tipo de metabolismo oxidativo o fermentativo), con el objeto de obtener la identificación del género de los microorganismos aislados.

Para lograr un mayor control microbiológico en la cinética de fermentación, el E.G. se sometió a un tratamiento térmico, a una presión de 7.7 kg/cm^2 en diferentes diluciones: 1:2, 1:3 y 1:4 (extracto:agua) además del extracto sin diluir, como testigo y a cada una de éstas diluciones se les aplicó también diferentes tiempos de esterilización, 15, 20, 25 y 30 minutos. Se evaluaron en cuanto a su sabor, consistencia y cuenta de bacterias lácticas.

Se llevaron a cabo cinéticas de fermentación del E.G. utilizando inóculos de la flora natural y la de los lactobacillus en fase logarítmica, en porcentajes de 5% y 10% y se incubaron bajo dos condiciones de temperatura: $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y $40 \pm 1^\circ\text{C}$, con agitación (Figura 1). Durante las cinéticas de fermentación se determinó el pH y la acidez total titulable.

Las cinéticas de crecimiento de las cepas liofilizadas de *L. casei* y *L. plantarum* se realizaron en una concentración del 10% y de un cultivo mixto (5% *L. casei* y 5% *L. plantarum*), en caldo MRS y se incubaron a 40°C con agitación. Durante el crecimiento del inóculo, se evaluó el pH, la acidez total

titulable y la cuenta de bacterias lácticas.

Posteriormente, las cepas de *L.casei*, *L.plantarum* y el cultivo mixto, se inocularon en fase logarítmica, en el extracto de garbanzo estéril, con el objeto de acelerar la fermentación. Durante la fermentación de cada una de las cepas, se determinó el pH, la acidez total titulable y la cuenta de bacterias lácticas.

Métodos de Análisis

- Análisis químico proximal de acuerdo a las técnicas oficiales del A.O.A.C (18) en las que se incluye humedad (925.09), cenizas (923.03), proteína (976.05), extracto etéreo (920.39) y fibra bruta (962.09). Los hidratos de carbono se calcularon por diferencia a 100 de la suma de los demás componentes.
- Sólidos totales, por medio del refractómetro Abbe 3L, Bausch & Lomb S-334610 (19).
- Acidez total titulable de acuerdo a la técnica oficial del A.O.A.C. (método potenciométrico) (18).
- pH, de acuerdo a la técnica del potenciómetro Orion - Research modelo 601-A (20).
- Análisis microbiológicos de acuerdo a las técnicas del manual del BBL (Manual de Marca Comercial de Beckton Dickinson) y el manual de laboratorio de bacteriología médica en las que se incluyen: cuenta de bacterias lácticas en agar MRS (UFC/g), identificación del género de microorganismos aislados (tinción de gram, tinción de Ziehl - Nielsen, tinción de Schaffer - Fulton); pruebas bioquímicas: catalasa, movilidad, crecimiento aeróbico o anaeróbico y Hugh Leifson (metabolismo oxidativo o fermentativo) (21,22).
- Viscosidad por medio de un viscosímetro de Brookfield, modelo RV, spin No.7, 20 r.p.m. (23).
- Sabor.- Las diluciones preparadas con base en garbanzo y agua sometidas a un tratamiento térmico, se evaluaron con respecto al sabor a garbanzo, por 10 personas no entrenadas a las que se les pidió que compararan cada una de ellas con una muestra de leche como referencia; se utilizó una prueba de preferencia y se les pidió a las personas que degustaran cada una de las diluciones e indicaran su preferencia colocando en primer lugar la que más le agradara (que no presentara sabor predominante a garbanzo) y en último lugar la menos agradable (24,25).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos del análisis químico del garbanzo (*Cicer arietinum L.*); se observa que el contenido de proteína obtenido (16.3g/100g) fue menor comparado con el que informa Ulloa, J.A. et al el cual fue de 26.2 g/100 g (14) debido probablemente a la variedad de garbanzo utilizado; sin embargo el contenido de lípidos (6.4g/100g) fue similar al que ellos informan (6.0 g/100 g) lo cual ayuda a su estabilidad química.

TABLA 1
Análisis químico del garbanzo (*Cicer arietinum L.*)
(g/100g)

| Determinación | g/100g |
|------------------------|--------|
| Humedad | 9.9 |
| Cenizas | 2.9 |
| Proteína * | 16.3 |
| Lípidos | 6.4 |
| Fibra cruda | 3.2 |
| Hidratos de carbono ** | 61.3 |

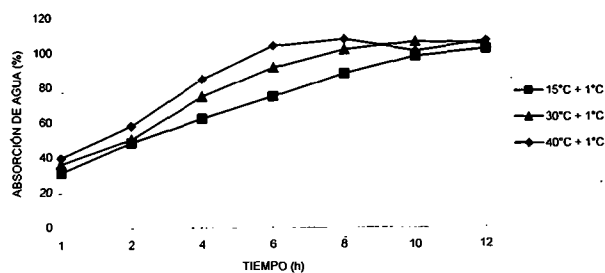
* Nitrógeno x 6.25 para garbanzo

Nitrógeno x 6.38 para leche

** por diferencia

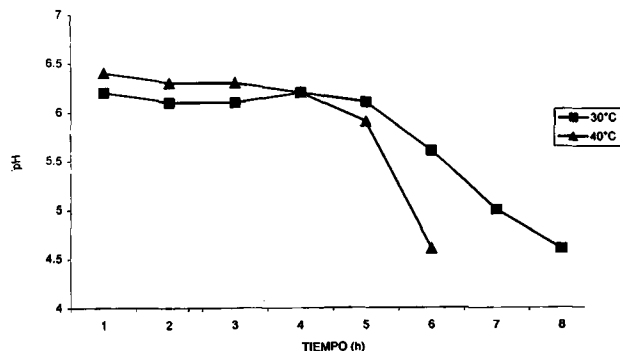
De los resultados obtenidos de la cinética de absorción de agua del garbanzo incubado a diferentes temperaturas (Figura 2), se observa que el máximo porcentaje de absorción se alcanza a las 12 h a $15 \pm 1^\circ\text{C}$, a las 8 h a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y a las 6 h a $40 \pm 1^\circ\text{C}$. Por razones prácticas y de ahorro energético se seleccionó la temperatura de remojo de $15 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 12 h para continuar con el estudio. Cabe aclarar que si se quiere acelerar el proceso de hidratación del garbanzo, se puede trabajar a la temperatura de 40°C . El porcentaje de sólidos obtenidos en el agua de remojo fue del orden de 0.4 °brix, sin embargo, ésta agua no se utilizó para moler el garbanzo ya que en ella podrían contenerse compuestos como la rafinosa y la estaquiosa, que provocan flatulencia, debida a la acción de los microorganismos anaeróbicos intestinales sobre ésta leguminosa (Zamora y Fields).

FIGURA 2
Cinética de absorción de agua del garbanzo incubado a diferentes temperaturas



De las cinéticas de fermentación realizadas utilizando la flora natural del garbanzo, sin inóculo a 30° y 40°C , con agitación (Figura 3), se observa que a 30°C se alcanza el pH deseado de 4.6, a las 14 h, mientras que a 40°C éste valor de pH se alcanza a las 10 h, por lo que se seleccionó a ésta última temperatura para continuar las fermentaciones.

FIGURA 3
Cinética de fermentación de la flora natural del garbanzo
incubado a 30°C y 40°C



Por otra parte, los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas (Tabla 2), indicaron que la mayoría de los microorganismos aislados fueron *Bacillus* gram (+), esporulados, catalasa y glucosa (+) y que además pueden

crecer en condiciones aerobias y anaeróbicas; en una mayor proporción se encontraron *Staphylococcus* gram (+), no esporulados, provenientes probablemente de otras fuentes (molinos, material utilizado); con la tinción de Ziehl - Nielsen se probó que ninguno de los bacilos aislados es alcohol ácido resistente y en algunos casos se detectó la presencia de esporas (tinción Schaeffer - Fulton).

Los resultados obtenidos de las cinéticas de fermentación con la flora natural del garbanzo realizadas a diferentes concentraciones de inóculo (5% y 10% de inóculo en fase logarítmica¹), e incubadas a 30° y 40°C, se presentan en la Figura 4 y Figura 5. De ellas se observa que a la temperatura de 30°C el pH deseado de 4.6 se alcanza con ambas concentraciones de inóculo, a las 14 h, obteniéndose una acidez total de 8.9 y 4.6 mg de ácido láctico/g de muestra, respectivamente; sin embargo, a 40°C, se alcanza el pH de 4.6 a las 12 h con 5% y 10% de inóculo, con una acidez de 8.9 y 8.2 mg de ácido láctico/g de muestra, respectivamente. Por lo tanto, se seleccionó la temperatura de incubación de 40°C con una concentración de inóculo del 10% para continuar con el estudio.

TABLA 2
Pruebas bioquímicas realizadas al extracto fermentado de garbanzo utilizando su flora natural

| Colonia | Color | Diámetro | Forma | Bordes | Aspecto | Evaluación | Consistencia | Gram |
|-----------|---------------------|-----------|---------------|--------------|---------------|------------|---------------------|-------------------|
| 1 | Crema | 3 mm | No geométrica | Irregulares | Seco | Negativa | Dura | Bacilos + |
| 2 | Crema | 1.5 mm | No geométrica | Irregulares | Seco | Negativa | Dura | Bacilos y cocos + |
| 3 | Crema | 8 mm | Circular | Regulares | Húmedo | Convexa | Suave | Bacilos cortos - |
| 4 | Gris amarillento | 4.7 mm | Circular | Regulares | Seco con halo | Convexa | Suave algodonosa | Cocos + |
| 5 | Amarillo | 2 mm | Circular | Regulares | Húmedo | Convexa | Suave | Cocos - |
| 6 | Marfil | 5 mm | Circular | Regulares | Húmedo | Plana | Suave | Bacilos + |
| 7 | No creció | No creció | No creció | No creció | No creció | No creció | No creció | No creció |
| 8 | Amarillo | | Alargada | Irregulares | Húmedo | Cóncavo | Suave | Bacilos + |
| 9 | Rosa con blanco | 2 mm | Circular | Regulares | Seco | Cóncavo | Dura | Bacilos + |
| 10 | Marfil | 25. Mm | Irregular | Regulares | Húmedo | Cóncavo | Suave | Bacilos + |
| Esporas | A.A. Resistencia | Movilidad | Glucosa | OX/F | Aerobio | Anaerobio | Catalasa | Género |
| Positivo | Negativo | Negativo | Positivo | Oxidativa | Positivo | Positivo | Positivo | Bacillus |
| Positivo | Negativo | Negativo | Positivo | Fermentativo | Positivo | Positivo | Positivo | Contaminada |
| Negativo | Negativo | Negativo | Positivo | Fermentativo | Positivo | Positivo | Positivo | Bacillus + |
| Negativo | Negativo | Negativo | Positivo | Fermentativo | Positivo | Positivo | Positivo | Staphylococcus |
| Negativo | Negativo | Negativo | Positivo | Fermentativo | Positivo | Positivo | Positivo | Staphylococcus |
| Negativo | Negativo | Negativo | Positivo | Oxidativo | Positivo | Positivo | Positivo | Bacillus |
| No creció | No creció | No creció | No creció | No creció | No creció | No creció | No creció | No creció |
| Positivo | Negativo | Negativo | Positivo | Fermentativo | Positivo | Positivo | Positivo | Bacillus |
| Positivo | Negativo | Negativo | Positivo | Oxidativo | Positivo | Positivo | Positivo | Bacillus |
| Positivo | Negativo | Negativo | Positivo | Oxidativo | Positivo | Positivo | Positivo | Bacillus |

1. Los inóculos utilizados provienen del producto obtenido en una fermentación previa.

FIGURA 4

Cinética de fermentación de la flora natural del garbanzo inoculado con 5% y 10% de inóculo incubado a 30°C

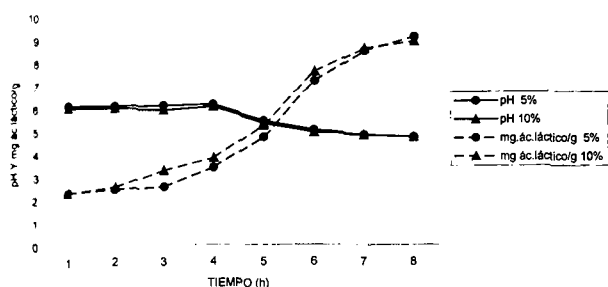
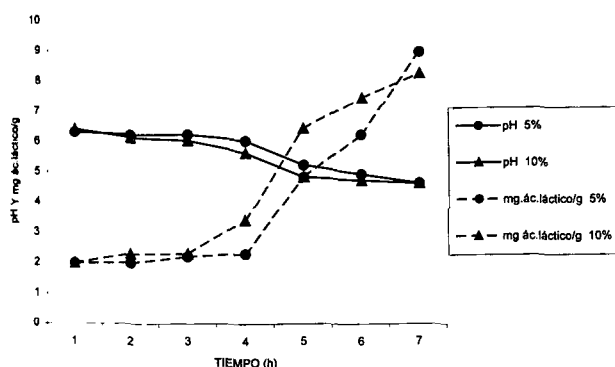


FIGURA 5

Cinética de fermentación de la flora natural del garbanzo con 5% y 10% de inóculo incubada a 40°C



En la Tabla 3, se presentan las características sensoriales y microbiológicas del extracto de garbanzo sometido a un tratamiento térmico (7.7 kg/cm²). Se observa, que al someter el E.G. en las diluciones 1:2 y 1:3 durante 15,20,25 y 30 minutos de esterilización las pastas obtenidas presentan una textura gelatinosa, un sabor a garbanzo cocido y para algunas de ellas se informó un resabio con notas amargas. En el E.G. con la dilución 1:4 a los 15 min, se logró mejorar la textura de la pasta pero se obtuvo un sabor a garbanzo crudo; a los 20 min de esterilización, se mejoró el sabor y la textura, sin embargo, al incrementar el tiempo de esterilización del extracto a 30 min., se obtuvieron suspensiones de textura heterogénea, es decir, se observan partes cocidas y partes de la suspensión gelificadas y con sabor a garbanzo cocido y notas amargas. Con base en lo anterior, se seleccionó el tiempo de esterilización de 20 min a 7.7. kg/cm² a una dilución 1:4, lográndose establecer el procedimiento para la obtención del extracto de garbanzo.

TABLA 3

Características sensoriales y microbiológicas del extracto de garbanzo sometido a un tratamiento térmico (7.7 kg/cm²)

| Tiempo (min) | 1:0 | 1:2 | 1:3 | 1:4 | Cuenta de bacterias (UFC/g) |
|--------------|------------|--|--|---|-----------------------------|
| 15 | Pasta dura | Pasta densa, sabor a garbanzo | Pasta suave, sabor a garbanzo | Suspensión con sabor a garbanzo crudo | Menos de 10 |
| 20 | - | Pasta muy espesa, sabor a garbanzo cocido | Pasta suave y gelatinosa, sabor a garbanzo cocido | Suspensión espesa, sabor a garbanzo cocido | Menos de 10 |
| 25 | - | Pasta dura, sabor a garbanzo cocido | Pasta gelatinosa, sabor a garbanzo cocido | Suspensión con partes gelificadas, sabor a garbanzo cocido | Menos de 10 |
| 30 | - | Pasta dura, sabor a garbanzo cocido, notas amargas | Pasta gelatinosa, sabor a garbanzo cocido, notas amargas | Suspensión con partes gelificadas, sabor a garbanzo cocido, notas amargas | Menos de 10 |

De los resultados obtenidos de las cinéticas de fermentación con *L.casei*, *L.plantarum* y el cultivo mixto (5% *L.casei* - 5% *L.plantarum*) inoculados cada uno en caldo MRS, se destaca que tanto *L.casei* como *L.plantarum* presentan un aumento en la cuenta de bacterias lácticas a la segunda hora de fermentación con una disminución de pH y un incremento en la producción de ácido láctico; sin embargo, a partir de la cuarta hora de fermentación, se establece la fase logarítmica de crecimiento en virtud del marcado incremento en la cuenta de bacterias, obteniéndose a la séptima hora de fermentación un pH de 4.5 (similar a la de un yogurt entre 4.2 - 4.6).

Un comportamiento similar se presentó en la fermentación con el cultivo mixto, obteniéndose un ligero sinergismo entre las cepas ya que el mencionado pH de 4.5 se obtuvo entre la sexta y séptima hora de fermentación.

Los resultados obtenidos de las cinéticas de fermentación de *L.casei*, y *L.plantarum*, inoculados cada uno en fase logarítmica al extracto estéril de garbanzo, se presentan en la Figura 6A y 6B. Se observa que en la fermentación con *L.casei*, el pH de 4.5 se alcanza a las 12 horas de fermentación, a este tiempo se tiene una producción de acidez de 1.8 mg ácido láctico/g muestra y una cuenta de bacterias lácticas de 445×10^6 ufc/g; mientras que en la fermentación con

L. plantarum, ese mismo pH se obtuvo a un mayor tiempo (14 horas), con una cuenta menor de bacterias lácticas (368×10^6 ufc/g); sin embargo, en la fermentación con el cultivo mixto (Figura 7), se observa un mayor sinergismo entre las cepas, ya que el pH de 4.5 se obtiene en un tiempo de fermentación de 6 horas con una producción de acidez de 1.7 mg ácido láctico/g muestra y con una cuenta de bacterias lácticas de 265×10^6 ufc/g muestra. Con base en éstos resultados se demuestra que, el uso de un cultivo mixto inoculado en un extracto estéril de garbanzo, incrementa la producción de ácido láctico en un menor tiempo de fermentación.

FIGURA 6A
Cinética de fermentación de *L. casei* inoculado en fase logarítmica al extracto estéril de garbanzo

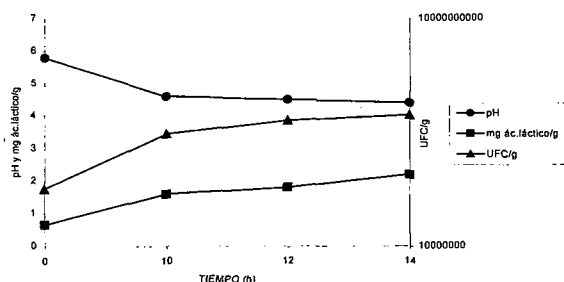
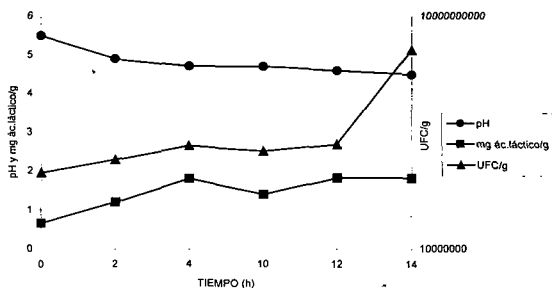


FIGURA 6B
Cinética de fermentación de *L. plantarum* inoculado en fase logarítmica al extracto estéril de garbanzo



Por lo que se refiere a las características físicas y sensoriales del extracto fermentado de garbanzo inoculado con el cultivo mixto (5% *L. casei* - 5% *L. plantarum*) (Tabla 4), se observa que, en general son muy similares a las características que presenta un producto lácteo (yogurt ó queso), elaborado con base en leche, por lo que es posible seleccionar a ésta leguminosa como una materia prima viable para «extender» la leche y con ésta lograr formular productos lácteos con caracte-

terísticas físicas y sensoriales similares a las de un producto lácteo elaborado con 100% leche.

FIGURA 7
Cinética de fermentación del cultivo mixto (5% *L. casei* - 5% *L. plantarum*) inoculado en fase logarítmica al extracto estéril de garbanzo

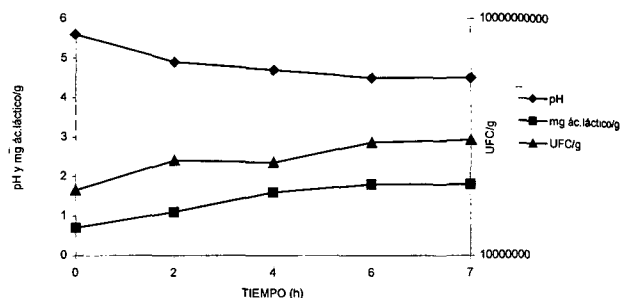


TABLA 4
Características físicas y sensoriales del extracto de garbanzo (*Cicer arietinum L.*) inoculado con un cultivo mixto (5%-*L. casei*- 5% *L. plantarum*)

| Físicas | Sensoriales |
|---------------------------------------|--------------|
| pH 4.5 | Tono marfil |
| Acidez Total (mg ácido láctico/g) 1.8 | Aroma lácteo |
| Viscosidad (cps) 2000 * | Sabor ácido |
| Sólidos Totales (%) 12 | |

* 20 rpm, spin 7, 23°C ± 2°C

CONCLUSIONES

Se establecieron las condiciones experimentales para obtener un extracto fermentado de garbanzo y las mejores características físicas y sensoriales del extracto de garbanzo se lograron cuando se sometió a una presión de esterilización de 7.7 kg/cm², durante 20 minutos a una dilución 1:4 (garbanzo:agua).

La concentración de inóculo adecuada para acelerar la producción de ácido láctico y obtener el mayor desarrollo de bacterias lácticas así como el pH deseado de 4.5, fue del 10%, a una temperatura de incubación de 40°C ± 1°C, con agitación durante 10 h.

El uso de un cultivo mixto en el extracto de garbanzo estéril, incrementó la velocidad de producción de ácido láctico en un tiempo de 6 h; el E.G. presentó características físicas y sensoriales muy similares a las de los productos lácteos como el yogurt o el queso.

Por lo anterior, se confirma que el extracto de garbanzo

estéril, se puede utilizar como materia prima para desarrollar productos lácteos "extendidos" con una fuente importante de proteína poco aprovechada en nuestro país para consumo humano y cubrir además, de manera importante, la demanda que presentan éste tipo de productos en el mercado nacional.

REFERENCIAS

1. Casanueva E, Kaufer HM, Pérez LAB y Arroyo P. Nutriología Médica. Ed.Panamericana México,1995
2. Gordon JE. Nutritional Individuality. Am S Dis Child,1975;129(1):422-423.
3. Chávez A y Chávez M. La nueva alimentación. Ed Pax México. México, 1995.
4. Arroyo C. Aspectos de la Industria Lechera en Latinoamérica. Industrias Lácteas,1982;31(4):8-26.
5. Badui S, Viniegra G. Breve análisis de la producción de leche en México: Tecnol Aliment, 1992; 24(3):12-20.
6. Banamex. Perspectivas de la cadena productiva de leche bovino. Dirección de Desarrollo de Mercados y Productos. Subdirección de Información y Análisis. México. 1999.
7. Mendoza ME. El valor de las mezclas proteicas en la alimentación humana. Tecnol Aliment 1969; 4(4).
8. Sánchez A y Lucas F. Alimentos de alto valor proteico para lactantes y preescolares. México (D.F.): Universidad Autónoma de México, 1974.
9. Díaz de Sandi B. Evaluación nutritiva de leguminosas similares. México (D.F.): Universidad Autónoma de México, 1976.
10. Cassís NL y Morales LJ. El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) . Cuadernos de Nutrición 1995;18(5):11-16.
11. Kao R. Nutritional aspects of fermented foods from chickpea, horsebean and soybean. Cereal Chem 1978; 55 (4): 512-517.
12. Zamora AF y Fields ML. Nutritive quality of fermented cowpeas (*Vigna sinensis*) and chickpeas (*Cicer arietinum*) . J Food Science 1979; 44(1): 234-236.
13. Beuchat LR and Nail BJ. Fermentation of peanut milk with *L.bulgaricus* and *L.acidophilus*. J Food Sci 1978; 43:1109.
14. Ulloa JA, Valencia ME and García ZH. Protein concentrate from chickpea: Nutritive value of a protein concentrate from chickpea (*Cicer arietinum*) obtained by ultrafiltration and its potential use in an infant formula. J Food Sci 1988; 53 (5):1396-1398.
15. Manak LJ, Lahon JT y Lusas EW. Functionating potential of soy, cottonseed and peanut protein isolates by industrial membrane systems. J Food Sci 1980; 45:236-238.
16. Ulloa JA. Fórmulas médicas infantiles. Convergencia: Revista de Investigación de la Universidad Autónoma de Nayarit. 1986. Año 3(5): 66-88.
17. Ulloa JA. La ultrafiltración en la recuperación de proteína para consumo humano. Ciencia y Desarrollo 1989; 15(89):85-91.
18. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 16th ed. Washington, D.C. 1995.
19. Manual del refractómetro Abbe- 3L / Bausch and Lomb.
20. Manual del potenciómetro Orion-research, modelo 601- A / Digital Analyser.
21. Power DZ y McCuen PJ. Manual of BBL products and laboratory procedures. 6a Edition, Becton Dickinson Microbiology Systems.1988.
22. Aparicio OG, Aquino SC, Escamilla AE. Manual de laboratorio de bacteriología médica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Microbiología. 4a Edición, México, 1983.
23. Manual del viscosímetro de Brookfield, modelo RV.
24. Pedrero D y Pangborn RM. Evaluación Sensorial Métodos Analíticos. Ed.Alhambra, México,1989.
25. Witting de Penna E. Evaluación Sensorial. Una metodología actual para Tecnología de Alimentos. Chile.

Recibido: 21-11-1998

Aceptado:16-05-2000

Recursos alimenticios vegetales con potencial de explotación agroindustrial de Guatemala. Elaboración de leche vegetal a partir de la semilla del fruto de morro (*Crescentia alata*)

Sergio A. Figueroa Madrid y Ricardo Bressani

Universidad del Valle de Guatemala

RESUMEN. El objetivo de este trabajo fue establecer las condiciones para la preparación de leche de semilla de morro o jícara, y caracterizar química y sensorialmente los productos obtenidos, la leche vegetal y el residuo. Del fruto maduro se obtuvo por maceración en agua por 3.5 hrs la semilla en un rendimiento del 80%. Esta semilla contiene en base seca 38% de grasa y 26% de proteína. La semilla separada de la pulpa se deshidrató al sol a una humedad entre 9-12%, que fue utilizada para la extracción de los sólidos solubles o la leche vegetal. Un lote similar se tostó ligeramente por 10 minutos a 90-110°C en una superficie a esas temperaturas. Las extracciones con agua hasta por 10 minutos de licuado, dio bajos rendimientos de sólidos solubles totales (4.66 ± 0.10 a 4.98 ± 0.97 %) y contenidos bajos de grasa, proteína y ceniza, con semilla secada al sol y mucho más bajas con la semilla que había sido ligeramente tostada (3.0 ± 0.05 a 3.4 ± 0.03 %). Debido a los bajos rendimientos de sólidos solubles totales y contenidos de nutrientes por extracciones acuosas, se optó por utilizar para la extracción soluciones buffer a pH 7.8 o soluciones salinas (0.5%) con y sin solución buffer a pH 8.5, con lo cual se logró una mucho mejor extracción de sólidos totales y nutrientes en el extracto. La leche de semilla secada al sol y extraída con buffer a pH 8.5 y solución salina al 0.5% produjo un extracto con 9.85% de sólidos solubles totales, 3.37% de proteína y 4.43% de grasa. Las extracciones en semilla ligeramente tostada fueron significativamente menores. El residuo de la extracción mostró en base seca 21.43% de grasa y 19.72% de proteína. Con la utilización de buffer y solución salina se obtuvo extractos de mejor aceptabilidad, siendo la leche de semilla secada al sol la de mejores características organolépticas en comparación con leche de soya (5.84 vs 3.76) pero de menor calidad sensorial a la leche de vaca (5.7 vs 7.7). El punto isoeléctrico de la proteína extraída se localizó a un pH de 4 a 4.5. **Palabras clave:** *Crescentia alata*, fruto de morro, leche vegetal, composición química, aceptabilidad.

SUMMARY. Vegetable food resources from Guatemala with agroindustrial potential. Preparation of a vegetable milk from the seed of morro fruit (*Crescentia alata*). The objective of the present study was to establish the conditions for the preparation of vegetable milk from the morro or jicara seed, and to characterize the products, the milk and the residue for their partial chemical composition and acceptability. From the ripe fruit, the seeds were obtained by maceration in water for 3.5 hrs, obtaining seed yields of 80%. This seed contained 38% fat and 26% protein on a dry weight basis. The harvested seed was then dehydrated to 9-12% moisture by exposure to solar energy. A similar lot was lightly roasted by heating on a hot surface for 10 min at 90-110°C. The seed was used for the extraction of solubles or the vegetable milk. Water extraction with up to 10 minutes of mechanical blending gave low yields of soluble solids (4.66 ± 0.10 to 4.98 ± 0.07 %) and low contents of fat, protein and ash in the extract with sun dried seed and significantly lower with the lightly roasted seed (3.0 ± 0.05 to 3.4 ± 0.03 %). Due to the low yields of total soluble solids and to the low nutrient content by aqueous extraction, new extractants were used consisting of buffer solutions at pH 7.8, or 8.5 with and without saline solution at 0.5% concentration. With these solutions greater amounts of solids were extracted with a higher content of nutrients. The milk prepared from the sun dried seed and extracted with buffer at pH 8.5 and saline solution (0.5%) gave an extract with 9.85% of total solids, 3.37% protein, 4.44% fat. The extraction with roasted seed gave significantly lower yields. The residue of the extraction contained 21.47% fat and 14.72% protein. With the use of buffers and saline solution the extracts had better acceptability, with the milk produced from sun dried seed having better organoleptic characteristics in comparison with soy milk (5.84 vs 3.76), however it was of lower acceptability when tested against cows milk (5.7 vs 7.7). The isoelectric point of the extracted protein was between 4-4.5.

Key words: *Crescentia alata*, morro fruit, vegetable milk, chemical composition, acceptability.

INTRODUCCION

Los recursos naturales, especialmente los originados de plantas y semillas que pueden ser utilizados con propósitos nutricionales e industriales, aún no han sido explotados eficientemente a nivel centroamericano. Con mucha frecuencia se puede observar que en diferentes países se prepara una variedad de comidas y bebidas (refrescos) a base de productos

nativos que tienen gran aceptación entre la población. En la mayoría de los casos, su gran popularidad no se debe a su alto valor nutritivo, sino más bien a los hábitos dietéticos prevalentes en la región y sobre todo, a las características organolépticas de los productos utilizados. En Guatemala, al igual que en otros países centroamericanos, se utilizan las semillas del fruto de morro o jícara para confeccionar refrescos o bebidas, principalmente la horchata, y como alimento para animales (1-3).

Los refrescos son preparados con la semilla de morro, ligeramente tostada o cruda, molida con arroz y canela, formando una pasta que posteriormente se bate con leche o agua, agregándole azúcar para formar así una horchata de olor y sabor característicos y muy agradable (1,3).

Estudios químicos y nutricionales (4,5) demuestran que la semilla de jícara es una fuente potencial de proteínas y aceite carente de toxicidad. En base a estos resultados se consideró de interés realizar el presente trabajo con el propósito de elaborar la leche de morro que es el extracto acuoso de la semilla del fruto del morro o jícara, la cual es una emulsión de color blanco que se parece a la leche de vaca.

El árbol de morro crece en forma silvestre, resemebrado por el ganado bovino al consumir el fruto voluntariamente y eliminar algunas semillas no digeridas (6). Se desarrolla bien en diversas localidades de alta temperatura, baja humedad relativa y baja disponibilidad de agua. Puede ser una especie adecuada para regiones secas en programas de reforestación.

La semilla de morro seca contiene 33.4% de grasa, 16.8% de fibra cruda y 25.1% de proteína (4,5) por lo cual la leche de semilla de morro podría constituir una fuente alterna de nutrientes para países donde la producción de leche de vaca resulta insuficiente y cara. Otro atributo muy importante que tendrá la leche de morro es su uso como un sustituto de leche para infantes alérgicos a la leche de vaca por la intolerancia a la lactosa.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Se utilizó el fruto de morro o jícara (*Crescentia alata*) proveniente del Departamento de Zacapa, Guatemala. Los frutos verdes fueron transportados a los laboratorios de la Universidad del Valle de Guatemala, donde se esparcieron sobre tablas de madera, dejándolos madurar al sol por un período de 15 días o hasta que se alcanzó el grado de madurez deseado.

Métodos

Obtención de la semilla

Las semillas del fruto de morro se obtuvieron por medio del método tradicional. En este método los frutos maduros son quebrantados con un martillo, la pulpa en forma esférica se depositó en barriles, luego fue majada con la mano, con lo cual desprendió las semillas dejándolas en remojo en agua por un período de 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 y 3.5 horas. Posteriormente al majado en líquido la pulpa se separó con ayuda de mallas colocadas en la superficie. Las semillas se depositan en el fondo del barril. El lavado se realizó varias veces para eliminar restos de la pulpa y los azúcares de la misma. A continuación, la semilla se colocó en canastos y se secó al sol por un período de 14 días o hasta que alcanzó una humedad entre 9 y 12%. La semilla seca se limpió con soplador y el lote de semillas se

dividió en dos. Una de las mitades se tostó ligeramente sobre una superficie a una temperatura entre 90-110° C por 10 minutos. Estas semillas, así como las otras fracciones del fruto, fueron analizadas químicamente por los métodos de la AOAC (7).

Balance de materiales en la obtención de las semillas

Se tomó al azar un determinado número de frutos enteros y cada uno fue pesado y quebrantado para separar las fracciones anatómicas del fruto. Luego se determinó el peso de cada uno de sus componentes: cáscara, semilla y pulpa

Elaboración de la leche (etapa 1)

La leche de morro se preparó a partir de las semillas secadas al sol y de las semillas ligeramente tostadas, siguiendo el procedimiento de Illinois (8) para grano de soya. Además, se realizó un balance de materiales para determinar el rendimiento de extracción.

A las muestras de leche de semilla secada al sol y semilla ligeramente tostada se les realizó los siguientes análisis por triplicado:

- a) cantidad de sólidos totales (7)
- b) porcentaje de grasa siguiendo la metodología del extracto etéreo (7)
- a) cantidad de proteínas, método MicroKjeldahl (7)
- b) determinación de minerales AOAC (7)
- c) análisis sensorial con 13 panelistas utilizando prueba de preferencia, escala hedónica de 9 puntos (9). Además se realizaron pruebas sensoriales de preferencia entre la leche de morro y leche de soya, como también con leche de vaca.

Efectos del uso de solución buffer y solución salina sobre la cantidad de sólidos y proteínas extraídas (etapa 2)

Se utilizó soluciones buffer de pH 7.8, 8.5, solución salina al 0.5% para llevar a cabo la extracción.

Determinación del efecto del pH sobre la solubilidad de las proteínas en la leche de morro

Para estos estudios se utilizó la leche de morro de la fase anterior y se procedió como se explica más adelante en la sección de resultados.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por ANDEVA con pruebas de Duncan y regresión lineal cuando se consideró necesario (10).

RESULTADOS Y DISCUSION

Balance de materiales

Los resultados del balance de las fracciones anatómicas en el fruto de morro o jícara se detallan en la Tabla 1, en la que se aprecian los pesos promedio de cada fracción. Las dos

fracciones de uso potencial son la pulpa, que representa el 34% del peso del fruto y la semilla, objeto del presente estudio, que representa el 23% del peso del fruto, calculado en base fresca. Estudios realizados por Gómez-Brenes y col. (11) en lo que se refiere a la distribución porcentual del fruto de morro entero, la pulpa más semilla constituyen el 55.7% y la cáscara 44.3% del peso promedio del fruto entero que era de 269.5 g. Según se aprecia, los porcentajes de distribución son muy similares a los determinados en esta investigación.

TABLA 1
Balance de materiales del fruto de morro o jícara en base húmeda

| Fruto de morro | Peso promedio (g) | Distribución porcentual |
|--------------------------------------|-------------------|-------------------------|
| Entero con cáscara | 302.21±27.68 | 100.00 |
| Entero sin cáscara (pulpa + semilla) | 172.98±16.06 | 57.24±2.95 |
| Cáscara | 129.23±13.56 | 42.76±3.05 |
| Pulpa* | 102.67±11.88 | 33.97±1.66 |
| Semilla | 70.31±3.44 | 23.26±1.43 |

*Obtenido por diferencia

Composición química

La composición química proximal del fruto de morro y sus fracciones anatómicas, pulpa y semilla se presentan en la Tabla 2. Según se observa, la humedad del material fresco es diferente para cada fracción, por lo que los resultados del análisis químico proximal se expresan en base seca. De las fracciones anatómicas, la semilla es la que contiene mayor cantidad de grasa (37.95±1.43%) y de proteína (26.41±0.48%). La pulpa contiene 4.55±0.19% de grasa, y de proteína 12.94±0.33%. La pulpa es la fracción que contiene la mayor cantidad de cenizas 8.10±0.56% y la semilla contiene 4.56±0.78%. En el fruto sin cáscara (pulpa + semilla) la semilla es la que aporta la mayor cantidad de grasa y proteína y la pulpa aporta la mayor cantidad de minerales al fruto sin cáscara.

TABLA 2
Composición química proximal de las fracciones anatómicas del fruto de morro (g/100 g en base seca)

| Componente | Pulpa + semilla | Pulpa | Semilla fresca |
|---------------------|-----------------|------------|----------------|
| Humedad | 68.71±1.12 | 71.67±0.69 | 41.66±0.90 |
| Extracto etéreo* | 18.36±0.82 | 4.55±0.19 | 37.95±1.43 |
| Proteína (N x 6.25) | 18.62±0.36 | 12.94±0.33 | 26.41±0.48 |
| Cenizas* | 6.85±0.91 | 8.10±0.56 | 4.56±0.78 |

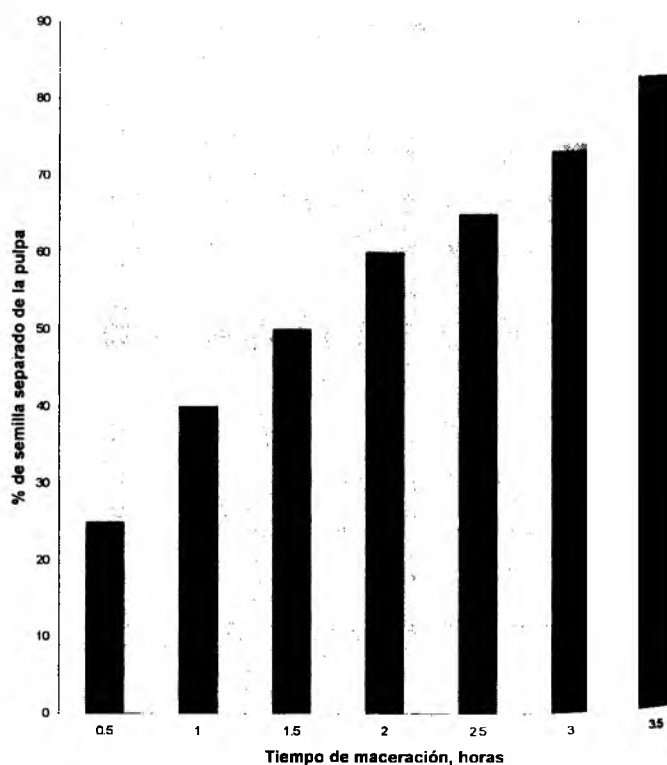
*Base seca

En las investigaciones realizadas por Gómez-Brenes y col. (5) la semilla contiene la mayor cantidad de grasa (36.2%) y de proteína (27.1%). La pulpa contiene 4.3% de grasa y 11.8% de proteína. De los otros compuestos, cenizas y carbohidratos, la pulpa es la fracción que contiene la mayor cantidad de ellos, 7.8 y 66.8 respectivamente, la semilla contiene 3.5 y 15.0%. Según se observa, las composiciones determinadas en esta investigación coinciden con las determinadas en ese estudio.

Separación de las semillas y de la pulpa por el método tradicional

Como se indicó anteriormente, se evaluaron 7 tiempos de maceración para la separación de la semilla de morro. En la Figura 1 se resumen los resultados aplicando diferentes tiempos de maceración a la pulpa con el objeto de romper la red que forma ésta y mantiene atrapadas a las semillas.

FIGURA 1
Efecto del tiempo de maceración del fruto de morro sobre el porcentaje de semilla



El porcentaje de separación de semilla se determinó decantando el líquido con la pulpa macerada y recolectando las semillas que se depositaban en el fondo del recipiente. Bajo estas condiciones, el mejor efecto de separación se obtuvo al mazar por un período de 3.5 horas. El rendimiento de semilla separada por este período fue del 80%, en contraste con las primeras separaciones con un rendimiento entre 25-60%.

La condición que se varió fue el tiempo de maceración. Se

podría lograr un mayor porcentaje de recuperación si se aumenta el tiempo de remojo, pues la maceración se facilitaría y se liberaría mayor cantidad de semillas, pero el proceso sería más tardado de lo que ya es.

Aunque el método da altos rendimientos de recuperación tiene las siguientes desventajas de ser costoso y tardado y el de no poder recuperar la pulpa.

En base a estos resultados se recomendaría la utilización de un método mecanizado, como el utilizado por Gómez-Brenes y col. (11). En este método se realiza un remojo en agua con el 1% de celulasa, con el objeto de hidrolizar la pulpa, por un período de 8 horas. Al final de éste se utiliza un pulpero, con lo cual se recupera el 100% de la semilla y la pulpa en forma de puré.

Las semillas obtenidas por las 7 pruebas fueron sometidas a varios lavados para eliminar los restos de pulpa y los azúcares de la misma. A continuación esta semilla se colocó al sol por un período de 14 días o hasta alcanzar una humedad entre 8-12%. Se logró llevar las semillas hasta un 8.47±0.81% de humedad y los contenidos de proteína, grasa y cenizas indicados en la Tabla 3. Las semillas ligeramente tostadas contenían una humedad de 5.80±0.37%, y los valores de grasa, proteína y ceniza indicados en la Tabla 3.

TABLA 3
Composición química proximal de la semilla de morro (g/100 g)

| Componente | Semilla secada al sol | Semilla ligeramente tostada |
|---------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Humedad | 8.47±0.81 | 5.80±0.37 |
| Extracto etéreo | 34.85±1.58 | 33.75±1.21 |
| Proteína (N x 6.25) | 25.69±0.36 | 27.73±0.43 |
| Cenizas | 4.58±0.22 | 4.93±0.34 |

Determinación de las condiciones para la elaboración de leche de morro

Para la elaboración de leche de morro se siguió el método de Illinois (8) en sus puntos principales: remojar en agua (semilla:agua =1:3), decantar, pesar, licuar (semilla:líquido =1:5), filtrar, medir volumen y pesar el residuo húmedo y seco.

En la determinación de las condiciones de elaboración se varió simultáneamente el tiempo de remojo (hrs) (4, 6 y 12), y tiempo de licuado (min) 4, 6 y 10, para una relación 12/4, 6/6 y 4/10, respectivamente manteniendo la relación líquido/semilla constante 5/1. Los datos de la semilla secada al sol se presentan en la Tabla 4.

TABLA 4
Análisis de la leche de morro

| Fuente de la leche | Extracción con agua (pH 7.3) Semilla secada al sol | | |
|------------------------------|---|-------------|-------------|
| | | | |
| Muestra, g | 100±0.05 | 100±0.05 | 100±0.05 |
| Tiempo de remojo | 12 h | 6 h | 4 h |
| Tiempo de licuado | 4 min | 6 min | 10 min |
| Líquido:semilla | 5:1 | 5:1 | 5:1 |
| Peso del drenado, g | 187.72±0.85 | 187.10±0.70 | 178.36±0.63 |
| Peso del residuo, g | 212.05±0.13 | 227.40±0.47 | 203.24±2.57 |
| Peso del residuo seco, g | 78.32±0.76 | 77.28±0.89 | 76.81±0.26 |
| Volumen de leche, ml | 450±4.56 | 430±2.66 | 440±5.37 |
| Litros/kg de sólidos | 4.5 - 5.0 | 4.3 - 5.0 | 4.4 - 5.0 |
| pH* | 6.50 | 6.50 | 6.40 |
| Sólidos totales, % | 4.66±0.10 | 4.69±0.03 | 4.98±0.07 |
| Grasa, % | 2.90±0.10 | 2.84±0.21 | 2.80±0.15 |
| Cenizas, % | 0.17±0.01 | 0.24±0.01 | 0.29±0.01 |
| Proteína, % | 1.08±0.02 | 1.11±0.04 | 1.28±0.05 |
| Rendimiento, %** | 21.14±0.61 | 20.68±0.22 | 22.58±0.56 |
| Media del análisis sensorial | 3.73 | 3.78 | 3.69 |

*Estable por lo menos 15 días

**Volumen extraído x % sólidos en leche/volumen extraído x % sólido total + g residuo seco x 100

No se encontró ninguna influencia sobre la extracción de sólidos totales, grasa, proteína y cenizas, así como en rendimiento al variar el tiempo de remojo (hrs) y tiempo de licuado (min) de 12/4 a 6/6 y 4/10, a pesar de un ligero pero significativo aumento en la semilla remojada por 4 hrs y licuada por 10 minutos. Similares condiciones de extracción aplicadas a semillas ligeramente tostadas dieron extracciones de 3.0 a 3.4% de sólidos totales. Debido al bajo porcentaje de sólidos, grasa y proteína en la leche preparada de la semilla ligeramente tostada no se presentan estos datos. Muy probablemente la tostación redujo significativamente la solubilidad de los componentes de la semilla, ya sea por denaturación de la proteína o por reacciones entre carbohidratos y proteínas. Esta observación es común en situaciones similares.

Las condiciones de extracción se modificaron con el fin de incrementar el porcentaje de sólidos totales y nutrientes de la leche de morro, utilizando semilla secada al sol, cambiando la relación líquido/semilla de 5/1 a 4/1.

En la Tabla 5 se muestra el promedio de los datos del análisis de la leche elaborada utilizando diversas soluciones de extracción. Se puede observar lo siguiente:

La cantidad de sólidos totales de las leches se encontró diferencia significativa entre las cinco muestras (F = 442.86 > F α3.48). La leche obtenida mediante extracción con solución salina 0.5% y buffer pH 8.5 fue la de mayor porcentaje de sólidos totales (9.8±0.32%), seguida por buffer pH 8.5 (8.7±0.04%), buffer pH 7.8 (6.3±0.03%), solución salina 0.5% (6.3±0.02%), y por último la extracción con agua de pH 7.3 con 5.9±0.01%.

TABLA 5
Análisis de la leche de morro extraída con diferentes soluciones

| | Semilla secada al sol | | | | |
|------------------------|-----------------------|------------------|------------------|----------------------|---|
| | Extracción | | | | |
| | Agua pH 7.3 | Buffer pH 7.8 | Buffer pH 8.5 | Soln. Salina 0.5% | Soln. Salina 0.5% + Buffer pH 8.5 |
| Muestra, g | 100 ± 0.05 | 100 ± 0.05 | 100 ± 0.05 | 100 ± 0.5 | 100 ± 0.5 |
| Tiempo de remojo, hrs | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Tiempo de licuado, min | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Líquido/semilla | 4/1 | 4/1 | 4/1 | 4/1 | 4/1 |
| Peso del drenado, g | 174.3±0.87 | 168.7±0.59 | 176.3±0.55 | 175.4±2.35 | 173.3±1.12 |
| Peso residuo, g | 198.1±1.49 | 178.3±4.47 | 206.7±3.91 | 228.4±6.86 | 190.1±1.73 |
| Peso residuo seco, g | 77.3±0.87 | 69.4±0.43 | 64.2±0.64 | 72.8±2.63 | 68.8±0.36 |
| Volumen leche, ml | 350±5.75 | 350±4.72 | 300±5.56 | 310±4.55 | 320±6.25 |
| PH * | 6.50 | 6.40 | 6.50 | 6.40 | 6.50 |
| Sólidos totales, % | 5.90.01 | 6.3±0.03 | 8.7±0.04 | 6.3±0.01 | 9.8±1.32 |
| Grasa, % | 3.3±0.15 | 3.4±0.21 | 4.1±0.15 | 3.4±0.18 | 4.4±0.21 |
| Cenizas, % | 0.28±0.02 | 0.37±0.01 | 0.47±0.01 | 0.34±0.01 | 0.57±0.01 |
| Proteína, % | 1.56±0.13 | 1.80±0.02 | 3.12±0.03 | 1.84±0.08 | 3.37±0.02 |
| Rendimiento, % | 21.0±0.45 | 24.2±0.21 | 28.9±0.22 | 21.0±0.38 | 34.9±0.69 |

*Estable por lo menos 15 días

La cantidad de proteínas mostró ser significativamente diferente para las diferentes condiciones de extracción ($F = 44.4 > F_{\alpha=3.48}$). Siendo la leche obtenida mediante extracción con solución salina 0.5% y buffer pH 8.5 la de mayor contenido de proteínas. Los porcentajes de proteínas en orden descendente fueron: solución salina 0.5% y buffer pH 8.5 (3.37±0.02%), buffer pH 8.5 (3.02±0.03%), buffer pH 7.8 (1.80±0.02%), buffer pH 8.5 (3.02±0.03%), buffer pH 7.8 (1.80±0.02%), solución salina 0.5% (1.84±0.08%) y por último agua de pH 7.3 con 1.56±0.13% de proteínas.

Los resultados del ANDEVA sobre el porcentaje de sólidos totales y proteínas revelan que se logra un aumento considerable en éstos al utilizar solución salina y buffer para llevar a cabo la extracción. Por lo tanto, el tratamiento con buffer y/o solución salina favorecen el rendimiento de sólidos totales y proteínas de la leche de morro. Además muestra que el tratamiento más adecuado es la combinación de solución salina y buffer de pH 8.5. Esto concuerda con los estudios sobre solubilidad de la proteína del fruto de morro (pulpa + semilla) realizados por Mendieta (7), pues al utilizar la solución salina se logra solubilizar a las globulinas y otras por el medio ligeramente básico, obteniéndose por lo tanto, un aumento en el porcentaje de proteínas solubles.

El rendimiento de extracción también se logra incrementar con las extracciones con buffer y/o solución salina. Se obtiene el rendimiento más alto al realizar la extracción con solución salina al 0.5% y buffer de pH 8.5. Correspondiendo el 34.91±0.69% a la leche de semillas secadas al sol. La cantidad de sólidos en la leche de morro es menor al de la leche de vaca, aunque contiene cantidades comparables de grasa y proteína.

Los rendimientos de residuo fueron menores lógicamente en las extracciones que produjeron mayor concentración de sólidos.

Se llevó a cabo un análisis químico proximal del residuo de la leche obtenida por extracción con solución salina al 0.5% y buffer de pH 8.5 cuyos resultados se describen en la Tabla 6. Según se observa, el residuo de la leche de semillas ligeramente tostadas contiene una mayor cantidad de proteínas (23.25±0.67%) y de grasa (25.31±0.32) que el residuo de las semillas secadas al sol (19.72±0.19%) de proteína y (21.43±0.32%) de grasa. Este subproducto es de interés para la industria de alimentos, pues es fuente de un aceite de digestibilidad casi del 100% y de proteína. Además puede ser utilizado como un sustituto de cereales para alimentación humana o animal, especialmente aves y como suplemento proteínico para raciones de cerdos y conejos.

TABLA 6
Composición química proximal del residuo* de extracción
g/100 g en base seca

| Componente | Semilla secada al sol | Semilla ligeramente tostada |
|----------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Humedad del material | 3.12±0.63 | 2.95 ±0.58 |
| Extracto etéreo | 21.43±0.46 | 25.31±0.32 |
| Proteína (Nx6.25) | 19.72 ±0.19 | 23.25 ±0.67 |
| Cenizas | 4.08 ±0.24 | 4.84±0.02 |

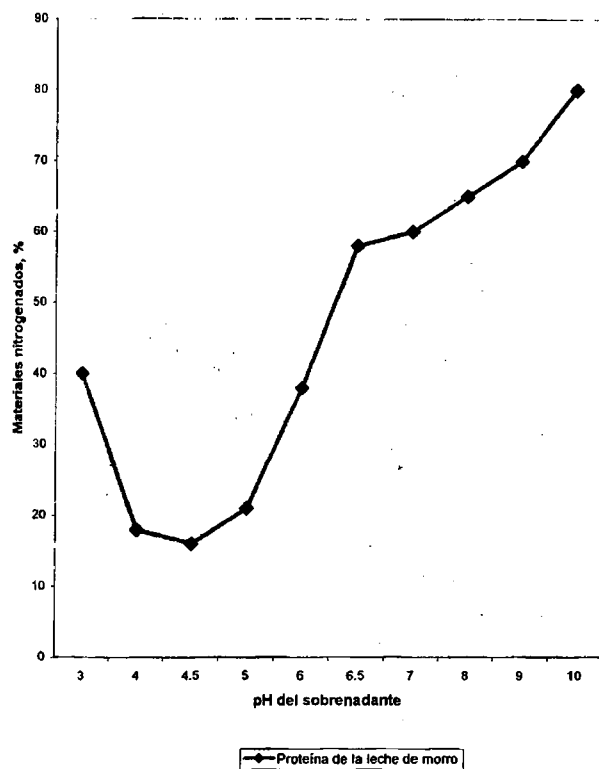
*Residuo de la extracción con solución salina 0.5% y buffer pH 8.5

Cabe mencionar que el residuo de la elaboración de leche de morro posee un contenido de nutrientes mucho mayor que el de la leche de soya. El residuo de la leche de soya reporta apenas un 3.2% de proteína y 1.7% de grasa, mientras el residuo de la leche de morro a partir de semillas secadas al sol reporta 19.72% de proteína y 21.43% de grasa.

Efecto del pH sobre sólidos solubles y proteínas de la leche de morro

Para esta prueba se utilizó la leche elaborada con semillas secadas al sol y extracción con solución salina al 0.5% y buffer de pH 8.5. Se agregó a la leche HCl 0.5 N o NaOH 0.5N para llevarla desde un pH 3 hasta un pH 10, centrifugando las muestras de cada pH para separar los materiales insolubles y analizar el nivel de proteína y sólidos solubles en el sobrenadante. Los resultados y condiciones de esta prueba se resumen en la Figura 2.

FIGURA 2
Solubilidad de la proteína de la leche de morro



En la Figura 2 se observa que entre pH 8 y 10 aproximadamente el 80% de las proteínas se encuentran en forma soluble. Sin embargo, la solubilidad decrece rápidamente en la región ácida, hasta encontrar entre pH 4 y 5 su menor solubilidad. El ANDEVA realizado muestra que existe diferencia significativa ($F = 669 > F \alpha = 2.3928$) entre el contenido de proteínas de cada sobrenadante. En base a la gráfica se deduce que la utilización de buffer es adecuada para la

extracción acuosa de proteínas, pues en la región básica se encuentra la mayoría de proteínas en forma soluble.

El comportamiento de los sólidos solubles con respecto a pH que no se presentan, fue similar al de la proteína o sea que a mayor precipitación de la proteína se encontraba menos cantidad de sólidos solubles en el sobrenadante. El ANDEVA realizado muestra que hubo diferencia significativa ($F = 33.95 > F \alpha = 2.3928$) en el porcentaje de sólidos de cada sobrenadante.

Aceptabilidad de la leche de morro

Prueba con leche de soya: Se realizó una prueba sensorial con leche de soya y las dos variedades de leche de morro con un panel entrenado. Esta prueba revela, tal como se muestra en la Tabla 7, que la leche de semilla secada al sol es significativamente más aceptada que las otras muestras, y la de semilla ligeramente tostada no fue significativamente más aceptada que la leche de soya, es decir, que la leche de semilla ligeramente tostada tiene una aceptación similar a la leche de soya. Para realizar esta prueba se elaboró, siguiendo el método de Illinois, leche de soya con la variedad Cristalina, que es la variedad que se cosecha en Guatemala.

TABLA 7
Prueba sensorial. Escala hedónica de 9 puntos

| | Leche de soya | Leche de vaca |
|---|---------------|---------------|
| Número de panelistas | 13 | 13 |
| Media de la leche referencia | 3.76 | 7.70 |
| Media de la leche de semilla de morro ligeramente tostada | 4.26 | 4.60 |
| Media de la leche de semilla de morro secada al sol | 5.89 | 5.70 |

*Muestras de la extracción con solución salina 0.5% y buffer pH 8.5.

Prueba con leche de vaca: Este análisis sensorial se realizó con el objeto de determinar cómo se encuentra la leche de morro en comparación con la leche de vaca, para lo cual se utilizó leche fluida de ganado Jersey. Los resultados de la prueba (Tabla 7) muestran que la leche de vaca es significativamente más aceptada que las otras muestras, y que la variedad de semilla secada al sol fue significativamente más aceptada que la leche de semilla tostada, que fue la menos aceptable. La leche de vaca obtuvo un puntaje de 7.7 («Gusta mucho») y la leche de morro de semilla secada al sol recibió un puntaje de 5.7 («Gusta ligeramente»), lo que es indicativo que con un proceso de elaboración tecnificado y llevando a cabo una formulación adecuada a los gustos locales se obtendría un producto con gran comercialización y de buenas características organolépticas y nutricionales.

Las dos pruebas sensoriales llevadas a cabo confirman nuevamente que la leche de morro con mejores características organolépticas es la de semilla secada al sol.

REFERENCIAS

1. Amaya H. Horchatas elaboradas en El Salvador. San Salvador, Imprenta Nacional. 1986;pp. 23-32.
2. Guzmán D. Especies útiles de la flora salvadoreña. Ministerio de Educación. San Salvador. Pp. 384-385.
3. Mendieta R. Evaluación química y nutricional de la pulpa y semilla del fruto de morro, sometido al proceso de secado en horno. Tesis Magister Scientifiae, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. INCAP/CESNA. Guatemala, 1985;44.pp.
4. Gómez-Brenes R y Bressani R. Evaluación nutricional del aceite y de la torta de la semilla de jícara o morro (*Crescentia alata*). Arch Latinoamer Nutr 1973;23: 225-243.
5. Gómez-Brenes R, Contreras I, Braham J y Bressani R. Evaluación química de harinas de morro o jícara (*Crescentia alata*) preparadas por ensilaje y/o deshidratación. Arch Latinoamer Nutr 1980;30:253-256.
6. Meyrat A. Pruebas preliminares de siembra directa de jícara (*Crescentia alata*) en sabana de vertisol. Nicaragua, Documento no publicado. 1985.
7. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Edited by S. Williams. Published by the AOAC, Inc. USA 1984;1015 p.
8. Nelson A, Seinberg M y Wei L. Illinois process for preparation of soymilk. J Food Sci. 1976.;41: 57-61.
9. Watts B, Ylimal G, Jeffery L y Elías LG. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Ottawa, Canada. 1988;170 p.
10. Mendehall W, Scheaffer R, Wackerly D. Estadísticas con aplicaciones. México. Grupo editorial Iberoamericano, S. A. de C. V. 1986;527-536; 700-709.
11. Gómez-Brenes R, Contreras I, Fernández B, Braham E y Bressani R. Estudios sobre la separación de la semilla de morro o jícara (*Crescentia alata*). Arch Latinoamer Nutr 1980;30: 336-352.

Recibido:17-08-1999

Aceptado:16-03-2000

Controles microbiológicos y puntos de control en una planta elaboradora de filete de merluza para exportación

Silvia Estevao Belchior, Oscar Héctor Pucci

Centro de Estudios e Investigaciones en Microbiología Aplicada (C.E.I.M.A.), Facultad de Ciencias Naturales.
Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

RESUMEN. En este trabajo se realizó un estudio de microorganismos indicadores y patógenos, a lo largo de la cadena de elaboración de filete de merluza para exportación. Se determinaron en ella los puntos críticos de control (P.C.C.), y las medidas preventivas y de control a aplicar durante la producción del alimento. Se recolectaron 45 muestras de pescado en distintas etapas de elaboración, 15 muestras de hielo y 12 de agua de lavado de utensilios. Se investigaron bacterias aerobias mesófilas, bacterias aerobias psicrótrofas, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, coliformes totales, coliformes fecales y se determinó la presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*. De los promedios de recuentos obtenidos durante los muestreos de la planta estudiada se observó que las bacterias aerobias mesófilas sufren un aumento en sus recuentos durante el fileteado manual y empaque, en relación a la carga bacteriana de la materia prima. Las bacterias psicrótrofas superaron en número a los otros grupos bacterianos, principalmente en las merluzas enteras. La incidencia de enterobacterias fue mayor en las muestras de materia prima, este grupo bacteriano no se encuentra naturalmente presente en merluza. No se detectó *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*. Este estudio permitió determinar riesgos microbiológicos y proponer acciones correctivas y de control para mejorar la calidad y seguridad del alimento.

Palabras clave: Control microbiológico, elaboración de merluza, puntos críticos de control.

SUMMARY: Microbiological controls and critical control points during "for export" hake fillets manufacturing process. Indicator and foodborne pathogens microorganisms in the "for export" hake fillets manufacturing were investigated in this study. Critical control points were identified and prevention activities and control were proposed during seafood elaboration process. 45 samples of hake from sequential processing operation stages, 15 ice samples and 12 water samples from utensil washing, were collected. The samples were analyzed for their content of aerobic mesophilic bacteria, psychrotrophic bacteria, enterobacteria, total and fecal coliform bacteria, *Staphylococcus aureus* and the presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Shigella*. The analysis of the samples collected from the factory revealed that the amounts of aerobic mesophiles bacteria increased during manual filleting and packaging, in comparison with raw material. Psychrotrophic bacteria were the predominant microorganisms, specially in hake samples. In addition, high levels of enterobacteria, which do not occur normally in fish, were detected in raw hake samples. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Shigella*, were not isolated from any samples in this study. The goal of this work is to establish microbiological risks in the hake fillets manufacturing process and, therefore to make possible corrective and control actions to assure the quality and safety of seafood.

Key words: Microbiological control, manufacture hake, control critical points.

INTRODUCCION

La merluza ampliamente distribuida en el Mar Argentino se presenta con una biomasa importante frente de la Provincia del Chubut, República Argentina (1-3). Por este motivo se instalaron en sus costas plantas procesadoras de merluza, dedicadas a la elaboración de productos pesqueros no solo para la venta local sino también para la exportación, haciendo de la pesca de la merluza uno de los recursos económicos principales y genuinos de nuestra región.

Las exigencias crecientes en cuanto a la calidad sanitaria de los alimentos, hace necesaria la implementación de buenas prácticas de elaboración y del Sistema de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos conocido internacionalmente como H.A.C.C.P. (4-7).

El H.A.C.C.P., es el enfoque moderno del control preventivo de los alimentos para lograr su inocuidad (8). Este sistema incluye siete principios que contemplan entre ellos: a) el análisis de riesgos con controles y monitoreos sistemáticos a lo largo de la cadena de elaboración, conservación y comercialización de un alimento y b) la determinación de los puntos críticos de control (P.C.C.) requeridos para controlar el o los riesgos identificados (7,9). Se define como riesgo, a un agente de naturaleza física, química y/o la supervivencia o crecimiento de microorganismos que afecten la seguridad del alimento o la producción inaceptable y/o la persistencia en alimentos de toxinas y productos indeseables del metabolismo microbiano (10). Los resultados del análisis del riesgo microbiológico, pueden ser usados para diseñar H.A.C.C.P. con la finalidad de prevenir riesgos para la salud y de deterioro

y/o como prevención y resolución de problemas diarios (11).

En este trabajo se realizó un estudio de microorganismos indicadores y patógenos, a lo largo de la cadena de elaboración de filete de merluza. Se determinaron en ella los puntos críticos de control (P.C.C.) y las medidas preventivas y de control a aplicar durante la producción del alimento.

MATERIALES Y METODOS

Descripción del sitio estudiado: La pesca de la merluza se realiza durante todo el año en el Golfo San Jorge, Provincia del Chubut, Argentina (1,2). Luego de la captura se almacena en cajones plásticos cubiertos con hielo, los cuales se apilan en la bodega del barco. La materia prima se traslada posteriormente a las plantas procesadoras.

Se trabajó en una planta elaboradora de filete de merluza para exportación, en la ciudad de Comodoro Rivadavia, Provincia del Chubut, Argentina, integrada por los sectores que figuran en el diagrama de flujo presentado en la Figura 1.

Se realizaron observaciones visuales de la planta para evaluar en forma preliminar, fuentes y modos de contaminación posible (12).

Describiendo brevemente las características de ésta planta, se observó que los sectores de fileteado manual y empaque se encontraban en ambientes separados. Los operarios contaban con las ropas protectoras reglamentarias (delantal, guantes y botas) y cada lugar de trabajo estaba provisto de agua corriente. El producto era empacado y congelado a -35°C para su posterior exportación.

Muestras y datos analizados: Se realizaron 3 campañas de muestreos en un período de tres meses. Se obtuvieron muestras de pescado en distintas etapas de elaboración: en los sectores cámara frigorífica, fileteado manual, empaque (13). Además se analizaron muestras de hielo (de cámara frigorífica y de silo de elaboración y almacenamiento) y agua para lavado de utensilios. En total se analizaron 45 muestras de pescado, 15 muestras de hielo y 12 muestras de agua.

Se registraron los datos de temperaturas ambientales y en porciones internas del alimento, durante las distintas etapas de procesamiento. Las temperaturas del alimento fueron medidas utilizando un termómetro, lavado previamente con dilución de alcohol al 70%.

Toma de muestra: Los pescados enteros se recogieron por medio de bolsas de polietileno individuales. Posteriormente se hisoparon en la superficie cubriendo 100 cm² (13).

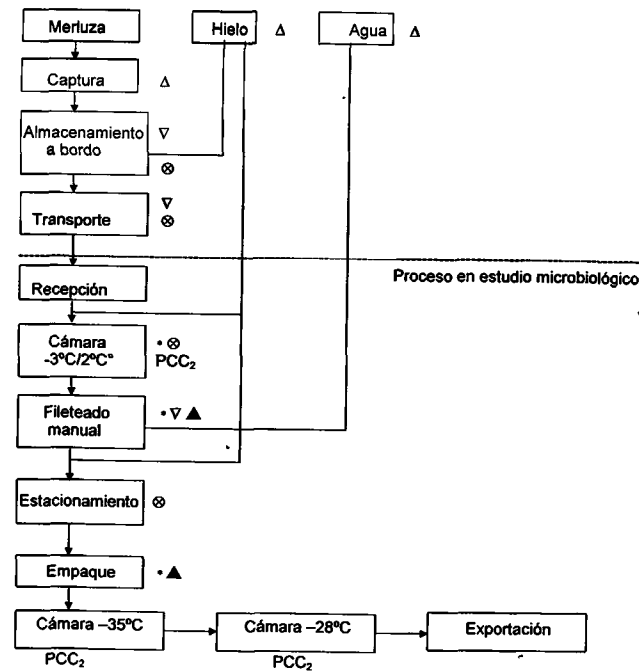
Los filets en las etapas de fileteado manual y empaque se recolectaron por medio de bolsas de polietileno. Pesándose de cada uno porciones de 10 g (13).

Las muestras de agua y hielo se recogieron individualmente utilizando colectores estériles.

Procesamiento de muestras: A cada muestra se le realizó recuentos para: bacterias aerobias mesófilas, bacterias aerobias psicrótrofas, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, coliformes totales, coliformes fecales y se determinó la presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*. Las determinaciones se realizaron de acuerdo a las normas de International Commission on Microbiological Specifications for Foods (I.C.M.S.F.) (14).

Los resultados de los recuentos bacterianos se transformaron a base logarítmica decimal y se realizó un análisis estadístico descriptivo. Además, a fin de determinar la distribución de las bacterias en distintos sectores de esta planta industrializadora de merluza, se realizó análisis de varianza (ANOVA) simple y multifactorial. En los test que revelaron diferencias significativas (p<0,05), se aplicó el método de Scheffé para determinar los lugares que introdujeron dichas diferencias.

FIGURA 1
Diagrama de flujo de alimentos en una planta elaboradora de filete de merluza



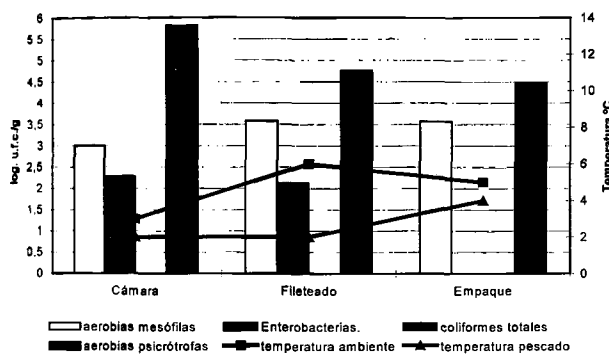
* Etapas controladas microbiológicamente.
 Δ Alimento o agua posiblemente contaminada con patógenos desde el principio.
 ∇ Probabilidad de contaminación con patógenos provenientes de la superficie de equipos utilizados para cortar, moler, transportar y almacenar.
 Δ Probabilidad de contaminación por un manipulador.
 ↓ Dirección del flujo.
 ⊗ Multiplicación probable de microorganismos.
 P.C.C.1 Etapa que controla completamente uno o más riesgos microbiológicos
 P.C.C.2 Etapa en que se minimizan los riesgos microbiológicos.

RESULTADOS

Durante el primer muestreo (Figura 2) el promedio de recuentos de bacterias aerobias mesófilas más bajo, se obtuvo en la cámara y los más altos en fileteado manual y empaque. No se observaron diferencias significativas entre los valores de la población mesófila de los productos de distintas etapas de elaboración.

FIGURA 2

Promedios de recuentos bacterianos por sector y curva de variación de temperaturas durante el primer muestreo



Se aislaron enterobacterias de muestras de materia prima obtenida en la cámara y en filet, no habiéndose comprobado diferencias significativas en la distribución de estos microorganismos entre las muestras analizadas. No se detectaron coliformes totales por el método de número más probable.

Las bacterias psicrotróficas superaron en número a los otros grupos bacterianos, el recuento promedio más alto de las mismas se obtuvo en la materia prima. Se determinaron diferencias altamente significativas entre los promedios de estos recuentos del producto de cámara y de los provenientes de otros puntos muestreados, diferencia que fue confirmada mediante el método de Scheffé.

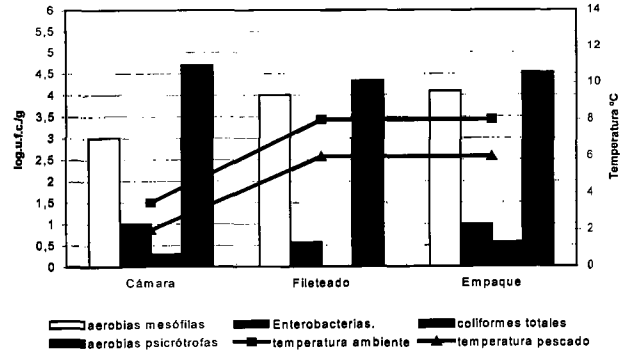
Se observó un aumento de la temperatura ambiente en el sector fileteado manual y empaque, al igual que en la temperatura del pescado en el sector empaque.

Durante el segundo muestreo (Figura 3), los recuentos más bajos de bacterias aerobias mesófilas, se observaron en pescado de cámara y los más altos en fileteado manual y empaque, existiendo diferencias significativas entre ellos. Por el método de Scheffé se diferenciaron dos grupos homogéneos, uno comprende el promedio de recuentos obtenidos en pescados del sector cámara con el menor valor y el otro comprende los valores de los promedios mayores obtenidos de productos de fileteado manual y empaque.

Las enterobacterias estuvieron presentes en el 50% de las muestras procesadas, los valores promedios obtenidos no presentaron diferencias significativas.

FIGURA 3

Promedios de recuentos bacterianos por sector y curva de variación de temperaturas durante el segundo muestreo



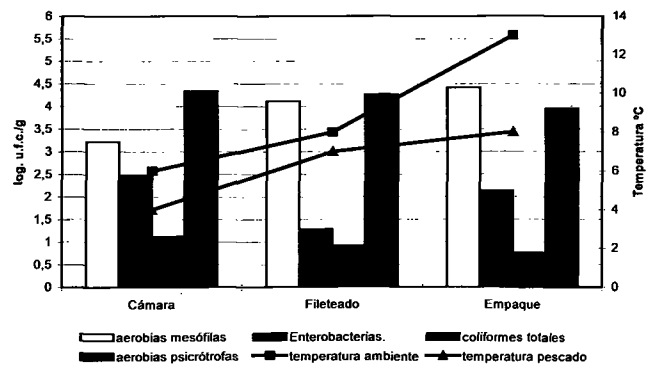
Las bacterias coliformes totales fueron detectados en el 40% de las muestras analizadas, no existiendo diferencias significativas entre los datos analizados.

Los promedios de recuentos de bacterias psicrotróficas fueron superiores en merluzas enteras. Así mismo no se observó variabilidad entre los recuentos de éstas bacterias en muestras de fileteado manual y empaque. Por el test de Sheffé los sectores se agruparon en dos grupos homogéneos uno constituido por muestras de cámara y otro por las muestras de fileteado manual y empaque.

Como se muestra en la Figura 4, los valores de promedios de bacterias aerobias mesófilas, obtenidos en el tercer muestreo, en pescados de cámara fueron menores que aquellos de productos de fileteado manual y empaque, determinándose diferencias significativas por el análisis de varianza.

FIGURA 4

Promedios de recuentos bacterianos por sector y curva de variación de temperaturas durante el tercer muestreo



Se estableció la mayor incidencia de enterobacterias, en muestras de cámara y empaque (corroborado esto con el test de Sheffé).

El promedio más alto de recuentos de coliformes totales se determinó en cámara, no se observaron diferencias significativas entre las muestras de los distintos sectores.

Los recuentos de bacterias aerobias psicrotróficas disminuyeron en relación a los otros muestreo, sin evidenciarse diferencias significativas entre los valores de recuentos en los distintos sectores.

Las temperaturas registradas alcanzaron el valor mayor en el sector empaque, observándose temperaturas superiores a los muestreos anteriores.

No se obtuvo desarrollo de coliformes fecales, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*, en ninguna de las muestras recolectadas.

Del análisis de las muestras de hielo, se aislaron enterobacterias, coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*, en el hielo que cubría los pecados o sus productos. No se obtuvo desarrollo de éstos microorganismos en el análisis de las muestras de hielo recién elaborado en la misma planta y almacenado en un silo.

En las muestras de agua para lavado de utensilios, obtenidas en distintos sectores de la planta elaboradora de filete de merluza, únicamente en dos desarrollaron bacterias coliformes totales.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los microorganismos pueden multiplicarse en los alimentos y su supervivencia, desarrollo o inactivación está influenciada tanto por algunos factores intrínsecos como extrínsecos. La pérdida de calidad y el deterioro de los productos de pesca son principalmente el resultado de la acción bacteriana y de la presencia de microorganismos patógenos. El pescado por sus características intrínsecas, actividad de agua: 0.98, pH: 6.8 y su composición (15), constituye un medio que favorece el desarrollo de bacterias en presencia de factores extrínsecos óptimos. Por éste motivo el pescado es un alimento perecedero de corto tiempo de vida comercial (13,15), lo que ocasiona pérdidas económicas para las empresas que intervienen en el comercio del mismo y no implementan buenas prácticas de elaboración.

Mantener la calidad microbiológica es importante, no solamente porque es un producto perecedero, sino también porque se incrementa la demanda del mismo (16).

La materia prima que ingresa a la cadena de elaboración del alimento, presenta una carga bacteriana inicial con características particulares que está condicionada inevitablemente por el proceso de captura, la manipulación inadecuada durante el transporte, la demora en la refrigeración, etc.. La calidad microbiológica de la materia prima puede ser marcadamente modificada por eventos posteriores de elaboración (11,17,18). Las diferencias entre las mediciones realizadas durante los muestreos de la planta estudiada, expone que las bacterias aerobias mesófilas sufren un aumento en sus recuentos duran-

te el fileteado manual y empaque, en relación a los obtenidos en materia prima de la cámara.

De la comparación de los datos de las tres campañas de muestreo realizadas, se establecieron diferencias significativas entre los recuentos de bacterias aerobias mesófilas y se determinó que en el segundo y tercer muestreo los valores promedios de recuento de éstas bacterias fueron más altos, hallándose el promedio mayor durante el último muestreo. Esta observación coincide, además, con el aumento de la temperatura ambiental y del pescado.

El recuento de bacterias aerobias mesófilas es uno de los principales criterios de aceptación de productos alimenticios (19) debido a que pone en evidencia la prácticas de procesado deficiente y es un indicador de vida útil (13,20). Por lo general la práctica de visceración, decapitado, fileteado y pelado deberían reducir en forma importante el número de microorganismos sobre el producto final. Esto depende de las precauciones de contaminación cruzada y adición de bacterias del ambiente en que se trabaja (17). Sin embargo, como consecuencia del fileteado se liberan jugos y restos de pescado, que crean un medio propicio para el desarrollo de bacterias si no son eliminados en forma conveniente. También, los cambios generados en el ambiente favorecen las condiciones para que los microorganismos se reproduzcan (21). La temperatura ambiental es uno de los factores extrínsecos importantes durante la elaboración de alimentos. El aumento de la misma hace que los filetes alcancen, durante el tiempo de elaboración, temperaturas cercanas a las ambientales (19). Por tal razón la temperatura ambiental debe ser continuamente controlada a lo largo de la cadena de elaboración con el fin de evitar el desarrollo sobremedido de microorganismos.

La incidencia de enterobacterias fue mayor en merluzas de cámara procesadas durante el 1° y 3° muestreo. En pescado entero no manufacturado, la contaminación por enterobacterias es significativa dado que en la microflora normal de los mismos no se encuentra este grupo de microorganismos, por ello su presencia es indicadora de contaminación a partir del entorno (19, 22,)

Es importante la acción de microorganismos psicrotrófos en el deterioro del pescado y por lo tanto la calidad del producto puede ser valorada, además, por la determinación de este grupo (13,23). En todas las muestras de merluza de cámara, los recuentos promedios de bacterias psicrotrófas establecieron diferencias altamente significativas en relación a las bacterias mesófilas. Estas bacterias aumentan debido a su poder competitivo, a bajas temperaturas, con las bacterias mesófilas.

En este estudio no desarrollaron *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*. Estos microorganismos son competidores pobres en condiciones de refrigeración y por lo general el pescado no es portador de patógenos, por este motivo está categorizado como un alimento sin peligro directo para la salud (13).

Es de destacar que los valores de recuentos bacterianos de las muestras analizadas se encuadraron dentro de los valores internacionales y los propuestos por distintos autores (13,19).

Por otra parte, las muestras de hielo de cajones con pescados enteros en cámara, demostró la contaminación con enterobacterias, bacterias coliformes totales y fecales. Este hallazgo puede ser uno de los factores que determina la contaminación del pescado entero con esos microorganismos, alterando la calidad bacteriológica del mismo durante el almacenamiento y la elaboración.

En base a los resultados de estos análisis microbiológicos, las mediciones de temperaturas y observaciones realizadas se determinaron los riesgos microbiológicos a lo largo de la línea de elaboración de filete de merluza, sugiriéndose en la Tabla 1 medidas preventivas y de control en cada etapa del proceso. Además, se establecieron los P.C.C. en el diagrama de flujo (Figura 1) para la elaboración de filete de merluza congelado y únicamente contemplan etapas que podrían minimizar los riesgos microbiológicos, sin controlarlos en forma absoluta (PCC₂) (10,24,17,25). Ellos son: La cámara en que se alma-

cena la materia prima, es un P.C.C.₂, debido a que en ésta etapa se minimizan los riesgos microbiológicos, si se controla la temperatura de la misma (manteniéndola por debajo de 7,8°C) y se agrega hielo sobre la materia prima de modo que la temperatura del pescado no sea mayor a los 5°C. Además es importante el control del tiempo de almacenamiento en la cámara, el mismo no debe superar los cinco días. Una pérdida del control de los criterios establecidos en ésta etapa, favorecerá la multiplicación de microorganismos que alteran la materia prima. La cámara de congelación y la cámara de mantenimiento del producto congelado se consideran P.C.C.₂, debiéndose controlar, para que los procesos sean efectivos, la temperatura y la disposición de la carga en ambos puntos. Un aumento de la temperatura, incrementa el riesgo de deterioro del producto ya elaborado. La temperatura de la cámara de congelamiento debería encontrarse en menos 35°C y la de mantenimiento del producto congelado a menos 28°C, considerándose importante que la disposición de la carga en ambos casos no interfiera en la distribución uniforme de la temperatura en las cámaras.

TABLA 1
Análisis de riesgos, medidas preventivas y de control en la elaboración de filete de merluza

| Sectores | Riesgo | Medidas preventivas | Medidas de Control |
|---------------------------------------|---|--|--|
| Recepción de materia prima | - Descomposición - Contaminación | -Normas que especifican condiciones de compra de materia prima. -Clasificación de materia prima | -Observación visual para descartar pescados en descomposición. -Control microbiológico de materia prima. |
| Cámara de almacenamiento | - Descomposición -Crecimiento de bacterias patógenas y deteriorantes. | -Mantener la temperatura de la cámara a 7,8°C o menor. -Agregado de hielo. -Mantener la temperatura del pescado a 5°C o menor. -Limpieza de cámara | -Control de la temperatura de cámara. -Control del tiempo de almacenamiento. -Control microbiológico del hielo. |
| Fileteado manual | -Contaminación cruzada a partir de superficies y manipuladores. -Contaminación con bacterias deteriorantes por la evisceración. -Desarrollo de bacterias deteriorantes. | -Mantener la temperatura ambiente a 8°C o menor. -Mantener la temperatura del pescado a 5°C o menor. -Limpieza de superficies con agua clorinada. -Capacitación del personal. -Buenas prácticas de elaboración | -Control de temperatura del pescado. -Control de temperatura ambiente -Control del tiempo de elaboración. -Control microbiológico de superficies y manos en forma periódica. |
| Empaque | -Desarrollo de bacterias. -Contaminación cruzada por manipulación. | -Mantener la temperatura ambiente a 8°C o menor. -Limpieza de superficies con agua clorinada. -Capacitación del personal. -Buenas prácticas de elaboración | -Control de temperatura del pescado. -Control de la temperatura ambiente. -Control microbiológico de superficies y manos en forma periódica. -Control del tiempo del proceso. |
| Cámara de Congelados | -Desarrollo de bacterias deteriorantes por aumento de temperatura. | -Mantener la temperatura a menos 35°C -Estibaje adecuado. -Limpieza de las cámaras. | -Control de temperatura de la cámara. -Control del estibaje de la carga. |
| Cámara de mantenimiento de congelados | -Desarrollo de bacterias deteriorantes por aumento de temperatura. | -Mantener la temperatura a menos 28°C -Estibaje adecuado. -Limpieza de las cámaras. | -Control de temperatura de la cámara. -Control del estibaje de la carga. |

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración en este trabajo del personal técnico del C.E.I.M.A.: Emilio Escobar, Francisca Alvarez y Mirta Leiva y a la Bioquímica Mabel Bak por la revisión del mismo.

REFERENCIAS

- Bambill G, Pérez M, Renzi M, Dato C, Wohler O, Cañete G, Bezzi S. Evaluación de merluza (*Merluccius hubbsi*) en la plataforma Argentina, entre 34° S y 48° S, en agosto y septiembre de 1993. INIDEP Inf. Tec. 1996;7: 21-68.
- Bezzi S y Dato C. Conocimiento biológico pesquero del recurso Merluza (*Merluccius hubbsi*) y su pesquería en la República Argentina INIDEP Doc. Cientif. 1995; 4:3-52.
- Prenski LB y Angelescu. Ecología trófica de la merluza común (*Merluccius hubbsi*) del Mar Argentino. Parte 3. INIDEP Doc. Cientif. 1993;1:1-118.
- Código Alimentario Argentino Actualizado. Tomo 1-b. Ed. De la Canal S.R.L. Anexo Normas Mercosur: 293-296
- Huss HH. Aseguramiento de la calidad microbiológica en la industria del pescado. Trabajo presentado en la consulta de expertos de FAO sobre Tecnología Pesquera en América Latina. Uruguay. Boletín CITEP Serie de Divulgación. 1992; Vol. 2. N°2.
- Michanie S. Enfermedades transmitidas por alimentos en Argentina. En Conferencia, V Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de Alimentos. Aguas de Lindoia, Sao Paulo, Brasil, 1998.
- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. Hazard analysis and critical control point principles and application guidelines. J Food Prot. 1998; 61(6):762-775.
- Mendoza S. Enfermedades transmitidas por alimentos en Argentina. En Conferencia, V Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de Alimentos. Aguas de Lindoia, Sao Paulo, Brasil, 1998.
- Newslow D. HACCP/ISSO 9000: Commonalities and Distinctions. Dairy, Food and Environmental Sanitation. 1997;17(3) :156-161.
- Bryan F. Another decision-Tree approach for identification of critical control points. J Food Prot. 1996; 59 (11):1242-1247.
- Hathaway S. Development of food safety risk assessment guidelines for foods of animal origin in international trade. J Food Prot. 1997; 60 (11):1432-1438.
- Schmitt R, Bryan FL, Jermini M, Chilufya EN, Hakaima A, Zyuulu M, Mfume E, Mwandwe C, Mullungushi E and Lubasi D. Hazards and critical control points of food preparation in homes in wich persons had diarrhea in Zambia. J.Food Prot. 1997; 60(2) :161-171.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Microorganismos de los Alimentos. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. (Vol. II), Ed. Acribia, Zaragoza, España. 1980.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Microorganismos de los Alimentos. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. (Vol. I), Ed. Acribia, Zaragoza, España. 1980.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Ecología Microbiana de los Alimentos (Vol. II), Ed. Acribia, Zaragoza, España. 1980.
- Garret ES, Jahncke ML and Tennyson J. Microbiological hazards and emerging food-safety issues associated with seafoods. J Food Prot. 1997;60 (11):1409-1415.
- Jermini M, Bryan FL, Schmitt R, Mwandwe C, Mwenya J, Zyuulu M, Chilufya EN, Hakaima A, Matoba A, Hakalima A and Mwanza M. Hazards and critical control points of food vending operations in a city in Zambia. J Food Prot. 1997; 60 (3):288-299.
- Liston J. Microbiology in fishery science. In Connell J.J.(ed), Advances in fish science and technology. Torry Research Station, Aberdeen, Scotland. 1981; Pag:138-157.
- Mossel DAA y Moreno García B. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 1985.
- Simmonds CK and Lamprecht CK. Correlation of microbiological status with organoleptic quality of chilled Cape hake. In Connell J.J.(ed), Advances in fish science and technology. Torry Research Station, Aberdeen, Scotland. 1981; pag: 297-299.
- Cox LJ. HACCP - Learning to live with microorganisms in food processing. In Course International: Advances in Food Microbiology. 1990; Organized by DAMyC, Asoc. Arg. Microbiol.
- Cox LJ, Keller N and van Schothorst M.. The use and misuse of quantitative determinations of Enterobacteriaceae in food microbiology. J App Bact Sym Supp: 1988;2375-2495.
- Mosffer M. Al-Dagal. Microbial safety and quality and protein integrity of shrimp sold in shops in Riyadh, Saudi Arabia. J Food Prot. 1996; 59 (9) : 988-991.
- Gianini DH, Boieri RI y Yeannes MI. Puntos críticos de control en la elaboración de productos pesqueros congelados. La Ind. Cár. Latinoam. 1987; 14 (67):35-39.
- Yeannes MI. Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control. Apunte para el desarrollo del I Curso Nacional de Tecnología Pesquera y Control de Calidad. Paraguay. 1991.

Recibido:09-11-1999

Aceptado:22-05-2000

Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas

María Luisa de Curtis, Olgamar Franceschi y Norma De Castro

Universidad Central de Venezuela. Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología y Parasitología, Caracas.

RESUMEN. El objetivo del presente trabajo ha sido determinar la calidad microbiológica de los alimentos servidos en comedores de empresas privadas. Se analizó un total de 620 muestras de alimentos en los que se determinó recuento de aerobios mesófilos (AM), mohos y levaduras, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* e investigación de *Salmonella*; se realizó el análisis microbiológico del agua, de los equipos, utensilios, ambientes, superficies, y personal. Se dan los resultados de los análisis realizados; en general se observa una elevada contaminación por *E. coli*. En vegetales crudos 76,2%, en cocidos 15,2%, en carnes de res y cerdo 15,9%, en aves 16,7%, en pescados 11,8%, en postres 27,3%, en equipos y utensilios 57,9%, en superficies y ambientes 53,6% y en operarios 21,9%. Estos resultados se evaluaron de acuerdo a criterios o límites de aceptación fijados. Los resultados obtenidos permiten concluir que estos alimentos deben estar sujetos a controles microbiológicos continuos y se considera que siguen siendo un factor de riesgo tanto el personal como las superficies y equipos.

Palabras clave: Calidad microbiológica, servicios de alimentación, alimentos.

SUMMARY. Assessment of foods microbiological quality in food-service establishments. The aim of this study was to evaluate foods microbiological quality in food-service establishments. A total of 620 food samples were obtained from four establishments and analyzed for aerobic mesophilic (AM), yeasts, moulds, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* counts and the presence of *Salmonella spp.* Drinking water, equipment, surfaces, environment and food handlers were also sampled. *E. coli* was found in raw vegetables (76,2%), cooked vegetables (15,2%), beef and pork (15,9%), poultry (16,7%), fish (11,8%), desserts (27,3%), equipments (57,9%), surfaces and environment (53,6%) and in 21,9% of food handlers. Survey results were compared with the recommended maximum microbial levels. Our results demonstrate the need for the adoption of more effective hygienic measures in this kind of establishment in order to avoid any risk to consumers.

Key words: Microbiological quality, food-services, foods.

INTRODUCCION

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) han sido consideradas como un grave problema de salud pública a escala mundial, donde los alimentos se reconocen como el vector principal de las enfermedades entéricas agudas. En el continente americano las ETA figuran entre las primeras cinco causas de muerte en los menores de 5 años, con una incidencia promedio anual de cuatro episodios diarreicos anuales por niño (1). Cada año aumenta el número de personas afectadas por ETA, causadas por la ingestión de alimentos mal procesados o pobremente manipulados o preparados (2,3). De acuerdo al Informe Trimestral del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social de Venezuela (4), durante el año 1997 se detectaron en el ámbito nacional un total de 55 brotes de ETA, los cuales involucraron un total de 1604 casos. Las ETA se ponen de manifiesto por diversos síntomas en los que se pueden incluir vómitos, diarrea, cólicos, dolores intestinales, fiebre y postración. Se considera por lo tanto que la mayoría de los alimentos son peligros potenciales para el consumidor, cuan-

do no se siguen las buenas prácticas de fabricación y por lo tanto no hay una manipulación adecuada de los alimentos en las diversas operaciones que se realizan previas al servido de los mismos.

En Venezuela, en la última década, se ha incrementado el número de comedores en las empresas, lo cual ha conllevado a que otras compañías sean las que realicen la fabricación de los alimentos en las cocinas de los diferentes comedores o en otros sitios. Las empresas establecidas en nuestro país que llevan a cabo el servicio de comidas varían en tamaño y alcance. Pueden ser consideradas pequeñas fábricas o establecimientos que sirven comidas por encargo y funcionan de forma similar a la producción de alimentos en cadena, hasta pequeñas unidades similares a cocinas caseras. El servicio masivo de alimentos preparados que están contaminados, conlleva no sólo a problemas de salud pública, sino que también se puede producir un impacto socioeconómico, ya que la actividad laboral puede verse reducida si se presenta un brote de enfermedades en los comedores donde se preste el servicio y además el prestigio de la empresa puede verse

comprometido por problemas de índole legal. Los programas de vigilancia realizados en otros países, han señalado en forma prominente a los alimentos servidos por este tipo de empresas, en la epidemiología de infecciones e intoxicaciones transmitidas por alimentos (5-7). Bryan (8) ha señalado los factores que han contribuido a los brotes de ETA y entre estos tenemos la refrigeración inadecuada, combinada frecuentemente con la preparación de alimentos mucho antes de ser servidos, el mantenimiento de los alimentos en calentadores con temperaturas que permiten el crecimiento de los microorganismos, las personas que manipulan los alimentos cocinados y el recalentamiento incorrecto de los alimentos previamente cocinados. La información disponible sobre la calidad microbiológica de los alimentos servidos en los comedores de empresas, no está claramente definida, ya que existen normas recomendadas que pueden variar de compañía a compañía y en otras oportunidades se les exige a los concesionarios que se ajusten a normas internacionales establecidas, como las de los servicios de comidas para la aviación.

En vista de lo antes señalado, se inició este estudio a finales de 1995 para analizar la calidad microbiológica de los alimentos servidos en cuatro comedores de empresas con un número de comensales diarios entre 500 y 1000, evaluarlos de acuerdo a límites de aceptación seleccionados sobre la base de estudios preliminares realizados y de algunas normas recomendadas (6), determinar las causas de la contaminación, dar ciertas recomendaciones para que se establezca la aplicación del sistema de análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP) (9,10) y contribuir al establecimiento de límites recomendados que permitan garantizar a los comensales de estos comedores la calidad sanitaria de los alimentos servidos, con el fin de evitar problemas de salud pública.

MATERIALES Y METODOS

Se tomaron 620 muestras al azar procedentes de cuatro comedores de empresas del área metropolitana, agrupadas como se señala en la Tabla 1. La selección de las muestras fue representativa de los diferentes menús y consistió en vegetales crudos (lechuga, repollo blanco y morado, zanahoria) y cocidos (papas, zanahorias, vainitas); en arroz blanco, carnes de res o cerdo, aves y pescado cocidos y postres. Adicionalmente se recolectaron muestras del agua, de los equipos, utensilios, superficies, ambientes y del personal.

Todas las muestras de alimentos se tomaron momentos antes de ser servidos; se recolectaron en bolsas plásticas estériles y se mantuvieron en refrigeración (2-7°C) hasta el momento de ser analizadas (1-3 horas). Se pesaron entre 150 y 300 gramos de cada alimento. El procesamiento de las muestras de vegetales crudos se realizó por la técnica del lavado (11). El resto de las muestras fueron procesadas siguiendo las técnicas descritas en el Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual (12), para

la realización del recuento en placas de agar de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus* y búsqueda de *Salmonella* spp. Para la numeración de *Escherichia coli* se usó el método del Número Más Probable, utilizando 3 tubos de caldo LMX (Fluorocult® Merck). Se realizaron diluciones seriadas en agua peptonada al 0,1%, desde 10⁻¹ hasta 10⁻⁸ de acuerdo al tipo de alimento. Paralelamente se realizó la numeración de aerobios mesófilos, mohos y levaduras utilizando placas específicas Petrifilm™, en las cuales se sembró 1 mL de las diferentes muestras. Los resultados de los recuentos se expresan en unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g). Se utilizó el medio de Rappaport-Vassiliadis (Merck) como medio de enriquecimiento para *Salmonella* y posteriormente, para el aislamiento, agar Rambach y agar Verde Brillante (BBL); para el recuento de *S. aureus* se utilizó el agar Baird-Parker (Difco). Las muestras de agua se procesaron de acuerdo a la técnica del Número Más Probable (NMP) para cinco tubos, descrita en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (13).

TABLA 1
Número de muestras procedentes de cuatro comedores de empresas agrupadas por tipo de alimento

| Comedor Nº | Vegetales | | Carnes | | | Arroz | Postres |
|---------------|-----------|---------|-----------|------|---------|-------|---------|
| | Crudos | Cocidos | Res/Cerdo | Aves | Pescado | | |
| 1 | 38 | 40 | 22 | 19 | 18 | 15 | 10 |
| 2 | 35 | 38 | 19 | 17 | 16 | 15 | 10 |
| 3 | 37 | 40 | 21 | 19 | 18 | 15 | 10 |
| 4 | 35 | 37 | 18 | 17 | 16 | 15 | 10 |

El análisis microbiológico de equipos, utensilios y superficies se realizó mediante la técnica del hisopado; para el ambiente, la técnica de la exposición de placas y para el personal, la de impresión directa de los dedos, utilizando diferentes agares selectivos: agar Levine (Difco) o MacConkey (Difco) y agar Baird-Parker (Difco). Se determinó presencia o ausencia de *E. coli* y *S. aureus*.

A las muestras de atún crudo se les determinó la concentración de histamina según la técnica de la AOAC (14).

Los resultados obtenidos se interpretaron de acuerdo a los criterios o límites de aceptación señalados en la Tabla 2, seleccionados sobre la base de estudios preliminares realizados y de algunas normas recomendadas (6). El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó utilizando los promedios; la significación se determinó mediante la prueba de ji cuadrado (χ^2) utilizando el valor de $p < 0,01$ como límite de la significación. Se utilizó el análisis de regresión en los recuentos de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, para calcular los coeficientes de correlación.

TABLA 2
Criterios para la evaluación microbiológica de la calidad de los alimentos servidos en los comedores estudiados

| Microorganismo | Límites |
|--|-------------------------|
| Bacterias aerobias mesófilas (alimentos crudos) | $< 1 \times 10^6$ UFC/g |
| Bacterias aerobias mesófilas (alimentos cocidos) | $< 1 \times 10^4$ UFC/g |
| Mohos | < 20 UFC/g |
| Levaduras | < 50 UFC/g |
| <i>Escherichia coli</i> (alimentos crudos) | < 100 /g |
| <i>Escherichia coli</i> (alimentos cocidos) | < 3 /g |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | $< 1 \times 10^2$ UFC/g |
| <i>Salmonella</i> | Ausencia en 25 g |

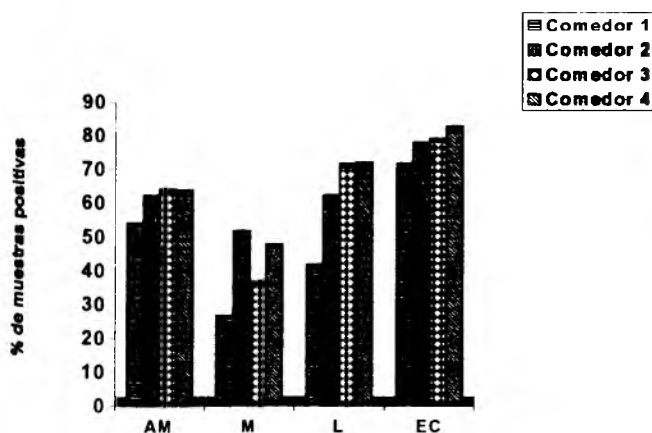
UFC/g: unidades formadoras de colonias por gramo de muestra. Límites establecidos en base a estudios preliminares y a normas recomendadas (6)

RESULTADOS

No se encontró diferencia significativa entre la metodología clásica y el uso del Petrifilm™ para el recuento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras ($r=0,98, 0,95$ y $0,92$ respectivamente); estos resultados concuerdan con los señalados por Beuchart y col. (15) y Ríos y col. (16).

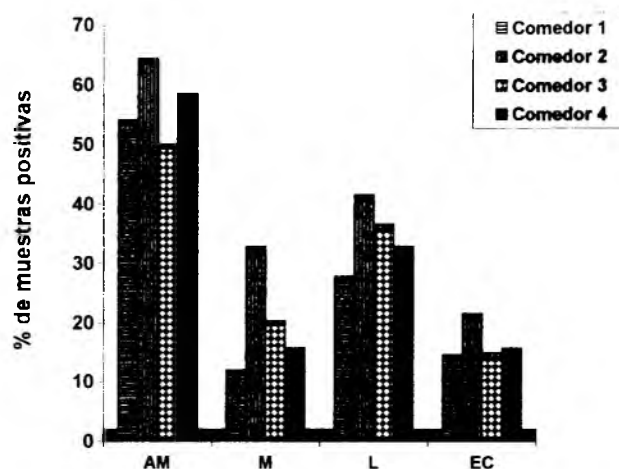
Basándonos en los límites establecidos en el presente trabajo, los resultados obtenidos (Figura 1) indican que en las muestras de vegetales crudos un promedio de 59,4% contenían aerobios mesófilos, un 39,0% mohos, un 60,2% levaduras y un 76,2% presentaron *E. coli*. Las muestras con aerobios mesófilos, mohos y *E. coli*, no fueron estadísticamente diferentes en los cuatro comedores ($p<0,01$); hay diferencia con relación a las levaduras entre el comedor 1 y los comedores 3 y 4 ($p<0,01$).

FIGURA 1
Presencia de aerobios mesófilos (AM), mohos (M), levaduras (L) y *E. coli* (EC) en vegetales crudos



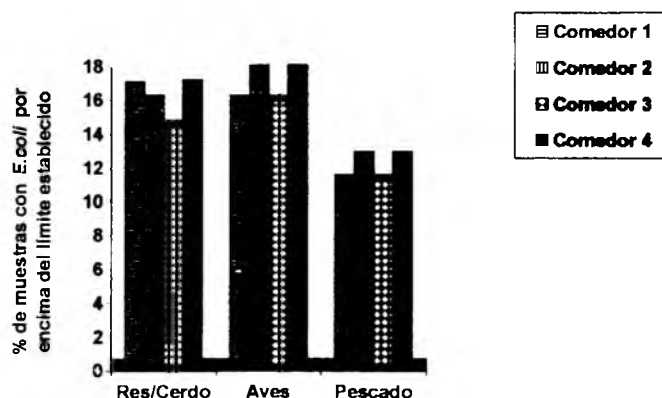
En cuanto a los vegetales cocidos (Figura 2), aunque la tendencia de las muestras con mohos y levaduras es menor que en los crudos, hay un porcentaje promedio de muestras con aerobios mesófilos (55,3%) y con *E. coli* (15,2%), por encima de los límites antes señalados; la presencia de esta última no se justifica ya que se trata de alimentos cocidos.

FIGURA 2
Presencia de aerobios mesófilos (AM), mohos (M), levaduras (L) y *E. coli* (EC) en vegetales cocidos



Los resultados que se muestran en la Figura 3, indican que en las muestras de carnes de res/cerdo un promedio de 15,9% contenían *E. coli* por encima del límite seleccionado; ésta también se encontró en un promedio de 16,7% de muestras de aves y 11,8% de pescados.

FIGURA 3
Presencia de *E. coli* por encima del límite establecido en carnes de res/cerdo, aves y pescado



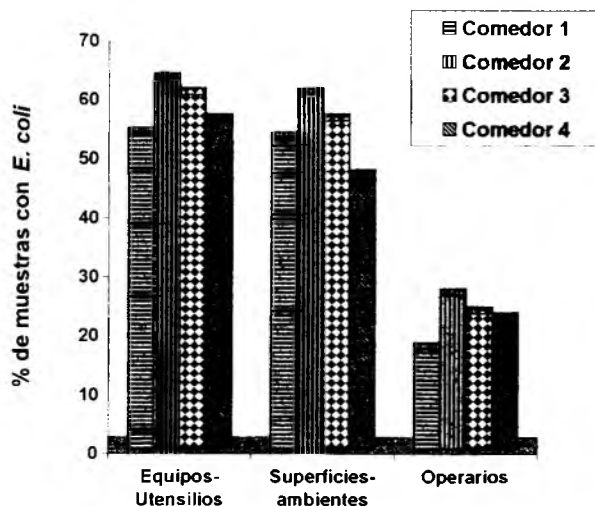
En las muestras de atún crudo (materia prima), se encontró que en el 25%, la histamina estuvo presente (entre 100 y 300 mg/100g) por encima de los límites recomendados; la Comi-

sión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) (17) refiere que la Administración Americana de Alimentos y Drogas (FDA) considera un nivel de histamina en atún ≥ 5 mg/100 como indicativo de manejo inapropiado del alimento y un nivel de 50 mg/100g como riesgo. En las oportunidades en que se sirvieron estos atunes, se observaron en el 4% de los usuarios síntomas asociados a histamina: mareos, sensación de quemazón, erupción o urticaria facial y sensación picante alrededor de la boca.

En el caso de las muestras de arroz se evidenció que un 60% tenían mohos fuera de los límites y un 40%, aerobios mesófilos y levaduras. No se evidenció *E. coli*. En el 27,3% de los postres, se encontró *E. coli* por encima de los límites fijados.

En la Figura 4 se indica el porcentaje de muestras que presentan *E. coli* en los equipos-utensilios, superficies-ambientes y en los operarios. En general, se observa que hay una alta (57,9%) contaminación por *E. coli* en los equipos y utensilios, y en el 53,6% de las superficies y ambientes. En los operarios se observó en el 21,9% de las muestras; consideramos que ésta es una de las mayores fuentes de contaminación en los alimentos analizados. Se encontró *S. aureus* en el 5,5% de los operarios en los que se les realizó muestreo.

FIGURA 4
Presencia de *E. coli* en equipos-utensilios, superficies-ambientes y operatorios



En los vegetales cocidos, en las carnes, aves y pescado, en los equipos-utensilios, superficies-ambientes y operarios las muestras con aerobios mesófilos, mohos y *E. coli* no fueron estadísticamente diferentes en los cuatro comedores ($p < 0.01$).

Todas las muestras de alimentos analizadas en este estudio, presentaron un recuento de *S. aureus* de $< 1,0 \times 10^2$ UFC/g, excepto tres (postres) que presentaron un recuento entre 1.3

y 2.4×10^8 UFC/g y se presentó un caso con síntomas característicos de intoxicación por este microorganismo. En nueve de las muestras de aves ensayadas se encontró *Salmonella spp*; ésta pudiera eliminarse de los alimentos crudos durante la cocción de los mismos, sin embargo debe tomarse en consideración que puede ser fuente de contaminación para las manos de los manipuladores y para el ambiente en el que se preparan los alimentos.

En las aguas analizadas, el recuento de coliformes fecales, totales y *E. coli*, fue de $< 1,8/100$ mL, lo cual indica que es un agua apta para el consumo humano, de acuerdo a los estándares microbiológicos venezolanos para agua potable (18).

DISCUSION

Existen peligros microbiológicos potenciales y diversos riesgos asociados con el almacenamiento y preparación de los alimentos en estos servicios de comida (8,19). La presencia de *E. coli* en las muestras, nos indica que el origen de esta contaminación es variable, siendo la manipulación inadecuada la causa más común (20). Con relación a los vegetales crudos, la presencia de *E. coli* señala que el lavado y la posterior manipulación fueron inadecuados; también podría deberse a contaminación cruzada durante el tiempo de almacenamiento previo al servicio (21).

Un mayor porcentaje de muestras de carnes de aves presentó carga microbiana (*E. coli*) en comparación con las de res o cerdo y pescado, aunque la diferencia no es significativa ($p < 0.01$). Los resultados obtenidos para las carnes en general, pueden atribuirse a la limpieza y desinfección deficientes de los envases donde se mantienen los alimentos antes de ser servidos; en efecto, se observó un elevado porcentaje de los equipos y utensilios utilizados, contaminados con *E. coli*, que contribuye a desmejorar la calidad microbiológica de estos alimentos (22). Para todos los tipos de carnes, los niveles de contaminación se incrementan con los adornos para la presentación de los alimentos, especialmente si se usan vegetales crudos, por lo cual es recomendable evitar esta práctica.

Consideramos que el porcentaje observado en los postres es debido a que estas muestras estaban conformadas por ensalada de fruta, en cuya preparación hay mucha manipulación por parte del personal.

En los equipos-utensilios y superficies-ambientes se evidenció un alto índice de contaminación por *E. coli*. Debido a que los análisis se realizaron después del proceso de higienización, se sugiere que no se está realizando una adecuada limpieza y sanitización de los mismos. Es importante señalar que ello es un factor de riesgo que puede contribuir a incrementar la probabilidad de transmisión de los microorganismos patógenos (8).

Se considera que la calidad microbiológica de los alimentos servidos en los cuatro comedores es inaceptable y debe mejorarse; sin embargo se dificulta debido a que uno de los aspectos más importantes que influye sobre la calidad, el

personal, es cambiado constantemente, bien sea por renuncia o por despido, por lo que se hace muy difícil el entrenamiento continuo del nuevo personal involucrado en la preparación y servicio de los alimentos.

Los criterios o límites microbianos que se han seleccionado para los alimentos que se sirven en este tipo de establecimiento, pudieran ser el punto de partida para mantener una adecuada calidad microbiológica, segura para el usuario desde un punto de vista de salud pública, sin que esto implique que no se pueda ser más exigentes, ya que en muchos casos depende del personal de supervisión, que dirige los procesos en la cadena de producción y servicio. Es por ello que consideramos impostergable el establecimiento de límites que permitan garantizar a los usuarios la calidad sanitaria de los alimentos servidos, con el fin de evitar las enfermedades transmitidas por alimentos, que han constituido recientemente un problema de salud pública en el ámbito nacional. También es imprescindible que se sigan manteniendo los controles microbiológicos de la calidad de los alimentos servidos en las empresas y la vigilancia epidemiológica de las ETA.

Debido a que en estos establecimientos no se observó la aplicación del sistema de HACCP, consideramos que es necesario ir manejando este concepto al servicio de comidas e ir diseñando los diagramas de flujo del proceso de preparación (23,24), estableciendo los puntos críticos de control lo cual permitirá monitorearlos con más facilidad, para tomar las acciones inmediatas con el fin de rectificar cualquier situación que se presente; para ello hay que contar con supervisores que estén bien entrenados y familiarizados con el sistema. Ello puede complementarse con la formación, entrenamiento y concienciación del personal involucrado y con su evaluación mediante inspecciones periódicas.

AGRADECIMIENTO

Las autoras agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela por el apoyo financiero de este trabajo.

REFERENCIAS

- Larrea F. Enfermedades transmitidas por alimentos. Boletín del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Dirección General Sectorial de Epidemiología. Dirección de Vigilancia Epidemiológica. 1998.
- Quevedo F, González S. Enfermedades transmitidas por alimentos. La Alimentación latinoamericana 1994; 203:52-60.
- Organización Panamericana de la Salud. Inocuidad y comercialización de alimentos frente a la epidemiología del cólera en las Américas. Buenos Aires, ed. OPS/FAO, 1992: 7-11.
- Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Informe Trimestral Brotes/Casos de ETA. Dirección Vigilancia Epidemiológica. 1997.
- Organización Panamericana de la Salud. Vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos: actividades regionales. Bol Of Sanit Panam 1991;111:277-9.
- Arango J, Agostini A, Silvestre A. Condiciones sanitarias de los comedores comunitarios del Conurbano de Buenos Aires, Argentina. Rev Panam Sal Pub 1997;2:225-31.
- World Health Organization. WHO Surveillance Programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe. Fourth Report 1983/1984. Berlin, Ed. Institute of Veterinary Medicine, 1990: 9-169.
- Bryan FL. Hazard analysis critical control point (HACCP) systems for retail food and restaurant operations. J Food Prot 1990; 53: 978-83.
- Ali AA, Spencer NJ. Hazard analysis and critical control point evaluation of school food programs in Bahrain. J Food Prot 1996; 59:282-6.
- Griffiths MW. Rapid methods with hazard analysis critical control point. J AOAC Inter 1997; 80:1143-50.
- Vanderzant C, Splittstoesser D. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd. Ed. APHA, 1992: 140-55.
- Food and Drug Administration BAM. Bacteriological Analytical Manual 8th ed. Arlington. Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed. Washington DC, The Association 1995: 944-52.
- Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 16th ed. Washington DC. The Association. 1997:14-7.
- Beuchart LR, Nail BV, Brackett RE, Fox TL. Evaluation of a Culture Film (Petrifilm™ YM) Method for Enumerating Yeasts and Molds in Selected Dairy and High-Acids Foods. J Food Prot 1990; 53:868-74.
- Ríos M, Novoa ML, Borges R, Miró A, Estrada M, Trombino V, et al. Comparación de recuentos obtenidos para aerobios mesófilos, mohos, levaduras y coliformes en alimentos utilizando métodos de cuantificación en placas, número más probable y películas secas rehidratables. Cartel presentado en el IV Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de los Alimentos. Primer Simposio Peruano de Conservación de los alimentos. Lima, Perú. 1996.
- ICMSF. Microorganisms in Foods. Fish and fish products. 1st Ed. Blackie Academic and Professional. London. 1998:130-89.
- De Castro N, De Curtis ML. Preservación en cosméticos: pieza clave de la calidad. Universidad Central de Venezuela. Vicerrectorado Académico, Caracas. 1997:165.
- Monge R, Arias M. Calidad microbiológica de alimentos vendidos en fiestas populares. Rev Cost Cienc Med 1991; 12:17-24.
- Michaine S. Calidad microbiológica de los alimentos vendidos en la calle. La alimentación latinoamericana. 1994; 203:66-72.
- Little C, Roberts D, Youngs E, De Louvois J. Microbiological quality of retail imported unprepared whole lettuces: a PHLS food working group study. J Food Prot 1999; 62:325-8.
- Michele LS, Pierson MD. Indicator microorganisms and microbiological criteria. En: Food Microbiology. Fundamental and Frontiers. MP Doyle, LR Beuchat y TJ Montville (Eds). Washington DC, ASM Press. 1997.

23. Barreiro J, Mendoza S, Sandoval A. Higiene y saneamiento en la preparación y servicio de alimentos. Universidad Simón Bolívar, Caracas 1994: 125-39.
24. Chisari M. Aplicación de un Sistema de Análisis de Riesgos (HACCP) para mejorar la calidad de tres menús servidos en el almuerzo del Comedor Universitario de la U.C.V. Trabajo especial de Grado para optar al título de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Central de Venezuela, 1994.

Recibido:23-06-1999

Aceptado:08-03-2000

Determinación de deoxinivalenol (DON) en trigo, cebada y maíz y su relación con los niveles de mohos totales, *Fusarium* spp., porcentaje de colonización y actividad de agua

Marelllys del Carmen Moreno Contreras, Amaury José Martínez Yopez y Rosa Raybaudi Martínez

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela.

RESUMEN. Cincuenta muestras de cereales incluyendo 30 de trigo (10 de trigo duro rojo de primavera, 10 de trigo suave rojo de invierno y 10 trigo durum ámbar), 10 de cebada y 10 de maíz (5 de maíz blanco y 5 de maíz amarillo) fueron analizadas para determinar mediante TLC los niveles de deoxinivalenol (DON), metabolito secundario tóxico producido por especies de *Fusarium*. El a_w de las muestras, la micoflora externa e interna y los niveles de *Fusarium* spp., fueron también investigados. Los resultados reflejaron que el mayor grado de infección (12-80%) y el mayor conteo de mohos totales (3,9 Log UFC/g) fueron detectados en trigo, mientras que los mayores niveles de *Fusarium* spp. (2,3 Log UFC/g) fueron detectados en maíz blanco. Deoxinivalenol fue detectado en trigo y cebada, pero no en maíz. Las muestras de trigo suave rojo de invierno presentaron los mayores niveles de DON (3,2 ug/g), estando este valor por encima de los límites permitidos por la FDA. No se encontró correlación entre los conteos de mohos totales, *Fusarium* spp., grado de infestación, a_w y niveles de DON. Estos resultados sugieren que hay que extremar las medidas de control a fin de evitar la importación de cereales contaminados.

Palabras clave: Cereales, deoxinivalenol, vomitoxina.

SUMMARY. Determination of deoxynivalenol (DON) in wheat, barley and corn and its relationship with the levels of total molds, *Fusarium* spp., infestation percentage, and water activity. Fifty samples of cereals including 30 of wheat (10 of wheat hard red spring), 10 of wheat soft red winter and 10 of wheat durum amber), 10 of barley and 10 of corn (5 of white corn and 5 of yellow corn) were analyzed to detect and determine by the TLC method, the quantity of deoxynivalenol levels, which is a toxic secondary metabolite produced by *Fusarium* species. The a_w of samples and the internal and external microflora and *Fusarium* spp. levels were also investigated. Results showed that the highest grade of infection (12-80%), and the highest count of total molds (3,9 Log UFC/g) were detected in wheat samples, while the highest levels of *Fusarium* spp. (2,3 Log UFC/g) were detected in white corn. Deoxynivalenol was found in the wheat and barley samples but not in corn. The wheat red winter soft samples showed the highest levels of deoxynivalenol (3,2 ug/g) which is over the limit levels accepted by the FDA. Correlation was not found among count of total molds, *Fusarium* spp., infestation grade, a_w , and deoxynivalenol levels. These results suggest that it is necessary to exert measures to avoid and to control the importation of contaminated cereals with DON levels higher to those allowed.

Key words: Cereals, deoxynivalenol, vomitoxin.

INTRODUCCION

Las micotoxinas son metabolitos tóxicos producidos por mohos, los cuales causan enfermedades en animales o humanos. La contaminación fúngica y la acumulación de micotoxinas pueden ocurrir antes o durante la cosecha así como también durante el almacenamiento (1).

Los tricotecenos son un grupo de metabolitos producidos por hongos estructuralmente similares, producidos por varias especies de *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Cephalosporium* y otros hongos. Esos compuestos han sido implicados en casos de intoxicación en animales y humanos. Los síntomas incluyen manifestaciones gastrointestinales y a veces neurológicas. Ejemplos de esos compuestos son deoxinivalenol (DON), más comunmente conocida como vomitoxina, toxina T-

2, toxina HT-2, nivalenol y scirpenol (2).

DON es uno de los 12-13 epoxitricotecenos tóxicos producido por varias especies de *Fusarium*, particularmente *F. graminearum*; y es además el tricoteceno hallado con más frecuencia en las cosechas de la mayoría de los países del mundo. Trigo, maíz y cebada son particularmente afectados (3). Trucksess y col., (4) analizaron muestras de trigo y cebada y señalaron que los niveles de DON en las 147 muestras de cebada variaron entre < 0,5 y 26 Ug/g mientras que los de las 483 muestras de trigo variaron entre < 0,5 y 18 Ug/g. Mossoba y col., (5) reportan la presencia de DON en cebada, maíz dulce y mezclas de alimentos para animales. Por otra parte Torres y col., (6) reportaron que el 10% de las muestras de trigo analizadas presentó DON en niveles que variaron entre 0,8 y 4,0 Ug/g.

El propósito de este trabajo fue determinar la relación entre los niveles de mohos totales, niveles de *Fusarium* spp., el grado de colonización, la actividad de agua y niveles de DON en granos de producción nacional como el maíz y granos importados como la cebada y el trigo a fin de conocer a través de esta pequeña inspección, si los niveles de esta micotoxina en este tipo de productos cumplen o no con los límites permitidos. Este estudio preliminar serviría como base para la realización de un estudio más amplio en nuestro país donde es escasa la información en este campo y se considera de gran importancia, ya que la presencia de esta micotoxina en los cereales, en niveles mayores a los límites permitidos, representa un riesgo para la salud de animales y humanos.

MATERIALES Y METODOS

Muestreo: Un total de 50 muestras de cereales que incluyeron 30 muestras de trigo importado (10 de trigo duro rojo de primavera (panadero), 10 de trigo suave rojo de invierno (galletero) y 10 de trigo durum ámbar (pastero)) fueron recolectadas empleando un calador de granos en los silos de almacenamiento de una empresa procesadora de trigo ubicada en Caracas (el tiempo de almacenamiento del trigo en los silos fue de 11 días para el trigo panadero, 2 a 3 meses para el galletero y 1 a 2 meses para el pastero); 10 muestras de maíz (5 de maíz blanco y 5 de maíz amarillo) y 10 muestras de cebada, adquiridos estos últimos dos tipos de cereales a nivel de mercado libre en Caracas, fueron analizadas preliminarmente en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela.

Determinación de la micoflora externa y niveles de *Fusarium* spp.: La determinación de la flora fúngica externa y los niveles de *Fusarium* spp. se realizó tomando 11 g de muestra y colocándolos en 99 ml de agua peptonada (0,1%), se realizaron diluciones seriadas a partir de esta primera dilución y se sembró en placas con agar Dicloran Cloranfenicol Peptona Agar (DCPA) desarrollado por Andrews y Pitt, (7). Las placas fueron incubadas durante 7 a 10 días a temperatura ambiente (25°C aprox.) y los datos son reportados como Log UFC/g de muestra.

Determinación de la micoflora interna: A fin de evaluar el grado de colonización se procedió a la desinfección de los granos con una solución de NaOCl (3%) durante 3 minutos y su posterior lavado dos veces con agua destilada estéril. Luego de eliminar la flora externa se colocaron 50 granos de muestra en placas de agar DCPA (10 granos por placa) incubándose posteriormente durante 7 a 10 días, a temperatura ambiente (25°C aprox.). Se contaron los granos colonizados y los resultados son reportados como porcentaje de colonización.

Identificación de mohos: Se aislaron tres colonias (a partir de las placas de cultivo) por muestra de cereal y se

guardaron en cuñas de agar extracto de malta, se procedió a su purificación para su posterior identificación mediante observación microscópica y macroscópica siguiendo la clave taxonómica propuesta por Samson y col., (8). En el caso de colonias sospechosas de *Fusarium* se realizó una inoculación mediante una punción en placas de agar extracto de malta, mientras que en el caso de los otros mohos se realizaron tres punciones por placa. Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente durante 7 a 10 días. Para la identificación se tomó una pequeña muestra del micelio del moho con parte del agar y se colocó sobre un portaobjetos donde se habían colocado previamente dos gotas de azul de algodón, luego se añadió una gota de alcohol (70%) y se colocó un cubreobjetos para finalmente observar al microscopio, donde se identificaron las diferentes estructuras.

Determinación y cuantificación de deoxivalenol

Extracción y participación: La metodología seguida para la extracción y purificación de la toxina fue la metodología indicada por Trucksess y col., (9) modificada por Fernández y col., (10). La muestra (molida) se sometió a un proceso de extracción con una mezcla acetónitrilo-agua (84+16), se mezcló, se filtró y se pasó por una columna de cromatografía previamente preparada (se colocó lana de vidrio y luego una mezcla de carbón, alumina y celite). En el caso del maíz, el filtrado fue desgrasado con hexano previamente antes de pasar por la columna de cromatografía. Se añadieron 5 ml de la mezcla acetónitrilo-agua (84+16), se aplicó vacío a la columna, se recolectaron en un beaker los eluatos y se evaporó el solvente hasta 1,5 ml, se transfirió a un vial y se evaporó a sequedad en una estufa a 50°C.

Cromatografía en capa fina (TLC): Se resuspendió el contenido del vial con metanol, alícuotas de las muestras y del estándar de vomitoxina fueron colocadas en placas de TLC. se desarrolló la placa con una mezcla de cloroformo-acetona-2 propanol (8 +1+1), se dejó secar al aire por 10 minutos, rociándola seguidamente con un spray de tricloruro de aluminio (AlCl₃) y colocándola en una estufa a 120°C por 7 minutos. Finalmente la placa fue observada bajo luz ultravioleta.

Determinación de la actividad de agua (a_w): La actividad de agua de las muestras se determinó por medio del Decagon CX-2, instrumento psicométrico que usa la técnica de enfriamiento de un espejo por efecto peltier. En el punto de rocío, la temperatura del espejo y de la muestra son registradas, repitiéndose el ciclo hasta que la a_w está cerca de 0,001 del valor previo.

Análisis estadístico: Los resultados fueron analizados utilizando el programa STATGRAPHICS 6.0 para determinar la existencia o no de una correlación entre los niveles de mohos totales, niveles de *Fusarium* spp., porcentaje de colonización, niveles de DON y la actividad de agua.

RESULTADOS Y DISCUSION

Determinación e identificación de la flora fungica: Los niveles de mohos totales de las muestras analizadas variaron entre < 2,00 a 3,90 Log UFC/g encontrándose los mayores niveles en trigo específicamente trigo pastero (2,00 a 3,90 Log UFC/g) y los menores niveles en maíz amarillo (< 2,00 Log UFC/g). En relación a la incidencia de *Fusarium* spp. los mayores contajes se encontraron en maíz blanco (2,30 Log UFC/g) y los menores en cebada y maíz amarillo (< 2,00 Log UFC/g). Estos resultados difieren de los señalados por Martínez y Alvarado, (11) quienes reportaron que en los sustratos evaluados (granos, semillas y harinas) encontraron que el 83,3% de las muestras de maíz y 57,1% del maíz descorticado presentaban niveles de mohos mayores a 10⁴ UFC/g, siendo este nivel mayor que los niveles encontrados por nosotros. Por otra parte al determinar el grado de colonización o la micoflora interna de las diferentes muestras se encontró que el mayor porcentaje de colonización lo presen-

taron las muestras de trigo (12-80%) siendo mayor el grado de colonización en trigo panadero que en el trigo pastero y galletero. En cebada y maíz los valores máximos de colonización fueron 4% y 8% respectivamente. Los resultados se muestran en la Tabla 1. Las principales especies de mohos identificadas en trigo, cebada y maíz se muestran en la Tabla 2. No se halló *Fusarium* spp. en las muestras de cebada, mientras que en las muestras de trigo y maíz se hallaron diferentes especies de *Fusarium*, sin embargo *F. graminearum* no fue hallado en ningún tipo de muestra. Estos resultados coinciden con los reportados por Torres y col., (6) quienes hallaron *Fusarium poae* y otras especies de *Fusarium* en muestras de trigo e indican una escasa contaminación de las muestras con *F. graminearum*. Asimismo coinciden con los reportados por Ramírez y col., (12) quienes señalan la presencia de diferentes especies de *Fusarium* en maíz, indicando que las principales especies halladas fueron *F. moniliforme*, *F. proliferatum* y *F. nygamai*.

TABLA 1
Niveles de mohos, grado de infestación y niveles de DON en muestras de trigo, cebada y maíz

| Tipo de muestra | Mohos totales (Log UFC/g) | <i>Fusarium</i> spp. (Log UFC/g) | Porcentaje de Colonización | Niveles de DON(ug/g) | Niveles de DON (ug/g) en muestras positivas (%) | a _w |
|-----------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------|----------------------|---|----------------|
| Trigo panadero | < 2,00a - 2,30 | < 2,00 | 42 - 80 | < 0,04b - 1,6 | Trazas - 1,6 (40 %) | 0,641- 0,697 |
| Trigo pastero | 2,00 - 3,90 | < 2,00 | 52 - 68 | < 0,04 - 1,6 | Trazas - 1,6 (20 %) | 0,601- 0,648 |
| Trigo galletero | < 2,00 - 2,60 | < 2,00 | 12 - 36 | < 0,04 - 3,2 | 0,4 - 3,2 (80 %) | 0,625- 0,650 |
| Cebada | < 2,00 - 2,30 | < 2,00 | 0 - 4 | < 0,04 - 1,6 | 1,0 - 1,6 (20 %) | 0,622- 0,663 |
| Maíz blanco | 2,00 - 2,47 | < 2,00 - 2,30 | 0 - 8 | < 0,1c | - | 0,620- 0,669 |
| Maíz amarillo | < 2,00 - 2,00 | < 2,00 | 0 - 4 | < 0,1 | - | 0,640- 0,644 |

a = < 2,00 Log UFC/g Nivel inferior al mínimo detectable por el método de siembra en superficie

b = < 0,04 ug/g Nivel inferior al mínimo detectable para trigo y cebada por el método utilizado

c = < 0,1 ug/g Nivel inferior al mínimo detectable para maíz por el método utilizado

Trigo panadero: trigo duro rojo de primavera

Trigo galletero: trigo suave rojo de invierno

Trigo pastero: trigo durum ámbar

En las muestras de cebada, la a_w varió entre 0,622 y 0,663, en maíz blanco entre 0,620 y 0,669 y los de maíz amarillo entre 0,640 y 0,644 respectivamente. No se encontró correlación (p > 0,05) entre los niveles de a_w, contenido de mohos totales, niveles de *Fusarium* spp. y el porcentaje de colonización, en ninguno de los tipos de muestras analizadas (trigo, cebada y maíz).

En todas las muestras analizadas los valores de actividad de agua eran lo suficientemente bajos como para no permitir el desarrollo de mohos toxinogénicos durante el almacenamiento. Esto nos lleva a concluir que los niveles de DON encontrados en las muestras son debido a una contaminación a nivel de campo o en alguna de las fases del proceso antes de ser almacenados.

CONCLUSIONES

Los niveles de DON encontrados en las diferentes muestras son debidos a una contaminación a nivel de campo más que a nivel de almacenamiento ya que no hubo correlación entre los diferentes parámetros evaluados y nos confirman que el hecho de que no esté presente el hongo micotoxinogénico no indica que la micotoxina no esté presente y viceversa. Asimismo estos resultados nos conducen a pensar que se deben extremar las medidas de control a fin de evitar la entrada a nuestro país de cereales contaminados con DON en niveles superiores a los permitidos por la FDA.

Los bajos niveles de mohos encontrados en las diferentes muestras analizadas nos sugieren que gran parte de ellos son

TABLA 2
Principales especies de mohos aisladas de trigo,
cebada y maíz

| | |
|---------------|---|
| TRIGO | <i>Fusarium poae</i> (7,8%) <i>F. sporothrichioides</i> (7,8%) <i>F. avenaceum</i> (7,8%) <i>F. acuminatum</i> (7,8%) <i>F. tricinctum</i> (5,2%) <i>F. solani</i> (5,2%) <i>Alternaria alternata</i> (5,2%) <i>Penicillium griseofulvum</i> (5,2%) <i>P. corylophilum</i> (2,6%) <i>P. glabrum</i> (2,6%) <i>P. chrysogenum</i> (2,6%) <i>P. funiculosum</i> (2,6%) <i>P. citrinum</i> (2,6%) <i>Mucor racemosus</i> (2,6%) <i>Aspergillus niger</i> (5,2%) <i>A. candidum</i> (2,6%) <i>A. flavus</i> (10,5%) <i>A. wentii</i> (2,6%) <i>Cladosporium macrocarpum</i> (5,2%) <i>C. sphaerospermum</i> (2,6%) <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (2,6%) |
| CEBADA | <i>Penicillium corylophilum</i> (25%) <i>Geotrichum</i> sp. (25%) <i>Aurobasidium pullulans</i> (25%) <i>Alternaria alternata</i> (25%) |
| MAIZ BLANCO | <i>A. flavus</i> (25%) <i>A. terreus</i> (12,5%) <i>P. citrinum</i> (12,5%) <i>P. corylophilum</i> (12,5%) <i>P. funiculosum</i> (12,5%) <i>F. sporothrichioides</i> (12,5%) <i>Fusarium</i> . sp. (12,5%) |
| MAIZ AMARILLO | <i>A. flavus</i> (25%) <i>A. penicillioides</i> (25%) <i>F. sambucinum</i> (25%) <i>F. subglutinans</i> (25%) |

eliminados antes del almacenamiento, sin embargo las micotoxinas ya formadas pueden permanecer en los granos como fue comprobado en este estudio. Por otra parte los altos niveles de DON encontrados nos indican que no hubo control a nivel de campo donde sospechamos que ocurrió la formación de la micotoxina.

AGRADECIMIENTOS

A la profesora Rosa V. Díaz de Tablante por su colaboración en la realización de los análisis estadísticos.

Al señor Rafael Alvarado por su amplia colaboración durante la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- Martínez AJ, Trucksess MW and Park DL. Analysis of Venezuelan corn for aflatoxin and *Aspergillus flavus* or *Aspergillus parasiticus* Contamination. En: Biodeterioration Research 1. Gerald C. Llewellyn and Charles E. O'Rear (Ed.). Plenum Publishing Corporation. 1987, p. 111-118.
- Childress WL, Krull IS and Selavka CM. Determination of Deoxynivalenol DON, Vomitoxin in Wheat by High-Performance Liquid Chromatography with Photolysis and Electrochemical Detection (HPLC-hv-EC). J Chromatogr Sci. 1990;28:76-82..
- Trucksess MW, Ready DWE, Pender MK, Ligmond CA, Wood GE and Page SW. Determination and Survey of Deoxynivalenol in White Flour, Whole Wheat Flour, and Bran. J Assoc Off Anal Chem. 1996;79 (4): 883-887.
- Trucksess MW, Thomas F, Young K, Stack ME, Fulgueras WJ and Page SW. Survey of Deoxynivalenol in U. S. 1993 Wheat and Barley Crops by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. J Assoc Off Anal Chem. 1995;78 (3):631-636.
- Mossoba MM, Adams S and Roach JAG. Analysis of Trichothecene Mycotoxins in Contaminated Grains by Gas Chromatography/Matrix Isolation/Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. J Assoc Off Anal Chem. 1996;79 (5):1116-1123.
- Torres A, Ramírez ML, Reynoso M, Combina M, Dalcero A y Chulze S. Incidencia de Deoxinivalenol y *Fusarium graminearum* en trigo. Segundo Congreso Latinoamericano de Micotoxicología (libro de resúmenes, R 78), 1997.
- Andrews S and Pitt JI. Selective Medium for Isolation of *Fusarium* Species and Dematiaceous Hyphomycetes from Cereals. Appl Environ Microbiol. 1986;51(6):1235-1238.
- Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC and Filtenborg O. «Introduction to food-borne fungi». Published and Distributed by Centraalbureau voor Schimmelcultures. The Netherlands. Fourth edition. 1995.
- Trucksess MW, Nesheim S and Eppley RM. «Thin layer chromatographic determination of Deoxynivalenol in Wheat and Corn». J Assoc Off Anal Chem. 1984;67 (1):40-43.
- Fernández C, Stack ME and Musser SM. Determination of Deoxynivalenol in 1991 U. S. Winter and Spring Wheat by High-Performance Thin-Layer Chromatography. J Assoc Off Anal Chem. 1994;77 (3): 628-630.
- Martínez AJ and Alvarado RA. An Evaluation of four Mycological Media for Enumeration of Mold and Yeast in Grains and Seeds. En: Biodeterioration Research 1. Gerald C. Llewellyn and Charles E. O'Rear (Ed.). Plenum Publishing Corporation. 1987, p.165-174.
- Ramírez ML, Torres A, Reynoso M y Chulze S. «Incidencia de especies de *Fusarium* (sección *Liseola*) y fumonisina en maíz cultivado en el sur de la provincia de Córdoba, Argentina». Segundo Congreso Latinoamericano de Micotoxicología (libro de resúmenes, R 104), 1997.

Recibido:09-01-1999
Aceptado:03-05-2000

Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela

Pedro Izquierdo Córser, Gabriel Torres Ferrari, Yasmina Barboza de Martínez, Enrique Márquez Salas y María Allara Cagnasso

Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias. La Universidad del Zulia, Estado Zulia, Venezuela.

RESUMEN. Doce especies de pescado (armadillo, bocachico, cachama, carpeta, corvina, lisa, mero, merluza, pargo, robalo, tilapia y trucha) fueron estudiadas para determinar su composición proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y minerales. El análisis proximal: humedad, proteínas y cenizas se realizó siguiendo la metodología recomendada por la AOAC, grasa por el método de Bligh y Dyer, ácidos grasos por Cromatografía de Gases, aminoácidos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución y minerales por fotocolimetría. Los resultados indicaron que el contenido de humedad varió entre 70,49% para el armadillo y 78,64% para el mero, la proteína entre 18,70% para la merluza y 25,53% para el armadillo y las cenizas entre 0,94% para el mero y 2,13% para la carpeta. La grasa varió entre 1,12% para el pargo y 6,15% para la cachama. Se encontró el predominio de ácidos grasos poliinsaturados de la serie -3. En todas las especies se observó la presencia de los aminoácidos esenciales estudiados. Las especies tilapia (10,938 g/100 g de pescado), bocachico (9,231 g/100 g de pescado) y mero (8,738 g/100 g de pescado) presentaron el mayor contenido de aminoácidos esenciales. El mineral que se encontró en mayor proporción fue el fósforo con 322,22 mg/100 g de pescado para la merluza, seguido por el calcio con 79,33 mg/100 g de pescado para la carpeta. Se concluyó que las especies de pescado estudiadas son una fuente importante de proteínas, ácidos grasos de la serie $\omega 3$ y minerales.

Palabras clave: Pescado, análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales, minerales, Venezuela.

SUMMARY. Proximal analysis, fatty acids profile, essential aminoacids and mineral content of twelve fish species of commercial importance of Venezuela. Proximate composition, fatty acid profile, essential aminoacid and minerals were determined in twelve fish species (armadillo, bocachico, cachama, carpeta, corvina, lisa, mero, merluza, pargo, robalo, tilapia and trucha). Proximate analysis: moisture, protein and ash, were performed using AOAC methodology, fat by Bligh and Dyer method, fatty acids by Gas Chromatography, aminoacid using High Performance Liquid Chromatography and minerals by spectrophotometric method. Results showed that moisture varies between 70.49% for Armadillo and 78.64% for Mero, protein between 18.70% for Merluza and 25.53 for Armadillo, ash between 0.94% for Mero and 2.13% for Carpeta and fat between 1.12% for Pargo and 6.15% for Cachama. Unsaturated fatty acids ($\omega 3$) were the most common found for all the species. Essential aminoacids studied were present in all the species. Tilapia (10.938 g/100 g of fish), Bocachico (9.231 g/100 g of fish) and Mero (8.738 g/100 g of fish) shown greater content of essential aminoacids. Phosphorous was the most concentrated mineral with a mean value of 322.22 mg/100 g of fish followed by calcium with 79.33 mg/100 g of fish. It was concluded that all studied species are an excellent source of protein, $\omega 3$ fatty acids and minerals.

Key words: Fish, proximate analysis, fatty acid profile, essential aminoacid, minerals, Venezuela.

INTRODUCCION

El pescado es uno de los alimentos más completos por la calidad y cantidad de nutrimentos que aporta: una ración promedio de 100 gramos cubre más del 50% de la ingesta diaria de proteínas recomendada por la FAO (1), estas proteínas son de elevado valor biológico, con una digestibilidad superior al 80% y una eficiencia proteica similar o superior a la del patrón caseína (2); entre un 10-20% de minerales, cantidades variables de vitaminas hidrosolubles y un porcentaje importante de las vitaminas liposolubles A, D y E (2,3). Su

contenido de grasa es muy variable, depende de la especie, el ciclo de maduración sexual, la disponibilidad de alimentos y de los hábitos alimenticios del pescado (4). Respecto a los minerales la carne de pescado se considera una fuente valiosa de calcio y fósforo, así como también de hierro y cobre, los peces de agua salada tienen un elevado contenido de yodo y un bajo contenido de sodio que lo hace apropiado para regímenes alimenticios hiposódicos (5).

Al pescado se le atribuyen una serie de beneficios para la salud, llegando a recomendarse su inclusión como parte de una dieta balanceada. Estudios realizados en diversos países: Japón, Holanda y Alaska (6-8) han sugerido una relación

inversa entre el consumo de pescado y el desarrollo de enfermedades trombóticas.

La grasa del pescado tiene elevados niveles de Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI) de la serie $\omega 3$ y $\omega 6$, destacan el ácido eicosapentanoico, 20:5 $\omega 3$ y el ácido docosahexaenoico, 22:6 $\omega 3$, que se encuentra ausente en vegetales superiores (9), de enorme importancia como constituyentes de las membranas celulares (3). Algunos estudios han evidenciado que los ácidos grasos de la serie $\omega 3$ reducen marcadamente los niveles de triacilglicéridos plasmáticos (10), a diferencia de los ácidos grasos de la serie $\omega 6$, como el ácido linoleico, que no solamente tienden a disminuir los niveles plasmáticos de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), sino también la fracción de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) reduciendo de esta forma su efecto antiaterogénico (11-13).

El valor nutritivo del pescado se puede establecer por diferentes parámetros, los más frecuentemente considerados son el contenido de proteína, los niveles de aminoácidos esenciales y el perfil de ácidos grasos. Asimismo, es necesario determinar la concentración de minerales, tales como calcio, hierro, magnesio, manganeso y fósforo, cuyas concentraciones pueden ser variables de una especie a otra (2).

En Venezuela la actividad pesquera ha venido registrando un progresivo incremento en los últimos años, las cifras indican que para el año 1990 se alcanzó una producción de 320.000 TM (14). En la actualidad constituye un renglón vital de la economía agrícola nacional, que ha llevado al país a ocupar una posición importante entre los productores latinoamericanos, con una producción anual cercana a 400.000 TM (15). La cuenca del Lago de Maracaibo, con una extensión de 89.756 Km², tiene cinco hoyas hidrográficas importantes, con una producción heterogénea en especies marinas, estuarinas y dulceacuícolas que para el año 1994 alcanzó la cifra de 54.024 TM, una parte de esta producción es destinada a la exportación a países como Colombia, Estados Unidos y Japón (16). Las principales especies capturadas en el Lago de Maracaibo son: corvina (*Cynoscion sp.*), lisa (*Mugil sp.*), bocachico (*Prochilodus reticulatus*) y bagre (*Sorubim sp.*) (16).

Con la finalidad de fortalecer la plataforma de la actividad pesquera nacional, se hace necesario el desarrollo de investigaciones que sirvan de soporte para establecer la importancia que desde el punto de vista nutricional tienen las especies de pescado de Venezuela; sin embargo, a pesar de lo anteriormente expuesto, la información acerca de los valores nutricionales y composición química de las especies que se consumen en el país es escasa. Entre los estudios realizados, Ortiz (17) describió el perfil de ácidos grasos de quince especies de pescado de elevado consumo en el país, Ortiz y Bello (18) reportaron la composición de ácidos grasos de la pulpa de cachama (*Colossoma macropomum*) y sardina (*Sardinella anchovia*), encontrando que el Ácido Graso Monoinsaturado (AGMI) predominante en ambas especies fue el ácido oleico (18:1). De los AGPI reportaron un predo-

minio de la serie -6 en la cachama y de la serie $\omega 3$ en la sardina.

El presente trabajo tiene como objetivos: Determinar la composición proximal, el perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y los valores de algunos minerales presentes en doce especies de pescado de elevado consumo e importancia comercial en el estado Zulia y otros estados de Venezuela.

MATERIALES Y METODOS

Recolección y preparación de las muestras de pescado

Se adquirieron en el comercio local de la ciudad de Maracaibo, doce pescados de cada una de las siguientes especies: armadillo (*Hypostomus watwata*), bocachico (*Prochilodus reticulatus*), cachama (*Colossoma macropomum*), carpeta (*Eugerres plumieri*), corvina (*Cynoscion maracaiboensis*), lisa (*Mugil curema*), mero (*Epinephelus striatus*), merluza (*Merluccius albidus*), pargo (*Lutjanus buccanella*), robalo (*Centropomus undecimalis*), tilapia (*Oreochromis sp.*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*), esta última fue adquirida en la Estación Truchícola del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, ubicada en el Parque La Mucui, estado Mérida. La clasificación taxonómica se realizó utilizando claves de identificación para cada especie (19). Se realizaron seis muestreos de dos pescados frescos de cada especie, eviscerados, con un peso y talla uniforme, que se colocaron en una cava de anime con hielo, para ser trasladados al Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad del Zulia.

Todos los pescados se pesaron completos y se procedió a quitar sus escamas y piel con un cuchillo estéril, posteriormente se realizó un corte profundo en la región muscular entre las agallas y la cola y se extrajeron porciones musculares en forma de filetes de aproximadamente dos centímetros.

Determinación del análisis proximal

A cada una de las muestras se le realizó el análisis proximal según los métodos recomendados por la Sociedad Oficial de Química Analítica (AOAC) (20): humedad por secado a 110°C durante 24 horas en una estufa marca Memmert®, proteínas (N x 6,25) por el método de Macro-Kjeldahl, cenizas por combustión a 450°C durante 12 horas en una mufla marca Memmert® y grasa por el método propuesto por Bligh y Dyer (21).

Determinación del perfil de ácidos grasos

Un volumen de 1,5 ml del extracto lipídico evaporado al cual se le adicionó 0,5 ml de hexano, fue derivatizado con 100 μ l de hidróxido m-trifluoruro metil fenil trimetil amonio (Meth Prep II Altech®), para la transmetilación de los ácidos grasos presentes (22).

Los ácidos grasos fueron determinados en un Cromatógrafo de Gases Shimadzu® GC-14B, equipado con un inyector split/splitless, con una columna capilar de sílica fundida Omegawax Supelco® 320 (30 m/0.25 mm id/0.25 μ m) y un

detector de ionización a la llama. El volumen de inyección fue de 1 µl, por duplicado. Las condiciones cromatográficas fueron: temperatura del puerto de inyección 260°C, temperatura del detector 250°C, temperatura inicial del horno 200°C durante 4 minutos, aumentados progresivamente hasta 240°C (10°C/min). Se utilizó el nitrógeno como gas transportador a un flujo lineal de aproximadamente 25 cm/seg. Los tiempos de retención y áreas de los picos se procesaron utilizando el software Shimadzu® Shim-Pack Class-VP. Para la identificación de los ácidos grasos se compararon los tiempos de retención de las muestras con la mezcla de estándares de referencia PUFA-1, Marine Source Supelco® Cat. No. 4-7033, diluida en hexano, de concentración 50 mg/ml. Los ácidos grasos se cuantificaron a través de una relación porcentual de las áreas de los picos con el área total. Todos los reactivos utilizados en las extracciones fueron grado reactivo y en la separación cromatográfica, grado HPLC.

Determinación del perfil de aminoácidos

Las muestras fueron hidrolizadas a 110°C durante 22 horas en ácido clorhídrico (HCl) 6N, neutralizadas y su pH ajustado a 2,2 con buffer citrato 0,02 N. Luego se aforó el volumen a 100 ml con el mismo buffer; una alícuota de 10 ml fue filtrada a través de un filtro Millipore® de 0,45 µm de poro. Los hidrolizados fueron derivatizados usando orto-ftalaldehído. Para el análisis de los aminoácidos se utilizó un Cromatógrafo Líquido marca Shimadzu®, integrado por dos bombas LC-6A, una columna Alltex Ultrasphere ODS de 12,5 cm y partículas de sílica de 5 µm de diámetro, y un detector de fluorescencia FLC-6A. El flujo fue constante a 1 ml/min. Para la preparación de los solventes, así como el gradiente se utilizó el método propuesto por Umagat y Kucera, 1982 (23) modificado por Torres y col, 1994 (24). La identificación y cuantificación de los aminoácidos se realizó por comparación con los tiempos de retención del estándar AA 18 Sigma®.

Determinación de minerales

Las muestras fueron incineradas en una mufla marca Memmert® a 450°C durante 12 horas; las cenizas se disolvieron en 10 ml de ácido nítrico concentrado y su volumen fue ajustado con agua bidestilada y desionizada a 50 ml, según la metodología descrita por la AOAC (20). A la solución ácida de cenizas se le analizaron los siguientes minerales: Ca, P, Mn, Fe y Mg por fotolorimetría utilizando un sistema de análisis Spectroquant marca Merck® SQ 118 (Cat. No. 14720), basado en la disminución de la intensidad de un haz de luz monocromática cuando pasa a través de una solución coloreada; la concentración de la solución diluida es medida a través de la intensidad de luz absorbida. Los minerales se analizaron separadamente, utilizando soluciones estándares de 1 g/L de Ca (Cat. No. 19778), Fe (Cat. No. 19781), Mg (Cat. No. 19788), Mn (Cat. No. 19789) y P (Cat. No. 19898) Merck®.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SAS PROC GLM (25). Se utilizó el análisis de varianza para detectar si existen diferencias entre las medias. Se utilizó el procedimiento de Duncan (26) para comparar las medias. Las diferencias fueron consideradas con un nivel de probabilidad de 5%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis proximal

En la Tabla 1 se presenta el análisis proximal de las doce especies de pescado estudiadas; se observó una variación significativa del porcentaje de humedad, proteína y grasa por efecto de la especie. El agua fue el componente más abundante, con porcentajes entre 70,49% para el armadillo y 78,64% para el mero. Este elevado contenido de humedad favorece el crecimiento microbiano y las reacciones enzimáticas que conllevan al rápido deterioro del alimento si no se almacena en condiciones adecuadas (1,4).

TABLA 1
Composición proximal (g/100 g) de doce especies de pescado (base húmeda)

| Especie | Humedad | Proteína | Grasa | Ceniza | Humedad/ Proteína |
|-----------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------------|
| Armadillo | 70,49b | 25,53b | 2,53b | 1,20ab | 2,76b |
| Bocachico | 72,47b | 22,82ab | 2,17b | 1,73 ^a | 3,18ab |
| Cachama | 70,73b | 21,43 ^a | 6,15 ^a | 1,63 ^a | 3,30ab |
| Carpeta | 73,89b | 20,48 ^a | 2,73b | 2,13 ^a | 3,60b |
| Corvina | 76,95 ^a | 20,73 ^a | 2,11b | 1,90 ^a | 3,71b |
| Lisa | 71,09b | 21,17 ^a | 6,03 ^a | 1,53 ^a | 3,36ab |
| Mero | 78,64 ^a | 19,73 ^a | 1,68b | 0,94b | 3,99b |
| Merluza | 77,21 ^a | 18,70 ^a | 1,82b | 1,53 ^a | 4,12 ^a |
| Pargo | 76,72 ^a | 20,99 ^a | 1,12b | 1,33ab | 3,66b |
| Robalo | 77,12 ^a | 21,61 ^a | 1,66b | 1,60 ^a | 3,57b |
| Tilapia | 72,36b | 23,34ab | 2,26b | 1,94 ^a | 3,10ab |
| Trucha | 77,06 ^a | 20,86b | 1,50b | 1,30ab | 3,69b |

Medias en una misma columna que posean diferentes superíndices difieren significativamente ($p < 0,05$).

El porcentaje de proteínas varió entre 18,70% para la merluza y 25,53% para el armadillo. Estos valores son tan elevados como los encontrados en la carne de bovino, 20 a 22%, pollo 20% y cerdo 19 a 20% (27). Al calcularse la relación humedad/proteína, o índice de jugosidad; se obtuvieron valores entre 4,12 para la merluza y 2,76 para el armadillo, con un promedio de 3,50, similar a los obtenidos en otros tipos de carnes: pollo 3,5, vacuno y oveja 3,6 y cabra 3,8; sin embargo es ligeramente inferior a los reportados en otras especies de pescado, de 4,4 (28). Una relación humedad/

proteína elevada indica que la carne es jugosa por lo que es de mayor aceptación para el consumidor y refleja la posibilidad de elaboración de subproductos a partir de carne de pescado, por ejemplo productos curados (28).

El contenido de grasa varió entre 1,12% del pargo y 6,15% de la cachama. Las especies: lisa y cachama, mostraron un porcentaje de grasa superior al 3%, considerándose pescados de mediano contenido graso (29). El resto de las especies presentó porcentajes de grasa inferiores al 3%, constituyendo pescados magros. En general las especies estudiadas presentan bajo contenido de grasa, si los comparamos con otras especies de pescado que presentan porcentajes elevados, tales como anguila (*Anguilla anguilla*), 24,5%, merluza de Alaska (*Anoplopoma fimbria*), 15,2%, caballa (*Scomber scombrus*), 11,9%, salmón atlántico (*Salmo salar*), 13,6%, entre otras (4,30).

La sumatoria del porcentaje de grasa y de humedad fue aproximadamente 80%, este valor se corresponde con los reportados por otras fuentes (3,8), se ha sugerido una relación inversa entre la grasa y la humedad, de manera que si el contenido de humedad es elevado, el porcentaje de grasa disminuye. En el presente estudio, las especies que mostraron el mayor contenido de agua: mero, merluza, robalo, trucha y

corvina, presentaron el menor contenido de grasa; sin embargo, las especies armadillo y cachama, con similares porcentajes de humedad, mostraron diferencias significativas en el contenido de grasa, de 2,53% en el armadillo y superior al 3% en el caso de la cachama y la lisa.

El contenido de cenizas varió entre 0,94% para el mero y 2,13% para la carpeta, valores similares a los encontrados en otros alimentos ricos en proteínas que forman parte de la dieta humana, tales como huevos, leche, carne de bovino, pollo y cerdo (1,6).

Perfil de ácidos grasos

En la Tabla 2 se presentan los valores promedio del perfil de ácidos grasos de las doce especies de pescados estudiadas. Las especies con mayor cantidad de Ácidos Grasos Saturados (AGS) fueron: robalo y carpeta con 49,0%, lisa con 50,2% y mero con 51,7%, mientras que las especies que presentaron menor contenido de AGS fueron la tilapia con 6,5%, corvina con 25,6%, trucha con 29,3% y el bocachico, el cual no presentó niveles detectables de AGS. Los AGS encontrados en mayor cantidad fueron el mirístico (41,5%) en el armadillo, el palmítico en la merluza (47,5%), robalo (41,6%) y lisa (40,8%), y el estearico en la carpeta (49,0%).

TABLA 2
Perfil de ácidos grasos (g/100 g de grasa) de doce especies de pescado

| Acido Graso | A | B | CA | CP | CO | L | ME | MO | P | R | T | TR |
|-----------------|------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 14:0 | 41,5 | n.d | n.d | n.d | 2,3 | 7,5 | 4,2 | 2,1 | 4,3 | 3,7 | 6,5 | 3,4 |
| 16:0 | 2,7 | n.d | n.d | n.d | 23,3 | 40,8 | 47,5 | 35,2 | 29,4 | 41,6 | n.d | 25,9 |
| 18:0 | 2,2 | n.d | 30,6 | 49,0 | n.d | 1,9 | n.d | 2,7 | 3,4 | 3,7 | n.d | n.d |
| Total AGS | 46,4 | n.d | 30,6 | 49,0 | 25,6 | 50,2 | 51,7 | 40,0 | 37,1 | 49,0 | 6,5 | 29,3 |
| 16:1 | 7,4 | n.d | n.d | n.d | 4,9 | 17,9 | 17,6 | 16,6 | 7,4 | 14,1 | 13,9 | 9,9 |
| 18:1 ω 9 | 11,9 | n.d | n.d | n.d | 16,4 | 1,7 | 11,9 | 8,9 | 16,9 | 12,9 | n.d | 23,6 |
| 18:1 ω 7 | 3,0 | 25,5 | n.d | n.d | 5,8 | 14,8 | n.d | 15,1 | 4,7 | n.d | n.d | n.d |
| 20:1 ω 9 | 6,6 | 44,9 | n.d | n.d | n.d | 0,9 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d |
| 22:1 ω 1 | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | 3,2 | n.d | n.d | n.d | 4,2 |
| Total AGMI | 28,9 | 70,4 | n.d | n.d | 27,1 | 35,3 | 29,5 | 43,8 | 29,0 | 27,0 | 13,9 | 37,7 |
| 18:2 ω 6 | 8,6 | 8,8 | 32,8 | 23,9 | 5,6 | 1,3 | n.d | n.d | 1,2 | 4,3 | 47,4 | 12,6 |
| 18:4 ω 3 | 14,8 | 13,3 | n.d | 12,9 | n.d | 3,8 | n.d | n.d | n.d | n.d | 18,4 | n.d |
| 20:5 ω 3 | 1,3 | 7,5 | 19,6 | 4,4 | 12,3 | 4,3 | n.d | 3,1 | 5,6 | n.d | 5,4 | 2,0 |
| 22:5 ω 3 | n.d | n.d | 7,1 | n.d | 3,0 | 2,6 | 18,6 | 1,7 | 3,9 | 19,4 | 4,2 | n.d |
| 22:6 ω 3 | n.d | n.d | 10,0 | 9,6 | 27,3 | 2,6 | n.d | 11,7 | 23,3 | n.d | 5,0 | 18,4 |
| Total AGPI | 24,7 | 29,6 | 69,5 | 50,8 | 48,2 | 14,6 | 18,6 | 16,5 | 34,0 | 23,7 | 80,4 | 33,0 |
| Total AGI | 53,6 | 100,0 | 69,5 | 50,8 | 75,3 | 49,9 | 48,1 | 60,3 | 63,0 | 50,7 | 94,3 | 70,7 |
| AGI/AGS | 1,15 | - | 2,27 | 1,03 | 2,94 | 0,99 | 0,93 | 1,50 | 1,69 | 1,03 | 14,5 | 2,41 |
| AGMI/AGS | 0,62 | - | - | - | 1,05 | 0,70 | 0,57 | 1,09 | 0,78 | 0,55 | 2,13 | 1,28 |
| AGPI/AGS | 0,53 | - | 2,27 | 1,03 | 1,88 | 0,29 | 0,36 | 0,41 | 0,91 | 0,48 | 12,3 | 1,12 |

A: Armadillo
 B: Bocachico
 CA: Cachama
 CP: Carpeta
 CO: Corvina
 L: Lisa
 ME: Merluza
 MO: Mero
 P: Pargo
 R: Robalo
 T: Tilapia
 TR: Trucha
 AGS: Acido Graso Saturado
 AGI: Acido Graso Insaturado
 AGMI: Acido Graso Monoinsaturado
 AGPI: Acido Graso Poliinsaturado
 n.d: No detectado

En general, el contenido de AGMI de las especies estudiadas es relativamente elevado (70,4% bocachico, 43,8% mero, 37,7% trucha, 35,3% lisa), sin embargo para algunas especies (cachama y carpeta) no se detectaron AGMI. Los AGMI más frecuentemente encontrados fueron el palmitoleico y el oleico.

Las especies tilapia, cachama y carpeta son las que contienen la mayor proporción de AGPI: 80,4%, 69,5% y 50,8% respectivamente, estos porcentajes son superiores a los reportados en las especies jurel, sardina, salmón y atún, entre 35 y 47% (31). El AGPI encontrado con mayor frecuencia en las especies estudiadas fue el linoleico, presente en la tilapia en porcentaje elevado (47,4%). La cachama mostró los niveles más elevados (19,6%) de ácido eicosapentenoico, mientras que en la corvina el AGPI más abundante fue el ácido docosahexaenoico, con 27,3% y en el robalo el ácido docosapentenoico, con 19,4%.

Todas las especies estudiadas presentaron una mayor proporción de Ácidos Grasos Insaturados (AGI) que saturados, con excepción de lisa y merluza, por lo que al calcularse la relación AGI/AGS solamente estas dos especies mostraron un índice inferior a la unidad. El consumo de alimentos en los que predominen los ácidos grasos insaturados ha sido relacionado en la literatura médica con la disminución de los accidentes cardiovasculares (6), de allí la importancia de su detección y cuantificación en los alimentos.

En la Tabla 3 se presenta la composición porcentual de ácidos grasos de la serie ω -3 y ω -6 de las especies de pescado estudiadas. Los porcentajes más elevados de ω 3 se observaron en la corvina, cachama y tilapia y los más bajos en la lisa, armadillo y mero, mientras que de la serie ω -6 los mayores porcentajes se observaron en la tilapia y cachama, no se

detectaron niveles de ácidos grasos de la serie ω 6 en el mero y la merluza. Al calcularse la relación ω 3/ ω 6 se observó que en todas las especies, con excepción de la tilapia, el porcentaje de ω 3 fue mayor que el de ω 6. La mayor proporción de ω 3 es importante, si atendemos a los estudios que sugieren el efecto positivo de los ácidos grasos de la serie ω 3 en la reducción de los niveles de triacilglicerol y colesterol plasmático (2,7,9,10), por el efecto antitrombótico del ácido eicosapentenoico, por tales razones se recomienda su consumo especialmente en personas con compromiso cardiovascular (9)

TABLA 3

Distribución de los ácidos grasos (g/100 g de grasa) de la serie ω -3 y ω -6 de doce especies de pescado

| Especie | ω -3 | ω -6 | Relación ω -3/ ω -6 |
|-----------|-------------|-------------|-----------------------------------|
| Armadillo | 16,1 | 8,6 | 1,9 |
| Bocachico | 20,8 | 8,8 | 2,4 |
| Cachama | 36,7 | 32,8 | 1,1 |
| Carpeta | 27,1 | 23,9 | 1,1 |
| Corvina | 42,6 | 5,6 | 7,6 |
| Lisa | 13,3 | 1,3 | 10,2 |
| Mero | 16,5 | n.d | - |
| Merluza | 18,6 | n.d | - |
| Pargo | 32,8 | 1,2 | 27,3 |
| Robalo | 19,4 | 4,3 | 4,5 |
| Tilapia | 33,0 | 47,7 | 0,7 |
| Trucha | 20,4 | 12,6 | 1,6 |

n.d = No detectado

TABLA 4

Contenido de aminoácidos esenciales (g/100 g de pescado) de doce especies de pescado

| | A | B | CA | CP | CO | L | ME | MO | P | R | T | TR |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|
| His | 0,822 | 1,489 | 0,547 | 1,058 | 1,222 | 1,189 | 1,435 | 0,721 | 0,924 | 1,376 | 1,625 | 1,077 |
| Tre | 0,526 | 2,225 | 0,925 | 1,186 | 0,442 | 0,764 | 0,955 | 0,630 | 0,622 | 0,990 | 0,807 | 0,613 |
| Tir | 0,548 | 0,460 | 0,642 | 0,591 | 1,567 | 0,603 | 0,682 | 0,648 | 0,547 | 0,603 | 1,898 | 0,766 |
| Met | 0,297 | 0,323 | 0,500 | 0,368 | 0,271 | 0,558 | 0,538 | 0,586 | 0,490 | 0,555 | 0,555 | 0,648 |
| Val | 0,464 | 0,439 | 0,567 | 0,882 | 0,847 | 0,643 | 0,707 | 0,514 | 0,575 | 0,627 | 1,413 | 0,498 |
| Fen | 0,774 | 0,619 | 0,745 | 0,365 | 0,716 | 0,650 | 0,802 | 0,692 | 0,550 | 0,695 | 1,117 | 0,915 |
| Ile | 0,704 | 0,421 | 0,524 | 0,793 | 0,952 | 0,615 | 0,760 | 0,563 | 0,657 | 0,651 | 1,583 | 0,654 |
| Leu | 1,124 | 1,339 | 0,990 | 1,022 | 1,017 | 1,198 | 1,355 | 1,121 | 0,948 | 1,461 | 1,454 | 1,067 |
| Lis | 1,525 | 1,916 | 0,660 | 0,992 | 1,489 | 1,088 | 1,504 | 1,061 | 1,653 | 1,239 | 0,486 | 0,770 |
| Total | 6,784 | 9,231 | 6,100 | 7,259 | 8,568 | 7,308 | 8,738 | 6,536 | 6,966 | 8,197 | 10,938 | 7,008 |

A: Armadillo
 B: Bocachico
 CA: Cachama
 CP: Carpeta
 CO: Corvina
 L: Lisa
 ME: Merluza
 MO: Mero
 P: Pargo
 R: Robalo
 T: Tilapia
 TR: Trucha

Contenido de aminoácidos esenciales

En la Tabla 4 se totalizan los aminoácidos esenciales de las especies de pescado estudiadas; encontrándose los mismos en mayor concentración en la tilapia con 10,938 g/100 de pescado, mientras que la especie que presentó menor concentración fue la cachama con 6,100 g/100 de pescado.

Las especies que presentaron mayor contenido de lisina fueron bocachico con 1,916 g/100 de pescado y pargo con 1,653 g/100 de pescado, mientras que las especies con menor contenido de lisina fueron tilapia con 0,486 g/100 de pescado y cachama con 0,660 g/100 de pescado. Se resalta el contenido de este aminoácido en virtud del beneficio que podría aportar a los regímenes de poblaciones que tienen a los cereales como base de su alimentación (2).

Contenido de minerales

En la Tabla 5 se presenta el valor promedio de cinco minerales de importancia en la dieta del hombre. El mineral que se encontró en mayor proporción fue el fósforo, con un promedio de 238,13 mg/100 g, seguido por el calcio con 41,11 mg/100 g; las cifras reportadas de P varían entre 68 y 550 mg/

100 g y los valores de Ca entre 19 y 881 mg/100 g (5). El contenido de P y Ca mostró amplias variaciones entre las especies, las especies que mostraron mayor contenido de P fueron: merluza, trucha y robalo (322,22, 315,66 y 296,00 mg/100 g de pescado respectivamente), mientras que en las especies pargo, carpeta, lisa y cachama se observó la menor concentración (122,0, 130,0 y 159,0 mg/100 g de pescado respectivamente). En relación con el Ca, las especies carpeta, corvina, mero, pargo y lisa presentaron el mayor contenido de este mineral (79,33, 75,0, 73,0 y 69,0 mg/100 g de pescado respectivamente), mientras que la cachama, trucha, bocachico, armadillo y robalo el menor contenido (10,0, 10,73, 17,66, 19,66 y 23,0 mg/100 g de pescado respectivamente).

El pescado constituye una fuente importante de Ca, aunque su contenido de P es más elevado (32); al calcularse la relación Ca/P se obtuvo un promedio de 0,17; que coincide con los valores reportados entre 0,03 y 0,70 con un valor promedio de 0,2-0,3 (2). Este valor es superior al reportado para la carne de mamíferos, de 0,02 (33), lo que indicaría la importancia que tiene el pescado como fuente de Ca para la alimentación del hombre.

TABLA 5
Contenido de minerales (mg/100 g) de doce especies de pescado

| Especie | Calcio | Hierro | Magnesio | Manganeso | Fósforo | Relación Ca/P |
|-----------|---------|--------|----------|--------------------|----------|---------------|
| Armadillo | 19,66b | 0,90a | 30,00ab | 0,011b | 268,33ab | 0,07 |
| Cachama | 10,00b | 1,20a | 33,00ab | 0,017 ^a | 159,00c | 0,06 |
| Tilapia | 15,66b | 1,40a | 39,00a | 0,013ab | 186,00bc | 0,08 |
| Trucha | 10,78b | 1,20a | 24,00b | 0,011b | 315,66a | 0,03 |
| Carpeta | 79,33a | 1,60a | 44,00a | 0,012ab | 130,00c | 0,61 |
| Corvina | 75,00a | 1,50a | 30,00ab | 0,009b | 226,33b | 0,33 |
| Lisa | 69,00a | 0,90a | 36,33ab | 0,012ab | 153,00c | 0,45 |
| Robalo | 23,00b | 1,30a | 27,66b | 0,008b | 296,00a | 0,08 |
| Bocachico | 17,66b | 1,26a | 25,33b | 0,010b | 218,66b | 0,08 |
| Mero | 73,00a | 1,46a | 32,00ab | 0,009b | 254,66ab | 0,29 |
| Merluza | 41,00ab | 1,76a | 42,66a | 0,012ab | 322,22a | 0,13 |
| Pargo | 71,33a | 1,45a | 42,33a | 0,012ab | 122,00c | 0,58 |
| Promedio | 41,11 | 1,33 | 36,41 | 0,012 | 238,13 | 0,17 |

Medias en una misma columna que posean diferentes superíndices difieren significativamente ($p < 0,05$).

Con relación al hierro, sus necesidades en la dieta del hombre dependen de la edad y del sexo, sin embargo estas son en líneas generales de 1-2,8 mg/día, para cubrir esta demanda es preciso un aporte diario con los alimentos de 5-28 mg/día (33). Se encontró que en promedio las especies de pescado aportan 1,33 mg/100 g de pescado, que representa aproximadamente la mitad del requerimiento diario. Se ha descrito que las especies de carne coloreada suelen tener mayor porcentaje de Fe que los de carne blanca (2), en las especies estudiadas, todas de carne blanca, se observó un contenido de hierro entre 0,90 mg/100 g de armadillo y 1,76 mg/100 g de merluza. No

se observaron diferencias significativas del contenido de este mineral para las especies en estudio.

El magnesio es un mineral esencial ya que es componente y activador de muchas enzimas, los requerimientos diarios del hombre son de 300 mg/día (33). El contenido de Mg varió entre 24 mg/100 g en la trucha y 44 mg/100 g en la carpeta. Los valores promedio descritos de este mineral varían entre 4,5 y 452 mg/100 g de pescado con un promedio de 38 mg/100 g (5). En promedio las especies estudiadas aportan un 10% del total requerido.

El manganeso (Mn) es considerado un oligoelemento esencial de la dieta del hombre, sus requerimientos son de 2 mg/día (33), en el presente trabajo se encontró que tienen un aporte entre 0,008 mg/100 g del robalo y 0,017 mg/100 g de la cachama, con un promedio de 0,012 mg/100 g de pescado, lo cual representa aproximadamente el 0,6% de los requerimientos diarios del hombre.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En las especies de pescado estudiadas se encontró un contenido de proteínas similar al reportado en carne de bovino, pollo y cerdo y que además presenta una concentración de aminoácidos esenciales entre 6,1 y 10,938 g/100 g de pescado. Las especies con mayor contenido de lisina fueron el bocachico, el pargo y el armadillo.

En general los pescados son de carne magra, con un porcentaje de grasa inferior al 3%, por lo que su consumo es recomendable en una alimentación que requiere bajos niveles de grasa. Asimismo, se observó el predominio de ácidos grasos poliinsaturados de la serie ω 3, que han sido asociados con la reducción de los niveles de triacilglicerol y colesterol plasmático.

En relación con los minerales las especies estudiadas son aportadores importantes de P, Ca y en menor proporción de Fe; pero su aporte es insuficiente para satisfacer las necesidades diarias de Mg y Mn.

Se recomienda continuar estudios sobre el valor nutricional de otras especies de pescado de importancia comercial en Venezuela.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean agradecer al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ), por el apoyo financiero para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS

- Fennema O. Food Chemistry. Part I. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, Inc, 1985.
- Navarro M. Valor Nutritivo del pescado. I. Pescado fresco. Rev Agroquím Tecnol Aliment 1991;31(1): 330-42.
- Lowell R. Biochemical and Biophysical Perspectives in marine biology. New York: Academic Press, 1978.
- Stansby M. Industrial Fishery Technology. New York: Ed. Reinhold Publishing Corporation, 1963.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)- Organismo Danés de Fomento Internacional (DANIDA). El Pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. Colección FAO Pesca, Roma 1988; 29: 9-19.
- Clawson A, Garlich J, Coffey M, Pond W. Nutritional, physiological, genetic, sex, and age effects on fat-free dry matter composition of the body in avian, fish, and mammalian species: A review. J Anim Sci 1991; 69: 3617-44.
- Grundy S, Denke M. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins: a review. J Lipid Res 1990; 31: 1149-72.
- Hearn T, Sgoutas S, Sgoutas D, Hearn J. Stability of polyunsaturated fatty acids after microwave cooking of fish. J Food Sci 1987; 52(5): 1430-1.
- Valenzuela A, Nieto S. Innovación tecnológica aplicable a los aceites marinos ricos en ácidos grasos N-3 para permitir su uso nutricional y farmacológico: un desafío de la presente década. Arch Latinoamer Nutr 1994; 44(4): 223-231.
- Harris W, Connor W, McMurry M. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats: salmon oil versus vegetable oils. Metabolism 1983; 32: 179-84.
- Archile A, Benitez B, Rangel L, Izquierdo P, Huerta N, Márquez E. Perfil de ácidos grasos de las principales grasas y aceites disponibles para consumo en la ciudad de Maracaibo. Rev Científica FCV-LUZ 1997; VII (3): 169-74.
- Mattson F, Grundy S. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. J Lipid Res 1985; 26: 194-202.
- Vega G, Grozek E, Wolf R, Grundy S. Influence of polyunsaturated fats composition of plasma lipoproteins and apolipoproteins. J Lipid Res 1982; 23: 811-22.
- Robaina G. El Potencial Pesquero Venezolano. Carta Ecológica No 73. Caracas. Venezuela, 1995: 10-12.
- FONAIAP Divulga 51/ Edición Especial XXXV Aniversario FONAIAP-1996: 29-31.
- FONAIAP Divulga 57. Julio-Septiembre 1997: 30-31.
- Ortiz, H. análisis de los ácidos grasos contenidos en los pescados de mayor consumo en Venezuela. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. UCV. Venezuela. 1985.
- Ortiz H, Bello R. Composición y estabilidad de los ácidos grasos de la pulpa de cachama y de sardina durante el almacenamiento en congelación. Arch Latinoamer Nutr 1992; 42(4): 460-6.
- Royero R. Peces de Venezuela. Raúl Clemente Ed. Venezuela: 91-175. 1992.
- Association of Official Analytical Chemists AOAC. Official methods of analysis, 15th ed. Washington D.C., 1990.
- Bligh E, Dyer W. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol 1959; 37(8): 911-17.
- Cedeño G. Identificación de ácidos grasos en Holoturoideos por cromatografía de gas. Bol Inst. Oceanográf Univ Oriente 1971; 10(2): 9-14.
- Umagat H, Kucera P. Total aminoacid analysis using precolumn fluorescence derivatization. J of Chromatography 1982; 239: 463-74.
- Torres G, Gómez O, Márquez E. Análisis de aminoácidos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución usando un gradiente binario y un sistema ternario de solventes. Acta Científica Venezolana 1994; 45(1): 313.
- Statistics Analysis System (SAS). Inc. SAS Users Statistic 5th Ed. SAS Institute Inc., Carry, NC, USA. 1985.
- Duncan D. Multiple range and F test. Biometrics 1985; 11: 1-42.
- Bourgeois C, Le Roux P. Proteínas Animales. México: Editorial El Manual Moderno, 1986.

28. Elgasim E, Alkanhal M. Proximate composition, aminoacids and inorganic mineral content of Arabian camel meat: comparative study. *Food Chem* 1992; 45: 1-4.
29. Zamil M, Rawdah T, Attar K, Arab M. Mineral and proximate composition of some commercially important fish of the Arabian Gulf. *Food Chem* 1992; 45: 95-8. -
30. Lillelund K, Tercefal F. *El Pescado como Alimento*. Editorial Everest. S.A. España, 1988.
31. Romero N, Paz R, Masson L, Luck C, Loreto A. Composición en ácidos grasos y aporte de colesterol de conservas de jurel, sardina, salmón y atún al natural. *Arch Latinoamer Nutr* 1996; 46(1): 75-77.
32. Otitologbon S, Agbaji E, Peters O, Oniye S. Proximate and mineral composition of three Nigerian freshwater fishes. *J Sci Food Agric* 1997; 75: 312-14.
33. Belitz H, Grosch W. *Química de Alimentos*. 2da ed. Zaragoza: Editorial Acribia SA, 1992.

Recibido:12-04-1999

Aceptado:10-06-2000

Composición química y contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos en el noroeste argentino

Silvina Maldonado, Norma Sammán

Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos - Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy
Jujuy - Argentina

RESUMEN. Se analizaron variedades de poroto (*Phaseolus vulgaris*), maíz (*Zea mays*), lenteja (*Lens sp*), soja (*Glicine max*) y trigo (*Triticum sp*) con el objeto de obtener datos de composición química y contenido de minerales para contribuir a la Red Internacional de Datos de Alimentos INFOODS en la elaboración de Tablas Regionales de Composición de Alimentos y evaluar la calidad de granos producidos en la región. De cada especie se seleccionaron las variedades que se producen en el noroeste argentino. De acuerdo a los resultados, se dividieron los porotos en cinco grupos, según su similitud estadística. El poroto pallares es el que presenta mayor contenido de Cu (2,42 mg/100g), Fe (76,03mg/100g) y Zn (6,08 mg/100g). Las muestras de maíz quedaron divididas en tres grupos, según su similitud estadística. El maíz amarillo leales tiene mayor contenido de Zn (3,16 mg/100g) que las demás variedades de la región. El maíz blanco 8 rayas es el que presenta mayor contenido de Fe (11,48 mg/100 g), mientras que el maíz amarillo pisingallo es el de mayor contenido de Cu (1,21 mg/100g).

Palabras clave: Red de datos, composición química, minerales, cereales, leguminosas.

SUMMARY. Chemical composition and minerals content of leguminous and cereals produced in the Argentinean Northwest. Different varieties of bean (*Phaseolus vulgaris*), corn (*Zea mays*), lentil (*Lens sp*), soya (*Glicine max*) and wheat (*Triticum sp*) were analyzed in order to obtaining data of chemical composition and content of minerals to contribute to the International Food Data System INFOODS in the elaboration of Regional Food Composition Tables and to evaluate the quality of grains. The selected varieties were the ones produced in the northwestern region of Argentina. The beans were divided in five groups, according to their statistical similarity. The pallares variety is the one that presents bigger content of Cu (2,42 mg/100g), Fe (76,03mg/100g) and Zn (6,08 mg/100g). The samples of corn were divided in three groups, according to their statistical similarity. The leales yellow corn has bigger content of Zn (3,16 mg/100g) that the other varieties of the region. The 8 rayas white corn is the one that presents bigger content of Fe (11,48 mg/100 g), while the pisingallo yellow corn is that of bigger content of Cu (1,21 mg/100g).

Key words: Food data system, chemical composition, minerals, cereals, leguminous.

INTRODUCCION

La información sobre el contenido de nutrientes de los alimentos reviste gran importancia para diversas aplicaciones, como por ejemplo la evaluación nutricional de la población, la planificación de dietas, la programación de la producción y muchas otras actividades relacionadas (1,2).

El INCAP (Instituto de Nutrición de Centro América), tuvo entre sus objetivos prioritarios conocer el contenido de nutrientes de los alimentos, en las regiones de su competencia. Los datos obtenidos fueron incorporados en la Tabla de Composición de Alimentos para uso en América Latina, publicada en 1961, la cual requiere de un laborioso proceso de actualización, dados los cambios técnicos, tecnológicos y de proceso, ocurridos desde su elaboración hasta la fecha (3).

En Argentina, el Instituto Nacional de Nutrición fue la única entidad que se dedicó al estudio y producción de datos de composición de alimentos, publicando sus resultados en la Tabla de composición de Alimentos, Materias Primas y Pro-

ductos Elaborados, la cual se publicó en 1942, y se editó por última vez en 1945 (4).

Dada la necesidad de contar con datos actuales, precisos y confiables se ha articulado a través de INFOODS (International Network Food Data System) (5) la creación de grupos regionales de trabajo para generar, compilar y validar datos para ser incorporados en una base de datos.

Nuestro grupo, para contribuir a la generación de información, ha tomado para su análisis algunos productos de importancia para la región, ya sea por su volumen de producción o de consumo. Se estudiaron diez variedades de poroto (*Phaseolus vulgaris*): alubia, negro, grand berry, carioca, colorado, oval, pallares, small red, novy bean, great northern; cinco variedades de maíz (*Zea mays*): blanco perla, blanco 8 rayas, amarillo leales, amarillo trópico 237, amarillo pisingallo y sémola de maíz amarillo; soja (*Glicine max*); lenteja (*Lens sp.*) y trigo (*Triticum sp.*). Los de mayor producción en la región son el poroto y el maíz.

El poroto se cultiva actualmente en muchas partes de los trópicos y los subtrópicos y en todas las regiones templadas. Representa uno de los principales productos primarios del Noroeste Argentino. Su destino es mayoritariamente la exportación.

Se subdivide en clases según las características de sus granos.

La variedad más cultivada es la negra, que es la preferida en la mayor parte de los países de América Latina.

Entre los cereales, el maíz está situado en segundo lugar en cuanto a importancia, después del trigo y el arroz. Tiene tres usos posibles: como alimento, como forraje y como materia prima para la industria alimentaria.

Debido a su creciente ingesta en los países en desarrollo, no sólo debe considerarse una fuente de energía sino también de proteínas a pesar de su baja concentración y su deficiencia en aminoácidos esenciales (6,7).

Las proteínas del maíz y del poroto se complementan entre sí debido a la composición de aminoácidos esenciales de cada uno. Los estudios realizados demuestran que la mejor manera en que las proteínas provenientes de porotos (o de legumbres alimenticias) complementan a las proteínas del maíz es en una proporción de 30 partes de porotos por 70 partes de maíz (8).

Esta complementariedad se observó tanto en animales como en seres humanos, específicamente en niños, con los que se llevaron a cabo estudios sobre balance de Nitrógeno, con dietas en las que se combinaron el maíz y el poroto en distintas proporciones (9).

En menor escala que los anteriores pero de gran importancia para la región por su producción y consumo, se encuentra la soja, fuente de proteínas vegetales. Puede utilizarse para producción de aceite, sémola, o harina, salsa, leche, queso y muchos otros productos.

La proteína de la soja es de buena calidad nutricional, especialmente cuando se la consume combinada con cereales (10).

Se seleccionaron también lenteja y trigo, otros productos de la zona de menor volumen de producción y, salvo el trigo, de menor consumo.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras para análisis se obtuvieron de tres diferentes establecimientos acopiadores de productos primarios instalados en la región, seleccionándose proporcionalmente a su volumen de producción, tanto material en proceso como material con diferentes tiempos de almacenamiento. El número de muestras para cada variedad fue el siguiente: Nalubia=6, Nnegro=6, Ncarioca=3, Ncolorado=2, Ngrand berry=2, Nsmall red = Nnovy bean = Noval = Npallares = 1, Nmaíz blanco perla = Nmaíz amarillo trópico 327 = 2, Nmaíz amarillo 8 rayas = Nmaíz amarillo leales = Nmaíz amarillo sémola = Nsoja = Nlenteja = Ntrigo = 1.

De cada especie se seleccionaron las variedades que se producen en la región y en el caso de la lenteja, la soja y el

trigo se analizaron a partir de una muestra mezcla de variedades de la zona.

Con las porciones extraídas se constituyeron muestras compuestas, que se envasaron en bolsas de polietileno y se sellaron térmicamente hasta su análisis.

Se redujo el tamaño de partículas mediante un molino mecánico de granos, seguido de molinillo eléctrico. El tamaño de la muestra se redujo por el método de cuarteo hasta obtener aproximadamente 100g con un tamaño de partícula de 1,19mm.

Se tomaron seis replicados de cada muestra que se analizaron por duplicado.

Se llevaron a cabo las siguientes determinaciones:

Humedad: se pesaron, al mg más próximo, 5 gramos de muestra en cápsula de Petri y se llevó a estufa de aire a 105 °C, hasta peso constante, según el método AOAC (11) N° 935.29 o mét. 27.3.06 - 16th Ed.

Proteínas: se determinaron a través el método macro Kjeldahl, con Sulfato de Sodio, Sulfato de Cobre pentahidratado y Selenio en relación 10:1:0.1, como mezcla catalizadora para la digestión, usando el Método AOAC 991.20 o mét. 33.2.11 - 16th Ed. Se pesaron aproximadamente 0.500 ± 0.001 gramos de muestra molida y seca, se trasladaron a un balón Kjeldahl. Luego se agregaron 2.5 g de mezcla catalítica y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se digirió hasta que los humos blancos de anhídrido sulfúrico hubieran desaparecido y el digerido estuviera claro, por aproximadamente 4 h. Una vez que el digerido alcanzó la temperatura ambiente se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó a volumen con agua destilada. Se tomaron alícuotas de 10 mL y se introdujeron en la unidad de destilación, se agregaron 8 mL NaOH 50%, agua destilada y se calentó hasta destilar todo el NH₃. Este fue colectado en un erlenmeyer de 250 mL conteniendo 10.0 ± 0.1 mL H₃BO₃ 4%. El destilado se tituló con Acido Sulfúrico 0.05N, usando una mezcla de rojo de metilo y verde de bromo cresol como disolución indicadora.

Grasa Total: se efectuó siguiendo el método de Soxhlet, con éter de petróleo (30 - 60°) como reactivo extractor, siguiendo el Método AOAC 920.39 o mét. directo 4.5.01. Se pesaron 10.000g ± 0.001 de muestra molida y seca y se colocaron en el cartucho de extracción. Se calentó a través de manta calefactora durante 4 h., luego de las cuales se retiró el cartucho y se evaporó gran parte del disolvente. Se dejó enfriar en desecador y, una vez alcanzada la temperatura ambiente, se pesó.

Cenizas: se emplearon muestras molidas, secas y libres de grasa para las determinaciones. Las muestras se colocaron en mufla a 550 °C, hasta obtener ceniza blanca, libre de carbono, según el método directo AOAC N° 968.08 o mét. 4.8.02 (D) -16th Ed.,

La suspensión de las cenizas para la determinación de minerales se hizo con Acido Nítrico 6N y 3N. Se transfirieron a matraces volumétricos de 100 mL y fueron llevados a volumen con agua bidestilada.

Minerales: se usó un espectrofotómetro de Absorción Atómica Metrolab 250 AA, con salida digital, según el método AOAC 965.09 o mét. 2.6.01, para Cobre (= 3247 nm, sensibi-

lidad = 0.040 ppm), Hierro (= 2483 nm, sensibilidad = 0.062 ppm), Zinc (= 2139 nm, sensibilidad = 0.009 ppm) y Arsénico (= 1937 nm, sensibilidad = 0.78 ppm).

La determinación de Fósforo se realizó según el método colorimétrico (12), usando una espectrofotómetro (UV-V) HITACHI U-2000. Se empleó fosfato diácido de potasio como disolución estándar, ácido clorhídrico 1N como hidrolizante y una mezcla de ácido ascórbico y molibdato de amonio como reactivo de color.

Todo el material de vidrio usado para la determinación de minerales así como los crisoles para la determinación de cenizas fueron lavados, primero con ácido nítrico 3N, y luego tres veces con agua bidestilada.

Estadística: Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el Análisis de la Varianza y Análisis Múltiple de Rangos utilizando el Test de la Diferencia Mínima (Límite) significativa (LSD), con un 95% de significación (13).

Las muestras (individuos) conjuntamente con todas sus propiedades fueron evaluadas mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP) y un método de Clasificación por Dendograma, utilizando el software SPADN (14,15).

En la Tabla 1 se muestran los datos publicados en la Tabla de Composición Química de los Alimentos CENEXA - FEIDEN (16).

TABLA 1
Composición química y contenido de Fe y P de poroto, maíz, soja, lenteja y trigo
(Tabla de Composición Química de Alimentos CENEXA - FEIDEN)

| Alimento | Origen | Proteínas (g/100gMS) | Grasa (g/100gMS) | Hierro (mg/100gMS) | Fósforo (mg/100gMS) |
|-------------------|--------|-------------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|
| Poroto | TINN | 30,2 | 1,0 | 9,16 | 378 |
| | HBN8 | 25,1 | 1,8 | 8,76 | 477 |
| Maíz Blanco | TINN | 10,5 | 5,0 | 3,5 | 344 |
| Maíz Amarillo | TINN | 9,92 | 4,7 | 3,5 | 322 |
| Sémola | SOUICI | 9,8 | 0,8 | 1,15 | - |
| | TINN | 11,1 | 0,8 | 0,81 | 115 |
| | QUAKER | 12,0 | 1,5 | 4,3 | 386 |
| Soja (g. entero) | TINN | 36,1 | 17,4 | 8,65 | 633 |
| Lenteja | HBN8 | 27,8 | 1,2 | 7,64 | 423 |
| | TINN | 27,6 | 1,0 | 9,35 | 411 |
| Trigo (g. entero) | HBN8 | 14,6 | 2,9 | 5,52 | 444 |

MS: Muestra seca

RESULTADOS

Los valores obtenidos para las variedades analizadas de poroto: alubia, negro, grand berry, carioca, colorado, oval, pallares, small red, novy bean y great northern, se muestran en la Tabla 2. En la misma puede observarse que los valores

de Proteínas oscilan entre 16,65 y 25,96; los de Grasa entre 0,54 y 1,22; los de Cenizas entre 3,45 y 5,26, expresados como g/100g muestra húmeda; los de Cu entre 0,83 y 2,42; los de Fe entre 8,91 y 76,03; los de Zn entre 2,50 y 6,08 y los de P entre 295 y 577, expresados como mg/100g muestra húmeda.

TABLA 2
Composición centesimal y contenido de minerales de distintas variedades de poroto

| Muestra | Humedad g/100g | Proteínas g/100g | Grasa g/100g | Cenizas g/100g | Cu mg/100g | Fe mg/100g | Zn mg/100g | P mg/100g |
|---------------------------|-------------------|---------------------|-----------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| Poroto Alubia (a) | 12,70 ± 0,85 | 19,76 ± 1,88 | 0,75 ± 0,02 | 3,97 ± 0,45 | 1,19 ± 0,35 | 11,41 ± 1,29 | 2,50 ± 0,41 | 468 ± 20 |
| Poroto Negro (a) | 12,91 ± 0,75 | 20,56 ± 1,73 | 0,98 ± 0,05 | 4,09 ± 0,39 | 1,22 ± 0,28 | 15,90 ± 1,24 | 3,52 ± 0,32 | 418 ± 36 |
| Poroto Grand Berry (a) | 13,37 ± 1,02 | 21,50 ± 2,30 | 0,98 ± 0,05 | 3,79 ± 0,61 | 0,99 ± 0,03 | 17,70 ± 1,62 | 3,15 ± 0,20 | 440 ± 2 |
| Poroto Carioca (a) | 13,27 ± 1,62 | 20,02 ± 2,79 | 0,88 ± 0,06 | 3,87 ± 0,27 | 0,98 ± 0,23 | 8,91 ± 1,44 | 2,99 ± 0,26 | 295 ± 8 |
| Poroto Colorado (b) | 13,17 ± 0,37 | 19,63 ± 0,81 | 1,22 ± 0,01 | 5,00 ± 0,06 | 1,06 ± 0,04 | 13,76 ± 2,25 | 3,64 ± 0,47 | 542 ± 29 |
| Poroto Oval (b) | 12,68 ± 0,01 | 18,16 ± 0,34 | 1,07 ± 0,003 | 4,35 ± 0,05 | 1,11 ± 0,04 | 9,50 ± 0,89 | 3,88 ± 0,39 | 460 ± 12 |
| Poroto Pallares (c) | 14,18 ± 0,05 | 16,65 ± 0,29 | 0,62 ± 0,006 | 5,26 ± 0,15 | 2,42 ± 0,19 | 76,03 ± 6,16 | 6,08 ± 0,304 | 577 ± 2 |
| Poroto Small Red (d) | 13,72 ± 0,40 | 25,31 ± 2,04 | 0,84 ± 0,06 | 3,45 ± 0,35 | 0,83 ± 0,03 | 14,56 ± 0,30 | 2,51 ± 0,09 | 442 ± 2 |
| Poroto Novy Bean (d) | 13,83 ± 0,57 | 25,96 ± 2,35 | 1,11 ± 0,007 | 3,46 ± 0,09 | 1,57 ± 0,18 | 22,89 ± 0,52 | 3,20 ± 0,14 | 334 ± 29 |
| Poroto Great Northern (e) | 13,04 ± 0,24 | 20,96 ± 1,47 | 0,54 ± 0,02 | 4,89 ± 0,05 | 0,98 ± 0,15 | 9,80 ± 1,11 | 3,65 ± 0,26 | 478 ± 28 |

Nalubia=6, Nnegro=6, Ncarioca=3, Ncolorado=2, Ngrand berry=2, Nsmall red = Nnovy bean = Noval = Npallares = 1 (N= N° de muestras)

Valores expresados como X ± DS (media ± desviación standard)

Igual letra indica igualdad estadística de los individuos, comparados según un análisis de componentes principales (ACP) y clasificación por Dendograma utilizando el método SPADN (14,15).

En la Tabla 3 se muestran los valores obtenidos para las distintas muestras de maíz: blanco perla, blanco 8 rayas, amarillo leales, amarillo Trópico 327, amarillo pisingallo y sémola de maíz amarillo. Los datos obtenidos varían entre: Proteínas 7,34 y 9,00; Grasa 0,54 y 1,14; Cenizas 0,68 y 1,55, expresados como g/100g muestra húmeda; Cu 0,30 y 1,21; Fe

1,11 y 11,48; Zn 0,96 y 3,16; P 38 y 325, expresados como mg/100g muestra húmeda.

La composición química y el contenido de minerales de las muestras de soja, lenteja y trigo analizadas, se muestran en la Tabla 4.

TABLA 3
Composición centesimal y contenido de minerales de distintas variedades de maíz

| Muestra | Humedad g/100g | Proteínas g/100g | Grasa g/100g | Cenizas g/100g | Cu mg/100g | Fe mg/100g | Zn mg/100g | P mg/100g |
|------------------------------|-------------------|---------------------|-----------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| Maíz Blanco Perla (a) | 13,88 ± 0,11 | 8,95 ± 1,23 | 0,92 ± 0,02 | 1,48 ± 0,06 | 0,75 ± 0,07 | 11,48 ± 0,99 | 2,49 ± 0,65 | 325 ± 23 |
| Maíz Blanco 8 Rayas (b) | 12,95 ± 0,26 | 7,34 ± 0,62 | 0,89 ± 0,01 | 1,13 ± 0,09 | 0,66 ± 0,06 | 3,38 ± 0,51 | 1,75 ± 0,05 | 261 ± 0,18 |
| Maíz Amarillo Leales (a) | 13,36 ± 0,40 | 10,63 ± 1,05 | 0,79 ± 0,02 | 1,13 ± 0,09 | 0,30 ± 0,03 | 9,46 ± 0,21 | 3,16 ± 0,27 | 281 ± 26 |
| Maíz Amarillo Trópico 327(a) | 13,93 ± 0,72 | 9,84 ± 0,84 | 1,13 ± 0,14 | 1,55 ± 0,06 | 0,73 ± 0,02 | 6,37 ± 0,12 | 1,97 ± 0,035 | 251 ± 26 |
| Maíz amarillo Pisingallo (c) | 12,66 ± 0,08 | 10,86 ± 0,54 | 0,54 ± 0,03 | 1,34 ± 0,05 | 1,21 ± 0,04 | 7,74 ± 0,44 | 1,85 ± 0,06 | 203 ± 2 |
| Maíz Amarillo Sémola (b) | 12,83 ± 0,02 | 9,00 ± 0,18 | 1,14 ± 0,08 | 0,68 ± 0,05 | 0,43 ± 0,007 | 1,11 ± 0,04 | 0,96 ± 0,03 | 38 ± 0,35 |

Nmaíz blanco perla = Nmaíz amarillo trópico 327 = 2, Nmaíz amarillo 8 rayas = Nmaíz amarillo leales = Nmaíz amarillo sémola = 1 (N=N° de muestras). Valores expresados como X ± DS (media ± desviación standard)

Igual letra indica igualdad estadística de los individuos, comparados según un análisis de componentes principales (ACP) y clasificación por Dendograma utilizando el método SPADN (14,15).

TABLA 4
Composición centesimal y contenido de minerales de soja, lenteja y trigo

| Muestra | Humedad g/100g | Proteínas g/100g | Grasa g/100g | Cenizas g/100g | Cu mg/100g | Fe mg/100g | Zn mg/100g | P mg/100g |
|-----------|-------------------|---------------------|-----------------|-------------------|-------------------|---------------|---------------|--------------|
| Soja FT11 | 10,22 ± 0,35 | 36,87 ± 0,05 | 6,83 ± 0,08 | 6,29 ± 0,01 | 1,38 ± 0,007 | 7,61 ± 0,29 | 4,20 ± 0,06 | 695 ± 7 |
| Lenteja | 12,83 ± 0,02 | 20,59 ± 1,30 | 0,78 ± 0,09 | 2,95 ± 0,03 | 933,46 ± 67,87 | 10,17 ± 0,58 | 2,66 ± 0,15 | 175 ± 21 |
| Trigo | 13,29 ± 0,02 | 13,99 ± 0,10 | 0,48 ± 0,08 | 1,66 ± 0,06 | 1,11 ± 0,22 | 4,24 ± 0,26 | 3,85 ± 0,43 | 558 ± 24 |

Nsoja = Nlenteja = Ntrigo = 1 (N=N° de muestras)

Valores expresados como X ± DS (media ± desviación standard)

DISCUSION

Porotos : Los valores de proteínas, grasa y cenizas expresados como g/100g de muestra seca, de Fe y P, expresados como mg/100g muestra seca, obtenidos al analizar las muestras de poroto alubia, difieren de los informados por la Tabla de Composición Química de los Alimentos CENEXA - FEIDEN, indicados como TINN (17) y HBN8 (18). Sin embargo, cabe destacar que estos últimos son también diferentes entre sí.

La Tabla CENEXA - FEIDEN no informa el contenido de Cu y Zn de los alimentos.

No se encontraron datos tabulados de la composición de las otras variedades de poroto analizadas.

Todas las variedades analizadas fueron comparadas encontrándose que pueden dividirse en 5 grupos según la similitud estadística de su composición (Tabla 2):

Grupo I: poroto alubia, negro, grand berry y carioca

Grupo II: poroto colorado y oval

Grupo III: poroto pallares

Grupo IV: poroto small red y novy bean

Grupo V: poroto great northern

El poroto pallares es el que presenta mayor contenido de Cu (2,42 mg/100g), Fe (76,03mg/100g) y Zn (6,08 mg/100g).

Maíz : La Composición Química y el Contenido de Fe y P de las muestras de maíz blanco y maíz amarillo, son diferentes al valor del grano tipo TINN informado en la Tabla.

Las dos variedades de maíz blanco: perla y 8 rayas son estadísticamente diferentes. Del mismo modo, las variedades de maíz amarillo: leales y trópico 327, son estadísticamente diferentes de la pisingallo, según el análisis de componentes principales (Tabla 3).

La muestra maíz amarillo leales tiene mayor contenido de Zn (3,16 mg/100g) que las demás variedades de la región. El maíz blanco 8 rayas es la variedad que presenta mayor contenido de Fe (11,48 mg/100 g), mientras que el maíz amarillo pisingallo es la de mayor contenido de Cu (1,21 mg/100g).

Según el Análisis de Componentes Principales y posterior Clasificación pueden dividirse las muestras de maíz en 3 grupos:

Grupo I: maíz blanco perla, maíz amarillo leales y maíz amarillo Trópico 327

Grupo II: maíz blanco 8 rayas y maíz amarillo sémola

Grupo III: maíz amarillo pisingallo

Lenteja - Soja (FT11) - Trigo: Los valores de Proteínas, Grasa, Cenizas, Fe y P obtenidos son diferentes de los informados en la Tabla como Lenteja TINN y HBN8, Soja TINN y Trigo TINN, respectivamente.

CONCLUSION

Las variedades poroto alubia, negro, grand berry y carioca son estadísticamente similares. El poroto colorado y el oval por un lado y las variedades small red y navy bean por otro, son también estadísticamente iguales. El poroto pallares y el great northern no presentan similitud estadística con ninguna de las demás variables analizadas.

El poroto pallares es el que presenta mayor contenido de Cu (2,42 mg/100g), Fe (76,03mg/100g) y Zn (6,08 mg/100g).

Las muestras de maíz blanco perla, maíz amarillo leales y maíz amarillo trópico 327, presentan similitud estadística. El maíz blanco 8 rayas y el maíz amarillo sémola son también estadísticamente similares. El maíz amarillo pisingallo no presenta similitud estadística con ninguna de las otras variedades analizadas.

La muestra maíz amarillo leales tiene mayor contenido de Zn (3,16 mg/100g) que las demás variedades de la región. El maíz blanco 8 rayas es la variedad que presenta mayor contenido de Fe (11,48 mg/100 g), mientras que el maíz amarillo pisingallo es la de mayor contenido de Cu (1,21 mg/100g).

La lenteja, la soja y el trigo fueron analizados a partir de la única variedad que se produce en la región.

Por último cabe destacar que la información generada es mucho más precisa y completa que la existente.

REFERENCIAS

- Rand WM. et al Ed.; United Nations University; Food Composition Data: a) Uses perspective. The Used of Food Composition Data 1987: 41-97.
- Rand WM, Pennington JAT, Murphy SP and Klensin JC. Compiling Data for Food Composition Data Bases, 1991.
- Dárdano C. Estudio de utilización de las Tablas de Composición Química de los Alimentos; Arch Latinoam Nutr. 1987;37(4): 618 - 629.
- Closa S, Portela ML, Sambucetti ME, Longos E, Schor Y, Carmuega E. Información sobre estado actual, interés y limitaciones existentes con referencia a Tablas de Composición de Alimentos en la República Argentina; Arch Latinoam Nutr. 1987;37(4): 694 - 701.
- Scrimshaw NS. The importance of the International Network of Food Data System (INFOODS). Food Nutrition and Agricultural FAO. 1994;12 : 6-11.
- Benton DA, Harper AE and Elvehjem CA. Effect of isoleucine supplementation on the growth of rats fed zein or corn diets. Arch Biochem Biophys. 1995; 57: 13-19.
- Benton DA, Harper AE, Spivey HE and Elvehjem CA. Leucine, isoleucine and valine relationships in the rat. Arch Biochem Biophys. 1956; 60: 147-155.
- Bressani R and Elías LG. Legume foods. A.M. Altschull editor. New Protein Foods. 1979; 1 (1A): 231-297.
- García B, Urrutía JJ. Descripción de las condiciones socioeconómicas de la comunidad de Santa María Cauqué. Memorias Conferencia Interacción entre Producción Agrícola, Tecnología de Alimentos y Nutrición. 1997: 116-132.
- FAO Estudio Alimentación y Nutrición. Utilización de Alimentos Tropicales: semillas oleaginosas tropicales. 1991; 47 (5): 4.
- Association of Official Agricultural Chemists AOAC 16th Ed. Washington, 1995.
- Osborne DR y Voogh R. Análisis de los nutrientes de los alimentos, Ed. Acribia, Zaragoza, España, 1986.
- Statgraphic System Version 6.0, Serial number 3610042 by Statistical Graphics Corporation Portions Copyright 1992 Manugistics, Inc. Statgraphics is a registered trademark of Statistical Graphics Corporation
- Universite Libre de Bruxelles. Laboratoire de Methodologie du Traitement des Données. Programa Presta. SPAD win 3.5, 1992.
- Escofier Brigitte, Pagès Jérôme. Análisis Factoriales Simples y Múltiples. Objetivos, Métodos e Implementación, 1992.
- Mazzei MA y Pachulu M Del R. editors. Tabla de Composición Química de los Alimentos CENEXA (Centro de Endocrinología Experimental Aplicada UNLP - CONICET) FEIDEN (Fundación para la promoción de la Educación y la Investigación en Diabetes y Enfermedades de Nutrición), Buenos Aires, 1995.
- Tabla de Composición de Alimentos para uso práctico. Instituto Nacional de Nutrición. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Caracas. Venezuela (Origen TINN). Revisión 1994.
- Watt Bernice K and Merrill Annabel L. Composition of Foods. Agriculture Handbook N° 8. U. S. Government Printing Office, 1985 (Origen HBN8).
- Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert. Tabellon Souci, Fachmann, Kraut. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1989 - 1990 (Origen SOUCI).

Recibido: 06-11-1999

Aceptado: 22-05-2000

Characterization of cocoa butter extracted from hybrid cultivars of *Theobroma cacao* L

Fanny C. Padilla, Rigel Liendo, Agricia Quintana

Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP), Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela

SUMMARY. Cocoa butter is the most important fat used in the confectionery and chocolate industries. The main objective of the present study was to determine the physical and chemical characteristics of cocoa butter extracted from hybrid cultivars belonging to the germplasm bank of the Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (National Foundation for Agricultural Research). AOAC methods were used for the assesment of the proximal composition of the beans, physical and chemical characteristics as well as for the fatty acid profile of the fat. It was found that there were statistical differences in the proximate composition of the cocoa beans among the cultivars studied as well as the iodine and saponification indices of the butter. Saturated fatty acids were present in higher proportions than unsaturated fatty acids, with palmitic and stearic acid as the main fractions. Oleic acid content was higher than linoleic acid. The fatty acid profile found is the main factor that influences the hard texture of the cocoa butter from Venezuelan cocoa hybrids cultivars.

Key words: *Theobroma cacao* L., hybrids, cocoa butter, fatty acid profile, proximate analysis

RESUMEN. Caracterización de la manteca de cacao extraída de cultivares híbridos de *Theobroma cacao* L. La manteca de cacao es la grasa más importante usada en la industria de la confitería y del chocolate. El objetivo principal del presente estudio fue determinar las características físicas y químicas de la manteca de cacao extraída de cultivares híbridos pertenecientes al banco de germoplasma del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuaria (FONAIAP). Se determinó la composición proximal de las almendras, las características físicas y químicas y el perfil de ácidos grasos de acuerdo a los métodos del AOAC. Se encontró que entre los cultivares estudiados existían diferencias estadísticamente significativas en la composición proximal de las almendras de cacao así como para el índice de yodo y saponificación de la manteca. La cantidad de ácidos grasos saturados presentes fue mayor que la de insaturados, encontrándose como principales fracciones el palmítico y el esteárico. El contenido de ácido oleico fue mayor que el de linoleico. El perfil de los ácidos grasos presentes es el principal factor que influye en la dureza de la manteca de cacao de los cultivares venezolanos estudiados.

Palabras clave: *Theobroma cacao* L., híbridos, manteca de cacao, perfil de ácidos grasos, análisis proximal.

INTRODUCTION

Historically cocoa butter has been the fat in greatest demand at the international level, and one of the most expensive edible fats. It is qualified as a standard of reference that many have tried to imitate for years, and is a product of great commercial value due to its physical and chemical characteristics. It is the most important fat used in confectionery, not only because it is the natural ingredient of chocolate, but also because the melting characteristics are unique, in having a high solid fat content at room temperature and melting at a narrow temperature range just below body temperature (1-3). Cocoa butter is unique because it presents a strong polymorphism which is extremely important for chocolate making. In general, the amount and position of the fatty acids on the glycerol molecule affect the physical and chemical characteristics of fats and oils, such as the melting point, iodine, and saponification indices. In cocoa butter these characteristics will provide important evidence about its functional properties, as well as its convenience when used in

certain products in the pharmaceutical, cosmetic and chocolate industries. Martin Jr. (4), and Charman (5) report that the combination and position of fatty acids on the glycerol molecule of cocoa butter produce a complex mixture of melting ranges.

The plasticity range of cocoa butter is very narrow compared with other edible fats and its melting properties are intimately associated with consumers perception of the quality of good chocolate.

Venezuelan cocoa has a unique taste and aroma which are largely appreciated in the international market (6). In spite of this, in Venezuela there is very little information about the chemical and physical characteristics of the fat extracted from the different cultivars of cocoa (*Theobroma cacao* L.) that are grown. On the other hand, we also evidence the lack of specific data on the chemical composition of the beans obtained from these cultivars and only those studies related to the agronomic aspects, with the intent to improve the selection of new genetic material, have received the necessary attention.

The purpose of this study is to determine the proximate composition of cocoa beans and the chemical and physical

characteristics of fat extracted from different hybrid cultivars (Amazon x Forastero and Amazon x Criollo) of cocoa (*Theobroma cacao* L.) that are most representative of the collection of the Germplasm Bank of the Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP) at Ocumare de la Costa, Aragua State, Venezuela.

MATERIALS AND METHODS

The Germplasm Bank of FONAIAP, in Ocumare de la Costa, Aragua State provided the pods of hybrid cultivars (*Theobroma cacao* L.). The cultivars (IMC11 x OC60, IMC11 x OC61, IMC11 x OC73, IMC11 x OC77, and IMC67 x SC10) were the result of crosses between Amazon cocoa cultivars brought from Peru, the Iquito Mixed Calabacillo (IMC) and the Santa Cruz (SC) a cocoa Forastero cultivar from Barlovento (Venezuela) or Criollo cocoa cultivars (OC) from Ocumare de la Costa, Venezuela.

The pods were harvested individually from 7 trees of each cultivar, chosen at random between February and April 1995. The degree of ripeness was established according to the physical characteristics of the pods.

The pods were individually opened to remove the beans, from which the mucilage was removed with sawdust. The beans were dried on aluminum trays in a Uniterm Drier mechanical desiccator with forced ventilation at 60°C for a period of 24 hours. After the pods were dry, the testa was removed manually. All the beans from the same cultivar were mixed and ground in a Bel Art Products Micro-Mill, and then sifted to obtain a fine powder on which the proximal analysis was carried out. The moisture content of fresh-shelled cotyledons free of germ was determined according to the AOAC (7) and the results were expressed as g/100g.

The cocoa butter was extracted with light petroleum ether (40-60°C) in a Soxhlet apparatus for a period of 24 hours. After the solvent was evaporated, the fat residue was stored at 5°C until it was needed for analysis.

Proximate composition

Moisture, ash and crude fibre analyses of the cocoa beans were carried out according with the official methods of the AOAC (7). The proteins and the fat were determined according with the Office International du Cacao et du Chocolat (8) methods. Carbohydrates were calculated by difference.

Physical and chemical characteristics

The iodine (Wijs), saponification, and refractive indices, and the melting point of the cocoa butter were determined according with the AOAC (7) methods. All the analyses were run in triplicate, using analytical grade reagents.

Fatty acid profile

The fatty acid profile of cocoa butter was determined following the AOAC (7) methods 9698.33 and 963.22, with

a Hewlett Packard (HP) model 5730A Gas Chromatograph fitted with a flame ionization detector set at 300°C, and an HP model 3380S integrator (Hewlett Packard de Venezuela, Caracas). Separation was carried out in a stainless steel Alltech column (4 mm i.d. x 3 m length) at 190°C, packed with Hi-EEF® - IBF Diethylene glycol succinate 15% on Chromosorb W/AW 8420 80/100 (Albis Venezolana CA., Caracas). The injector temperature was 250°C. Nitrogen was the carrier gas (60 ml/min). Fatty acid identification was done by comparison with standards: L205 NIFH, C12-C18 and K128 (Alltech).

Statistical analysis

Results were expressed as mean values \pm standard deviation of three separate determinations. An analysis of variance (ANOVA) showed the variation of the data according to cultivar. Means were compared ($P \leq 0.05$) by Duncan's multiple range test (9).

RESULTS AND DISCUSSION

Proximate composition

Table 1 present the results of the moisture of the fresh beans and Table 2 the proximate analyses of the ground dried beans for the different cultivars considered in this study. Table 1 reveals that there are statistical differences ($P \leq 0.05$) among the moisture content of some cultivars. The values fall in the range of 29.12 ± 0.23 to 34.21 ± 0.49 g/100g and are lower than the ones reported by Rohan (10), for cocoa Forastero (35g/100g). These results are similar to the ones obtained by Liendo *et al.* (11) for Criollo cultivars, which fall in the range of 31.64 to 38.42 g/100g.

TABLE 1
Moisture content (g/100g) of fresh cotyledons of hybrid cultivars of *Theobroma cacao* L¹

| Hybrids | Moisture |
|----------------|--------------------|
| IMC 11 x OC 61 | 29.12 \pm 0.23a |
| IMC 11 x OC 63 | 34.21 \pm 0.49d |
| IMC 11 x OC 73 | 33.13 \pm 0.29bc |
| IMC 11 x OC 77 | 32.26 \pm 0.86b |
| IMC 67 x SC 10 | 33.32 \pm 0.36c |

¹ Mean of n = 3 \pm standard deviation. Different letters are significantly different ($P \leq 0.05$).

The moisture content of the dried powder was higher than the results reported by Offem (12), whose highest value was 4.08 for F3 Amazon cultivar. This might be due to differences in treatment. Nevertheless, our results are lower than the ones reported by Alvarado *et al.* (13) for Arriba and EET-19 cultivars grown in Ecuador, and similar to results for Criollo cultivars studied by Liendo *et al.* (11), which were in the range

of 4.35 to 7.06.

The protein analysis did not show significant differences ($p \leq 0.05$) according to the Duncan's tests among some of the cultivars. The average protein content was of 15.58 ± 0.58 g/100g. Alvarado et al. (13) did not find highly significant differences in the protein content ($p \leq 0.01$) of the different varieties studied. The average protein values found by these investigators for the cocoas cultivated in Ecuador, were 13.98 and 14.22 g/100g for the Arriba and EET-19 cultivars

respectively. The latter value is closer to the average of 15.58 g/100g obtained with the varieties studied here, but lower than the average of 17.25 g/100g for Criollo cultivars found by Liendo et al. (11). However, Offem (12) found higher protein values in the range of 23.82 to 26.26 g/100g, for younger cocoa samples and trees interspersed with palm trees; apparently, these accumulated more crude protein, due to certain environmental and ecological factors such as the nitrogen content of the soil (14).

TABLE 2
Proximate composition (g/100g) *Theobroma cacao* L. cotyledons from different hybrid cultivars¹

| Cultivar | Moisture | Protein (N x 6,25) | Fat | Ash | Crude fibre | Carbohydrates |
|--------------|------------|--------------------|--------------|-------------|-------------|---------------|
| IMC11 x OC61 | 5.86± 0.05 | 16.00±0.02 b | 52.49±0.26c | 3.37±0.10a | 7.85±0.07b | 20.29 |
| IMC11 x OC63 | 7.17± 0.03 | 15.88±0.06a | 50.16± 0.21b | 3.56±0.06b | 8.09±0.51b | 21.31 |
| IMC11 x OC73 | 5.94±0.03 | 16.21±0.08c | 54.21±0.30e | 3.54±0.14b | 5.69±0.14a | 20.35 |
| IMC11 x OC77 | 5.85±0.09 | 14.98± 0.12a | 47.27±0.14a | 3.79 ±0.06c | 8.67±0.47b | 25.29 |
| IMC67 x SC10 | 5.98±0.09 | 14.82±0.12a | 53.54±0.30d | 3.86±0.05c | 8.79±0.49b | 20.99 |

¹ Mean of $n=3 \pm$ standard deviation. Different letters in the same column are significantly different ($P \leq 0.05$). Data is indicated on dry weight basis

The ash content values ranged from 3.37 ± 0.10 to 3.86 ± 0.05 g/100g. These results are higher than those obtained by Wood 15 for African and Forastero cocoa, with an average value of 2.36 g/100g, whereas they are very similar to those of Alvarado et al. (13) for Arriba and EET-19 cultivars (4.12 and 3.69 g/100g). Only the IMC11 x OC73 presented any significant difference for crude fiber ($P \leq 0.05$). The variation interval was between 5.69 ± 0.14 to 8.79 ± 0.49 g/100g. These results are much higher than the 3.2 g/100g average reported by Wood (15), but lower than the average of 4.26 reported by Liendo et al. (11). The carbohydrate content for these hybrids presented an average of 21.65 g/100g.

The fat content values ranged from 54.21 ± 0.30 g/100g for IMC11 x OC73 to 47.27 ± 0.14 g/100g for IMC11 x OC77 with an average of 51.51 g/100g, and there were significant differences among all cultivars ($p \leq 0.05$). These results show that hybridization between IMC11 and some criollo cultivars of the Ocumare group produced, a decrease in the fat and ash content. Hybridization in general produces a decrease in the fat content. The IMC11 cultivar is an Amazon variety which apparently has a lower fat content than the Criollo cultivars, this seems to be true, since cultivars from Nigeria of the Amazon variety presented a fat content around 46.34% (12), and Vello et al. (16), reported that the Amazon clones slightly decreased the fat content of the hybrids studied by them. The

exception is the hybrid IMC11 x OC73 which has a higher fat content (54.21 g/100g) when compare to the fat level of 46.08 g/100g detected for the OC73 cultivar (11).

Dominguez (17) found that in the Venezuelan cocoas analyzed, a high fat content was associated with cultivars obtained from hybridization between Criollo and Forastero (45.87 g/100g) while the cross between Forastero and Forastero gave a lower fat content (41.42 g/100g). Nevertheless, the fat content by acid hydrolysis, found for the hybrid cultivars studied here, was higher than the ones reported by Dominguez (17), probably due to differences in the extraction method.

Glendinning and Martinson (18) found fat content in the range from 61.7 g/100g for an hybrid of a forastero Amazon from Perú and 55.9% for a Trinitario hybrid. They also found that the hybrids related to the Scavina (SCA) cultivars presented lower fat content. However, our cultivar IMC67 x SC10, an hybrid between Amazon and Forastero presented a fat content of 53.54 g/100g which is a value close to the highest found in this study but lower than the ones reported by the above mentioned investigators.

Wessels and Toxopeus (19) observed significant differences in the fat content of the different hybrids tested and concluded that these variations were caused by genetic factors. These results suggest that the fat content depends on the type of hybridization, and might explain the differences found in our

study. Nevertheless, Baez and Enriquez (20) pointed out that the environment in which the cocoa tree grows has a significant effect on the fat content in cocoa clones and hybrids.

Physical and chemical characteristics of the cocoa butter

These results are presented in Table 3. The melting temperature of cocoa butter is an important factor for the chocolate industry. The spectrum of melting point ranges of

cocoa butter is wide: incipient melting takes place between 31.2 and 32.7°C and complete melting occurs between 32 and 34°C. We cannot speak of one specific melting point, only of melting point ranges (4).

Lehrian *et al.*, (21) point out that, generally, the melting characteristics of cocoa butter are relatively constant, and variations of this behavior are caused by the changes in the type of triacylglycerols of cocoa butter.

TABLE 3
Physical and chemical indices of *Theobroma cacao* L. cocoa butter from different hybrid cultivars¹

| Cultivar | Refractive Index ND ⁴⁰ | Melting point °C | Iodine index gI ₂ /100g | Saponification m g KOH g ⁻¹ |
|----------------|-----------------------------------|------------------|------------------------------------|--|
| IMC 11 x OC 61 | 1.4560 | 36 | 32.53 ± 0.03 ^a | 193.41 ± 0.10 ^a |
| IMC 11 x OC 63 | 1.4556 | 35 | 34.11 ± 0.46 ^b | 194.85 ± 0.77 ^b |
| IMC 11 x OC 73 | 1.4571 | 36 | 32.72 ± 0.48 ^a | 194.90 ± 0.58 ^b |
| IMC 11 x OC 77 | 1.4561 | 35 | 33.69 ± 0.38 ^b | 193.96 ± 0.66 ^{ab} |
| IMC 67 x SC 10 | 1.4546 | 35.5 | 33.04 ± 0.20 ^a | 194.58 ± 0.08 ^{bb} |

¹ Mean of n= 3 ± standard deviation. Different letters in the same column are significantly different (P≤0.05).

The average refractive index found was 1.4559 and all the cultivars' refractive indices were in the range from 1.4546 to 1.4571. The refractive indices for the hybrids are very similar to the ones found for the OC criollo cultivars (11) and lower than the ones reported by Chaiseri and Dimick (3) for cocoa butters from different geographic regions, which varied from 1.4572 to 1.4580

The determination of the iodine index can prove very useful in estimating the hardness of cocoa butter, since high iodine values indicate high content of unsaturated fatty acid components which contribute to the softness in cocoa butter. The iodine index in the hybrid cultivars presented a global average of 33.20g I₂/100g of fat. The values for the IMC11 x OC77 and IMC11 x OC63 were significantly higher (P≤0,05) than those of the other cultivars, this suggest a higher content of unsaturated fatty acids and as a consequence they should have a slightly softer texture. When comparing these results for IMC x OC hybrids with the OC iodine index values (11) it can be seen that the hybrids in general showed lower iodine indices; the same tendency was observed in the melting point values.

Chaiseri and Dimick (3) point out that in the different countries of Latin America, Africa and Oceania the triacylglycerol composition had a certain influence over the cocoa butters texture and found that the cocoa butter from Venezuela was considerably harder than the cocoa butter from most other countries of the region with the exception of Mexico, because of the higher proportions of palmitic-oleic-palmitic (POP), palmitic-oleic-stearic (POS) and stearic-oleic-stearic (SOS) triacylglycerols, namely 20.4%, 40.4% and

28.8% respectively and lower than 5.2% ratios of palmitic-oleic-oleic (POO) + stearic-oleic-oleic (SOO).

Berbert and Alvim (22) suggested that in zones with an equatorial climate with very little seasonal change and high temperatures we should expect a low iodine index throughout the year. According with McHenry and Fritz (23) lower temperatures are more favorable for unsaturated fatty acid incorporation into the triacylglycerol.

The low iodine index determined in this study indicates the hardness of the fat obtained from the cultivars studied. We have also observed that the cultivars presented a high melting point (between 35 and 36°C) Table 3. This conforms with the low iodine index found in the cultivars, because the cocoa butters melting point is intimately related to the unsaturated degree of its fatty acids.

The saponification index indicates the average molecular weight of the fatty acids in fat, which are related to its organoleptic properties (firmness, taste and flavor). Comparison of saponification indices means by Duncans test showed some significant differences (p≤0.05) among the cultivars. The saponification index global average 194.32 mg KOH g⁻¹ is similar to the value reported by Chaiseri and Dimick, (3) for Latin-American, African and Malaysian cocoa butters studied, and the average value (193.74) for the Criollo cultivars studied by Liendo *et al.* (11).

Ekpa *et al.* (24) found that F3 Amazon, Amelonado and Trinitario cocoa butters had a variable iodine index from 37.05 to 39.16 gI₂/100g and a saponification index from 191.21 to 198.68 mg KOH g⁻¹ depending on the geographic location where the cocoa beans were harvested. In our study there is not

a high variation of the saponification values, since the samples were harvested at the same location.

The Venezuelan regulations (25) stipulate that cocoa butter must fulfill the following physical and chemical requirements: Refractive index from 1.456 to 1.458, melting point from 28 to 35°C; iodine index (Wijs) 33 to 40 gI₂ /100g and saponification index from 188 to 200 mg KOH g⁻¹. The cocoa butters from these cultivars comply with all requirements except the melting point and iodine index, where some of the

cultivars have a higher melting point and a lower iodine index than required, which means a harder texture.

Fatty acids profile

The hybrids revealed a variable fatty acid composition between 22.9 and 26.1% for palmitic, 34.7 to 37.3% for stearic, 36.2 to 39.9% for oleic and 1.5 to 1.6% for linoleic acids. The oleic acid showed the highest concentrations (Table 4).

TABLE 4
Fatty acid profile of cocoa butter extracted from different *Theobroma cacao* L. hybrid cultivars

| Cultivar | Fatty Acids (%) | | | | | | | |
|------------|-----------------|-------|-------|-------|-------|------|--------|-----------|
| | C16:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 | C18:3 | Sat. | Unsat. | Sat/Unsat |
| IMC11xOC61 | 25.4 | 36.8 | 36.2 | 1.6 | ND | 62.2 | 37.8 | 1.64 |
| IMC11xOC63 | 23.2 | 35.6 | 39.6 | 1.5 | ND | 58.8 | 41.1 | 1.43 |
| IMC11xOC73 | 22.9 | 37.3 | 39.7 | ND | ND | 60.2 | 39.7 | 1.58 |
| IMC11xOC77 | 23.9 | 34.7 | 39.9 | 1.5 | ND | 58.6 | 41.7 | 1.40 |
| IMC67XSC10 | 26.1 | 35.9 | 38.0 | ND | ND | 62.0 | 38.0 | 1.63 |

ND = Not detectable

These results differ from those reported for commercial cocoa by Charman (5) and Martin Jr. (4). According to Alvarado *et al.* (13), the main fatty acids of cocoa butter are palmitic, stearic and oleic, and a small proportion of linoleic. The average content of stearic acid reported for the Arriba (Forastero) (28.07) and the EET- 19 (31.36) cultivars from Ecuador was less than the average (36.06) found in this study.

Table 4 also presents the distribution of saturated and unsaturated fatty acids in the different cultivars; we can observe the larger proportion of saturated fatty acids which would partially explain the melting behavior and low iodine index of the cultivars analyzed. When the average saturated and unsaturated fatty acid content of the IMC x OC cultivars (59.95 and 40.07 respectively) results are compared with the average value of saturated (61.65) and unsaturated (38.32) fatty acids found for the OC Criollo cultivars (11), there is an evident a decrease in saturation and increase in unsaturation; nevertheless the higher content of saturated fatty acids implies that there was higher availability of intermediate saturated fatty acids in the synthesis of monounsaturated triacylglycerides POP, POS and SOS, which are associated with a firmer cocoa butter from these cultivars. There is also a low content of di and triunsaturated fatty acids, which favor the constitution of a less stable polymorphic crystalline form. According to Lehrian *et al.* (21) this is a consequence of the temperature at which the cocoa pods developed, high temperatures mean less unsaturated fatty acids; as a result there is less diunsaturated triacylglycerols to interrupt the molecular packing of the monounsaturated types. The fatty acid profile found provides evidence for the melting point and the iodine index values found.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was funded by the Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP) of Venezuela. The authors wish to thank Dr. S. Tillett for his assistance in the correction of this manuscript.

REFERENCES

1. Anonymous. Encyclopedia of Chemical Technology. Vol.6. John Wiley & Sons. Kirk-Othmer 1979;pp 1-18.
2. Anonymous. Centro de Comercio Internacional. Cacao fino y de aroma: Estudio de la producción y comercio mundiales. UNCTAD/GATT. Ginebra-Suiza. 1991;pp vii, 60
3. Chaiseri S and Dimick PS. Lipid and hardness characteristics of cocoa butters from different geographic regions. J Am Oil Chem Soc 1989;66: 1771-1780.
4. Martin Jr RA. Chocolate. *Adv Food Sci* 1987;31: 211-342.
5. Charman D. In Lipidos. Editorial Alhambra. España 1973; pp. 63-66.
6. Anonymous. Boletín Internacional del Cacao. Organización Internacional del Cacao. Londres. Reino Unido. No. 7. 1995;pp 2-4.
7. AOAC. Official Methods of Analysis 15 ed, Association of Official Analytical Chemists. Washington DC. 1990.
8. Office International du Cacao et du Chocolat. Methodes D'Analyse. Verlag Max Glattli, Zurich, Switzerland, pp 6a,8^a. 1963.
9. Steel RGD and Torrie JH. Principios y Procedimientos 2nd ed. Mc Graw Hill, Interamericana México. 1992, p. 122. 20. Baez, O. L., Enriquez, G. A. Contenido de grasa en la semilla de clones e híbridos de cacao *Theobroma cacao* L., del Catie.

- Turrialba, Costa Rica. El Cacaotero Colombiano. 1987;10(34): 23-31.
10. Rohan TH. El beneficio del cacao bruto destinado al mercado. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma. 1964. p. 223.
 11. Liendo R, Padilla FC and Quintana A. Characterization of cocoa butter extracted from Criollo cultivars of *Theobroma cacao* L. Food Res Internat. 1998;30:727-731.
 12. Offem JO. Individual variation in the amino acid and chemical composition of defatted cocoa meal of three varieties of cocoa (*Theobroma cacao*) from south-eastern Nigeria. J Sci Food Agric 1990;52:129-135.
 13. Alvarado JD, Villacis FE, y Zamora GF. Effect of harvest season on composition of raw and fermented cotyledons of two varieties of cocoa and shell fractions. Arch Latinoamer Nutr 1983;33: 339-355.
 14. Moreira M. La calidad del cacao. Revista Informativa del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Ecuador. 1994;4: 24-26.
 15. Wood GAR. Cocoa. 3rd Ed. (The Tropical Agriculture Series). London-UK; Longman-Group-Ltd. 1975; pp. 292, 304.
 16. Vello F, García JR. y Magalhaes WS. Producao y selecao de cacaueiros híbridos na Bahía. Theobroma 1972;2 (3): 15-352.
 17. Dominguez RPF. El contenido de grasa en almendras de cacao y su influencia en la industria cacaotera venezolana. Revista de la Facultad de Agronomía. 1969;5: 82-9.
 18. Glendinning DR and Martinson VA. Fat contents, bean sizes and shell percentages, In: Cocoa Research Institute of Ghana, Annual Report 1965-1966. Tafo, Ghana 1968; pp. 87-89.
 19. Wessels M and Toxopeus H. Seasonal influence on pod and bean values of West African Amelonado Cacao. In: Second International Cacao Research Conference, Bahia Brasil. Centro de Pesquisas du Cacao, Bahía. Proceedings: 1969;351-355.
 21. Lehrian DW, Kenney PG and Butler DR. Triglyceride characteristics of cocoa butter from cacao fruit matured in a microclimate of elevated temperature. J Am Oils Chem Soc 1980;57: 66-69.
 22. Berbert PRF and Alvim P. Fatores que afectam o indice de iodo de manteiga de cacau do Brasil. R. *Theobroma*. 1972;2: 3-16.
 23. McHenry L and Fritz PJ. Cocoa butter biosynthesis: Effect of temperature on *Theobroma cacao* acyltransferases. J Amer Oil Chem Soc 1987;64:1012-1015.
 24. Ekpa O, Akpa AA. and Udo AE. Industrially important parameters and mineral composition of cocoa: A comparative study of cocoa pod husks and beans from plantations in south-eastern Nigeria. J Sci Food Agri 1993;61: 47-50.
 25. COVENIN Comisión Venezolana de Normas Industriales. Manteca de Cacao. Norma 1987;1397-87. Fondonorma. Caracas.

Recibido: 24-05-1999

Aceptado:13-01-2000

slan 2000

BUENOS AIRES

12^{VO} CONGRESO LATINOAMERICANO DE NUTRICION

PRESIDENTE

Dr. Alejandro O'Donnell

SECRETARIO

Dr. Esteban Carmuega

TESORERO

Dr. Raúl Ulcich

Comité Organizador

Enrique Abeya Gilardon
Sandra Blasi
Mária Angélica Domeq
Lisandro García
Patricia Ronayre de Ferrer

Comisión Asesora

Guillermo Arroyave (EUA)
José María Bengoa (Ven.)
Ricardo Bressani (Guat.)
Carlos Hernán Daza (Col.)
Miguel Layrisse (Ven.)
Fernando Monckeberg (Chile)
Alberto Pradilla (Col.)
Juan Claudio Sanahuja (Arg.)
Nevin Scrimshaw (EUA)

Comisión Científica

Esteban Carmuega, Coordinador (Argentina)
Héctor Araya (Chile)
Héctor Bourges (México)
Kenneth Brown (EUA)
Benjamín Caballero (EUA)
Elvira Calvo (Argentina)
Erick Díaz (Chile)
José Dutra de Olivera (Brasil)
Cutberto Garza (EUA)
Alberto Giorgi (Argentina)
María Esther Gómez del Río (Argentina)
Horacio González (Argentina)
Guillermo López de Romaña (Perú)
Juan Carlos López Mussi (Argentina)
Reynaldo Martorell (EUA)
Carlos Monteiro (Brasil)
José Luis Parada (Argentina)
Mario Perman (Argentina)
Juan Rivera (México)
Isaías Schor (Argentina)
Noel Solomons (EUA)
Fernando Viteri (EUA)

Sheraton Hotel
Buenos Aires, Argentina

12 al 16 de Noviembre 2000

Ejes Temáticos

- El paradigma de la nueva malnutrición en América Latina: obesidad, retraso crónico de crecimiento, desnutrición oculta
- La tercera edad como un problema nutricional emergente.
- El pensamiento nutricional detrás de los programas asistenciales y preventivos.
- Factores de riesgo nutricionalmente modificables.
- Hacia una nueva nutrición clínica en América Latina.
- La vida intrauterina y los primeros años determinantes de la salud, crecimiento y calidad de vida de una sociedad.
- De qué y cómo se alimentará América Latina en el 2020.

Fecha Límite Presentación de Trabajos

30 de Julio de 2000

Información y Envío de Trabajos

Sede Virtual: www.slan2000.com

Secretaría CESNI

Bernardo de Yrigoyen 240 (1072) Bs.As., Argentina.
Tel/Fax: 5411 4334 1545 / 5411 4334 2693
cesni@datamarkets.com.ar

www.slan2000.com



CENTRO DE ESTUDIOS
SOBRE NUTRICIÓN INFANTIL



SOCCIEDAD LATINOAMERICANA
DE NUTRICIÓN



NOTAS

XII CONGRESO LATINOAMERICANO DE NUTRICION

12 al 16 de noviembre de 2000
Hotel Sheraton - Buenos Aires - Argentina

Secretaría Científica: CESNI

Bernardo de Irigoyen 240-(C1072AAF) Buenos Aires - Argentina

Telefax: (54-11) 4334-1545 / 4345-6011

E-mail: cesni@datamarkets.com.ar

Inscripciones al Congreso, Hotelería y Turismo: María Graziani & Asociados

Carlos Pellegrini 979, 6th. Floor «21»-(1009) - Buenos Aires, Argentina

Tel: (54-11) 4393-3437 / 4394-7726; Fax: (54-11) 4393-3436

E-mail: graziani@nat.com.ar

SLAN en Internet www.slan2000.com

Instrucciones para el envío de resúmenes:

Fecha límite: 30 de Agosto, 2000

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición invita a enviar trabajos de investigación originales en los diferentes campos de la nutrición para su presentación en el XII Congreso Latinoamericano.

Los idiomas oficiales del Congreso son el español y el portugués. Todos los resúmenes deben ser enviados en uno de los dos idiomas oficiales, y en caso de optar para premio, una copia del mismo en inglés.

El envío de resúmenes al Comité Evaluador requiere de la inscripción de, por lo menos, el autor principal del trabajo. Para realizar dicha inscripción, cuyo valor es de US\$ 150.- complete y envíe la Proforma de Inscripción.

4to. CONGRESO MEXICANO DE NUTRIOLOGIA

15-18 octubre de 2000
Xalapa, Veracruz

Para mayor información: Monterrey, N.L.

Tel.: (52) (8) 333 9968

Fax: (52) (8) 348 60 80, 348 6447

correo electrónico: ygarza@ccr.dsi.uanl.mx

<http://www.uanl.mx/uanl/escuelas/facultades/faspy>

WORKSHOP ON THE EVALUATION OF ALTERNATIVE METHODS FOR CARCINOGENICITY TESTING

November 1-3, 2000. Lansdowne Resort. Leesburg, Virginia, USA

Conference Sponsors and Supporters

ILSI Health and Environmental Sciences Institute
National Institute of Environmental Health Sciences
U.S. Environmental Protection Agency

For more information: To learn more about ILSI or this conference, visit our website at <http://www.ilsi.org> or send your inquiry to:

Mail: HESI ACT Workshop - International Life Sciences Institute - 1126 Sixteenth Street, NW - Washington, DC 20036-4810, USA

Fax: 1-202-659-3859

E-mail: meetings@ilsi.org (refer to HESI ACT)

XX IVACG MEETING TO CELEBRATE SILVER ANNIVERSARY, (February 2001 in Vietnam)

«Twenty-five years of Progress: Looking to the Future» is the tentative theme of the XX IVACG Meeting, 11-17 February 2001, in Hanoi Vietnam.

The meeting agenda will include invited presentations on the meeting theme as well as up-to-date guidance on identifying vitamin A deficiency, implementing appropriate interventions, and monitoring and evaluating progress in controlling and preventing vitamin A deficiency. Oral and poster presentations will be selected from submitted abstracts on the following topics:

- Progress in assessment methods for identifying vitamin A deficiency in population groups
- Decision making based on appropriate indicators for monitoring and evaluating vitamin A deficiency intervention programs.
- Interventions to alleviate vitamin A deficiency, for example,
 - Evidence of the effectiveness of dietary diversification
 - Successful strategies for implementing vitamin A fortification in additional countries and additional vehicles.
 - Innovative approaches for vitamin A supplementation programs.
- Biologic interactions.

The XX IVACG Meeting is sponsored by the International Vitamin A Consultative Group (IVACG) and the local organizing committee in Vietnam. IVACG receives funds through Micronutrient Global Leadership, a project of the

Office of Health and Nutrition, Global Bureau for Programs, Field Support and Research, U.S. Agency for International Development, and others.

INACG SYMPOSIUM
(February 2001 in Vietnam)

The INACG Symposium, 16 February 2001, in Hanoi, Vietnam. The International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG) is holding its second international meeting to provide an opportunity for participants from many countries to share expertise on the promotion of programs and research dedicated to significantly reducing iron deficiency in the world. This meeting will follow immediately the XX IVACG Meeting, 11-15 February 2001 in Hanoi.

The meeting agenda will include invited presentation on the meeting theme, «*Why iron is important and what to do about it: A new Perspective*». The agenda will also include up-to-date guidance on identifying iron deficiency, implementing appropriate interventions, and monitoring and evaluating progress in controlling and preventing iron deficiency. Oral and poster presentations will be selected from submitted abstracts on the following topics:

- Anemia and mortality (maternal, perinatal and infant)
- Anemia/Iron deficiency and infectious disease progression (i.e. malaria, HIV/AIDS, etc.)
- Anemia/Iron deficiency and child development (including growth, mental, and physiological development)
- Assessment of iron status
- Program implementation and evaluation (i.e. fortification, supplementation, and diet-based programs)
- Anemia/Iron deficiency and work productivity

Preference will be given to abstracts providing new, exciting findings with data relative to these topics.

INACG welcomes to its meetings participants from international agencies, national ministries, educational institutions, food and chemical industries, and nongovernmental organizations. Among the more than 400 participants expected to attend the INACG Meeting from 60 countries are policy makers, program managers, planners, and scientists in health, nutrition, biochemistry, agriculture, horticulture, education, communications, and development.

To receive a copy of the abstract form or other information about the INACG-IVACG Meeting, please write to the INACG-IVACG Secretariat, ILSI Research Foundation, 1126 Sixteenth Street, N.W., Washington, D.C. 20036-4810, USA. The secretariat's telephone number is 202-659-9024; its fax number is 202-659-3617; and its e-mail address is HNI@ILSI.ORG. INACG information is available on the World Wide Web at <http://www.ilsis.org/inacg.html>.

**FORGING EFFECTIVE STRATEGIES TO COMBAT
IRON DEFICIENCY**

Atlanta, Georgia - May 7-9, 2001
Emory Conference Center Hotel

For further information on this conference, or to be placed on the mailing list for the detailed program information, contact Ms. Mai-Anh Hoang, Program Manager, Project IDEA at the ILSI Center for Health Promotion, 770-934-1010 (phone), 770-934-7126 (fax), or mhoang@ilsis.org (email).

BIOAVAILABILITY 2001

May 30-June 1, 2001
Interlaken, Switzerland

The objective of this conference is to discuss results of recent scientific research related to Bioavailability of Micronutrients in Relation to Public Health.

The format of the conference will be three half-day plenary sessions on bioavailability of minerals and trace elements (May 30), minor plant constituents (May 31) and vitamins and pro-vitamins (June 1), followed by workshops and poster sessions.

Scientific Committee

Dr. R.F. Hurrell, Switzerland (chair)
Dr. R. Amado, Switzerland
Dr. D. Barclay, Switzerland
Dr. L. Davidsson, Switzerland
(chair local organizing committee)
Dr. S. Fairweather-Tait, UK
Dr. A. Flynn, Ireland
Dr. I. Johnson, UK
Dr. H. Kozłowska, Poland
Dr. U. Moser, Switzerland
Dr. B. Sandström, Denmark
Dr. H. van den Berg, The Netherlands
Dr. C. West, The Netherlands

Bioavailability 2001; c/o Laboratory for Human Nutrition, Institute of Food Science, Swiss Federal Institute of Technology (ETH), PO Box 474, CH-8803 Rueschlikon, Switzerland
Fax: Int + 41 1 704 57 10 (Attn. Mrs. K. Santagata)

NUEVOS LIBROS

«Protocolos de evaluación sanitaria rápida en situaciones de emergencia», Organización Mundial de la Salud. Ginebra, 1999.

«Tratamiento de la malnutrición grave: Manual para médicos y otros profesionales sanitarios superiores», Organización Mundial de la Salud. Ginebra, 1999.

«The management of nutrition in major emergencies». World Health Organization. Geneva, 2000.

Información para los autores

Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas ¹

Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas ²

En enero de 1978, un pequeño grupo de directores de revistas médicas generales se reunieron en Vancouver, Canadá, para fijar pautas con respecto a la presentación de los manuscritos enviados a ellas. El grupo, que se ha ampliado y actualmente es conocido como el Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (o también como el Grupo de Vancouver), se ha venido reuniendo cada año desde entonces y sus inquietudes se han hecho más generales. El comité ha elaborado cuatro ediciones de los *Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas*; la presente edición, que es la cuarta, fue ligeramente enmendada en enero de 1993³.

RESUMEN DE LOS REQUISITOS

El manuscrito se mecanografiará a doble espacio, incluidos la página del título (página inicial, portada), el resumen, el texto, los agradecimientos, las referencias, los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones.

Cada componente del manuscrito empezará en página aparte,

siguiendo esta secuencia: página del título; resumen y palabras clave; texto; agradecimientos; referencias; cuadros (cada uno, junto con el título y las notas al pie, en página aparte); y pies o epígrafes de las ilustraciones.

Las ilustraciones se presentarán en forma de impresiones fotográficas de buena calidad, en papel satinado, sin montar y generalmente de 127 x 173 mm, sin exceder de 203 x 254 mm.

Las copias del manuscrito y de las ilustraciones en el número requerido (véanse las instrucciones de la revista) se remitirán en un sobre de papel resistente. El manuscrito irá acompañado de una carta explicatoria, según se describe más adelante en "Presentación del manuscrito a la revista", y de los permisos necesarios para reproducir material ya publicado o para usar ilustraciones en las que se pueda identificar a alguna persona.

Síganse las instrucciones de la revista con respecto a la cesión de los derechos de autor. Los autores conservarán copia de todo lo enviado.

PUBLICACION PREVIA Y DUPLICADA

La mayoría de los directores de revista no desean considerar para publicación un manuscrito acerca de un trabajo que ya se ha dado a conocer en un artículo publicado o que se ha descrito en un artículo propuesto o aceptado para publicación en otra parte, ya sea un medio impreso o electrónico. Por lo general, esta norma no impide considerar un artículo rechazado por otra revista o una comunicación completa que sigue a la publicación, por lo común bajo la forma de un resumen, de un informe preliminar. Tampoco impide considerar un artículo presentado en una reunión científica si éste no aparece íntegramente en las actas de la reunión o una publicación semejante. Las informaciones periódísticas acerca de la reunión no se considerarán en general como infracciones de esta regla, pero no habrán de ampliarse mediante datos suplementarios o copias de los cuadros o las ilustraciones. Cuando se propone un artículo para publicación, el autor está obligado a informar plenamente al director de la revista acerca de cualquier presentación del documento a otras revistas o cualquier informe anterior que pudiera considerarse publicación previa o duplicada de un mismo trabajo o de uno muy semejante. Junto con el manuscrito se incluirán copias de los documentos pertinentes para ayudar al director a decidir la manera de hacer frente a este asunto.

Rara vez se justifica la publicación múltiple, que se define como el acto de publicar más de una vez los mismos resultados

¹ Versión española basada en: *International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*. JAMA 1993;269:2282-6.

Este documento no está protegido por derechos de autor. Puede copiarse o reimprimirse sin autorización, siempre y cuando se haga sin fines de lucro.

Las consultas y observaciones deben dirigirse a Kethleen Case, Secretariat Office, Annals of Internal Medicine, Independence Mall West, Sixth Street at Race, Philadelphia, PA 19106-1572.

Traducción: Dr. Gustavo A. Silva, traductor y redactor médico, miembro de la American Medical Writers Association, el Council of Biology Editors y la European Association of Science Editors. Dirección postal: 5313 King Charles Way, Bethesda, MD 20814, Estados Unidos de América.

² Actualmente se hallan representadas en el comité las siguientes revistas y publicaciones: *Annals of Internal Medicine*, *British Medical Journal*, *Canadian Medical Association Journal*, *The Journal of the American Medical Association*, *The Lancet*, *The Medical Journal of Australia*, *The New England Journal of Medicine*, *New Zealand Medical Journal*, *Tidsskrift for den Lageforening*, *The Western Journal of Medicine e Index Medicus*.

³ Artículo original publicado en el *Bol of Sanit Panam* 116(2):146-59, 1994.

de un estudio, aunque la redacción se cambie. Una posible justificación es la publicación secundaria en otro idioma, siempre y cuando se cumplan las siguientes condiciones:

1. Se informará cabalmente a los directores de las dos revistas involucradas; el director de la publicación secundaria tendrá en su poder una fotocopia, reimpresso o manuscrito de la versión primaria.
2. Se respetará la precedencia de la publicación primaria dejando transcurrir un intervalo de por lo menos dos semanas antes de sacar a la luz la versión secundaria.
3. El artículo secundario estará dirigido a un grupo diferente de lectores y no será simplemente una traducción del primario; incluso, a menudo basta con una versión resumida.
4. La versión secundaria reflejará fielmente los datos y las interpretaciones de la primaria.
5. Mediante una nota colocada al pie de la primera página de la versión secundaria, se informará a los lectores, los colegas de los autores y los organismos de documentación que el artículo se ha editado y se destina a un público nacional en paralelo con la versión primaria, basada en los mismos datos e interpretaciones. Este podría ser un texto apropiado para dicha nota: "El presente artículo está basado en un estudio que se dio a conocer primero en (título de la revista y referencia completa)".

Los directores no aceptarán la publicación múltiple que discripe de la definición anterior. Si los autores transgreden esta regla, tendrán que atenerse a las medidas editoriales del caso.

La divulgación preliminar, generalmente por conducto de los medios de comunicación de masas, de la información científica contenida en un artículo ya aceptado pero aún sin publicar representa una infracción de las normas de muchas revistas. En contadas ocasiones, y sólo mediante previo acuerdo con el director, puede aceptarse la diseminación preliminar de datos; por ejemplo, cuando se trata de precaver a la gente contra ciertos riesgos para la salud pública.

PREPARACION DEL MANUSCRITO

Mecanográfese o imprímase el manuscrito en papel bond blanco de 216 x 279 mm o de la medida estándar ISO A4 (212 x 297 mm), con márgenes de por lo menos 25 mm. Escribese solamente sobre una cara del papel. Utilícese doble espacio a lo largo de todo el manuscrito o impreso de computadora, incluidos 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. Cada uno de los siguientes componentes comenzará en hoja aparte: página del título, resumen y palabras clave; texto, agradecimientos, referencias, cada uno de los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones. Numérense las páginas en forma consecutiva, empezando por la del título. Sobre el ángulo superior o inferior derecho de cada página anótese el número correspondiente.

PAGINA DEL TITULO

La primera página contendrá: a) el título del artículo, que será conciso pero informativo; b) nombre y apellido(s) de cada autor, acompañados de sus grados académicos más importantes y su

afiliación institucional; c) nombre del departamento o departamentos y la institución o instituciones a los que se debe atribuir el trabajo; d) declaraciones de descargo de responsabilidad, si las hay; e) nombre y dirección del autor que se ocupará de la correspondencia relativa al manuscrito; f) nombre y dirección del autor a quien se dirigirán las solicitudes de separatas, o nota informativa de que los autores no las proporcionarán; g) origen del apoyo recibido en forma de subvenciones, equipo o medicamentos; y h) título abreviado (titulillo) que no pase de 40 pulsaciones (contando caracteres y espacios), el cual se colocará, debidamente rotulado, en la última línea de la página inicial.

AUTORIA

Todas las personas designadas como autores habrán de cumplir con ciertos requisitos para tener derecho a la autoría. Cada autor debe haber participado en el trabajo en grado suficiente para asumir responsabilidad pública por su contenido.

Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial por lo que se refiere a: a) la concepción y el diseño del estudio, o el análisis y la interpretación de los datos; b) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte importante de su contenido intelectual; y c) la aprobación final de la versión que será publicada. Los requisitos a, b y c tendrán que cumplirse siempre. La participación que consiste meramente en conseguir financiamiento o recoger datos no justifica que se le conceda a nadie 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.

En un artículo de autor corporativo (colectivo) se especificará quiénes son las personas principales que responden del documento; a los demás individuos que colaboraron en el trabajo se les concederá un reconocimiento por separado (véase "Agradecimientos").

Los directores de revista podrán solicitar a los autores que justifiquen la asignación de la autoría.

Cada vez con más frecuencia, los ensayos multicéntricos se atribuyen a un autor corporativo. Todos los miembros del grupo que sean nombrados como autores, bien sea en la línea a continuación del título o en una nota a pie de página, deben satisfacer plenamente los criterios de autoría definidos en los *Requisitos uniformes*. Los miembros del grupo que no los satisfagan deben ser mencionados, con su autorización, en la sección de agradecimientos o en un apéndice (véase "Agradecimientos").

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

La segunda página incluirá un resumen (que no excederá las 150 palabras de extensión si es un resumen ordinario o las 250 si es uno estructurado). En él se indicarán los propósitos del estudio o investigación; los procedimientos básicos (la selección de los sujetos de estudio o los animales de laboratorio, los métodos de observación y analíticos); los resultados más importantes (proporcionense datos específicos y, de ser posible, su significación estadística); y las conclusiones principales. Hágase hincapié en los aspectos nuevos o 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 indicadores a clasificar el artículo, las cuales se publicarán junto

con el resumen. Utilícese para este propósito los términos de la lista *Medical Subject Headings* (MeSH) [Encabezamientos de materia médica] del *Index Medicus*; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en los MeSH, podrán usarse las expresiones corrientes.

TEXTO

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que lleven estos encabezamientos: introducción, métodos, resultados y discusión. En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas divisiones a fin de hacer más claro el contenido, sobre todo en las secciones de resultados y discusión. 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.

Introducción

Expresé el propósito del artículo. Resuma el fundamento lógico del estudio u observación. Mencione las referencias estrictamente pertinentes, sin hacer una revisión extensa del tema. 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 los métodos, aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Proporcione referencias de los métodos acreditados, incluidos los de índole estadística (véanse más adelante); dé referencias y explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos; describa los métodos nuevos o 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.

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, enmendada en 1983. No use el nombre, las iniciales ni el número de clave hospitalaria de los pacientes, especialmente en el material ilustrativo. Cuando dé a conocer experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución, las del Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos o cualquier ley nacional acerca del cuidado y el uso de animales de laboratorio.

Estadística

Describa los métodos estadísticos con detalle suficiente para que el lector versado en el tema y que tenga acceso a los datos

originales pueda verificar los resultados informados. 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 diseño del estudio y métodos estadísticos serán de trabajos vigentes (indicando el número de las páginas), más bien que 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 los 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”, “correlación” 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 los datos de los cuadros o 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 resultados. Explique en la sección de discusión el significado de los resultados y sus limitaciones, incluidas sus consecuencias para la investigación futura. Relacione las observaciones con otros estudios pertinentes. Establezca el nexo de las conclusiones con los objetivos del estudio, pero absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que no estén completamente respaldadas por los datos. No reclame ningún tipo de precedencia ni mencione trabajos que no estén terminados. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales. 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) una o varias declaraciones especificarán a) las colaboraciones que deben ser reconocidas pero que no justifican la

autoría, tales como el apoyo general del jefe del departamento; b) la ayuda técnica recibida; c) el agradecimiento por el apoyo financiero y material, especificando la índole del mismo; d) las relaciones financieras que puedan suscitar un conflicto de intereses.

Las personas que colaboraron intelectualmente pero cuya participación no justifica la autoría pueden ser citadas por su nombre, añadiendo su función o tipo de colaboración; por ejemplo, "asesor científico", "revisión crítica de la propuesta para el estudio", "recolección de los datos", "participación en el ensayo clínico". Estas personas deberán conceder su permiso para ser nombradas. Los autores se responsabilizan 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 las ilustraciones, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Las referencias citadas solamente en cuadros o ilustraciones se numerarán siguiendo una secuencia que se establecerá por la primera mención que se haga en el texto de ese cuadro o esa figura en particular.

Emplee el estilo de los ejemplos que aparecen más adelante, los cuales están basados en el formato que la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos usa en el *Index Medicus*. Abrevie los títulos de las revistas de conformidad con el estilo utilizado en dicha publicación. Consulte la *List of Journals Indexed in Index Medicus* [Lista de revistas indizadas en *Index Medicus*], que se publica anualmente como parte del número de enero y como separata.

Absténgase de utilizar los resúmenes como referencias. Tampoco cite como referencias las "observaciones inéditas" y las "comunicaciones personales". En cambio, puede usted insertar en el texto (entre paréntesis) las referencias a comunicaciones escritas, no verbales. Asimismo, incluya en las referencias los artículos aceptados aunque todavía no estén publicados; en este caso, indique el título de la revista y agregue "En prensa". La información sobre manuscritos presentados a una revista pero que aún no han sido aceptados cítela en el texto como "observaciones inéditas" (entre paréntesis).

Los autores verificarán las referencias cotejándolas contra los documentos originales.

Se presentan a continuación una serie de ejemplos de formas correctas de referencias.

Artículos de revistas científicas

1. **Artículo ordinario (Inclúyase el nombre de todos los autores cuando sean seis o menos; si son siete o más, anótese sólo el nombre de los seis primeros y agréguese "et al."):**

⁴ Evidentemente, por "extranjero" se entiende aquí en relación con el idioma inglés, pues los ejemplos de referencias bibliográficas se han trasladado directamente del original, sin adaptarlas. (N. del T.).

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980 Aug;79(2):311-4.

Como opción, si una revista utiliza la paginación continua a lo largo de un volumen, podrán omitirse el mes y el número.

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4.

Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Law LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.

2. **Autor corporativo:**

The Royal Marsden Hospital Bone-marrow Trans-plantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

3. **No se indica el nombre del autor:**

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.

4. **Artículo en idioma extranjero⁴:**

Massone L, Borghi S, Pestarino A, Piccini R, Gambini C. Localisations palmaires purpuriques de la dermatite herpétiforme. *Ann Dermatol Venerol* 1987;114:1545-7.

5. **Suplemento de un volumen:**

Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 Suppl 5:75-8.

6. **Suplemento de un número:**

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Paine SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

7. **Parte de un volumen:**

Hanly C. Metaphysics and innateness: a psycho-analytic perspective. *Int J Psychoanal* 1988;69(Pt 3):389-99.

8. **Parte de un número:**

Edwards L, Meyskens F, Levine N. Effect of oral isotretinoin on dysplastic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1989;20(2 Pt 1):257-60.

9. **Número sin volumen:**

Baumeister AA. Origins and control of stereotyped movements. *Monogr Am Assoc Ment Defic* 1978;(3):353-84.

10. **Sin número ni volumen:**

Danoek K. Skiing in and through the history of medicine. *Nord Medicinhist Arsb* 1982:86-100.

11. **Paginación en números romanos:**

Ronne Y. Ansvarsfall. Blodtransfusion till fel patient. *Vardfacket* 1989;13:XVI-XXVII.

12. **Indicación del tipo de artículo, según corresponda:**

Spargo PM, Manners JM. DDAVP and open heart surgery [letter]. *Anaesthesia* 1989;44:363-4.

Fuhrman SA, Joiner KA. Binding of the third component of complement C3 by *Toxoplasma gondii* [abstract]. *Clin Res* 1987;35:475A.

13. **Artículo que contiene una retractación:**
Shishido A. Retraction notice: Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retraction of Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. In: Jpn J Med Sci Biol 1979;32:53-65]. Jpn J Med Sci Biol 1980;33:235-7.
14. **Artículo retirado por retractación:**
Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retracted by Shishido A. In: Jpn J Med Sci Biol 1980;33:235-7]. Jpn J Med Sci Biol 1979;32:53-65.
15. **Artículo que contiene un comentario sobre otro trabajo:**
Piccoli A, Bossatti A. Early steroid therapy in IgA neuropathy: still an open question [comment]. Nephron 1989;51:289-91. Comment on: Nephron 1988;48:12-7.
16. **Artículo que ha sido comentado en otro trabajo:**
Kobayashi Y, Fujii K, Hiki Y, Tateno S, Kurokawa A, Kamiyama M. Steroid therapy in IgA nephropathy: a retrospective study in heavy proteinuric cases [see comments]. Nephron 1988;48:12-7. Comment in: Nephron 1989;51:289-91.
17. **Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas:**
Schofield A. The CAGE questionnaire and psycho-logical health [published erratum appears in Br J Addict 1989;84:701]. Br J Addict 1988;83:761-4.

Libros y otras monografías

18. **Individuos como autores:**
Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2nd rev ed. London: S Paul, 1986.
19. **Directores o compiladores como autores:**
Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlar, 1988.
20. **Organización como autor y editor:**
Virginia Law Foundation. The medical and legal implications of AIDS. Charlottesville: The Foundation, 1987.
21. **Capítulo de libro:**
Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974:457-72.
22. **Actas de conferencias:**
Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.
23. **Artículo presentado a una conferencia:**
Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, editors. Indoor air and human health. Proceeding of the Seventh Life Sciences Symposium; 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985:69-78.
24. **Informe científico o técnico:**
Akutsu T. Total heart replacement device. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Heart and Lung Institute; 1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-69-2185-4.
25. **Tesis doctoral:**
Youssef NM. School adjustment of children with congenital heart disease [dissertation]. Pittsburgh (PA): Univ of Pittsburgh, 1988.
26. **Patente:**
Harred JF, Knight AR, McIntyre JS, inventors. Dow Chemical Company, assignee. Epoxidation process. US patent 3,654,317. 1972 Apr 4.

Otros trabajos publicados

27. **Artículo de periódico:**
Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. The Washington Post 1989 Aug 7;Sect A:2(col 5).
28. **Material audiovisual:**
AIDS epidemic the physician's role [videorecording]. Cleveland (OH): Academy of Medicine of Cleveland, 1987.
29. **Archivo de computadora:**
Renal system [computer program]. MS-DOS version. Edwardsville (KS): Medi-Sim, 1988.
30. **Documentos legales:**
Toxic Substances Control Act: Hearing on S776 Before the Subcomm. on the Environment of the Senate Comm. on Commerce, 94th Congr., 1st Sess. 343 (1975).
31. **Mapas:**
Scotland [topographic map]. Washington: National Geographic Society (US), 1981.
32. **Libro de la Biblia:**
Ruth 3:1-18. The Holy Bible. Authorised King James version. New York: Oxford Univ Press, 1972.
33. **Diccionarios y obras de consulta semejantes:**
Ectasia. Dorland's illustrated medical dictionary. 27th ed. Philadelphia: Saunders, 1988:527.
34. **Obras clásicas:**
The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. Londond: Rex, 1973.

Trabajos inéditos

35. **En prensa:**
Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. Science. In press.

CUADROS

Mecanografíe 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, utilídense 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 sea 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 ser publicados, queden depositados en un servicio de archivo, como el National Auxiliary Publications Service (NASP) [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. Sea como fuere, dichos cuadros se presentarán junto con el artículo.

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 $127 \infty 173$ mm, sin exceder de $203 \infty 254$ 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 publicarlas. 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 se rompen y quedan marcadas. Las figuras no se doblarán ni se montarán sobre el cartón.

Las fotomicrografías incluirán en sí mismas un indicador de la escala. Los símbolos, flechas y letras usados en éstas contrastarán claramente con el fondo.

Si se usan fotografías de personas, éstas 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.

En el caso de las ilustraciones en color, averigüe si la revista necesita negativos, transparencias o impresiones fotográficas. La inclusión de un diagrama en el que se indique la parte de la fotografía que debe reproducirse puede resultar útil a la redacción. Algunas revistas publican ilustraciones en color únicamente si el autor paga el costo extra.

Pies o epígrafe 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) o sus múltiplos 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 SIMBOLOS

Utilice únicamente abreviaturas ordinarias. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura, ésta irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

PRESENTACION 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 durante la manipulación postal. Meta las fotografías y transparencias en su propio sobre de papel resistente.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de presentación que proporcione: a) información acerca de la publicación previa o duplicada, la presentación del manuscrito a otra revista o la publicación de cualquier parte del trabajo, según lo expresado en líneas arriba; b) una manifestación de las relaciones financieras o de otro tipo que pudieran desembocar en un conflicto de intereses; c) una declaración de que el manuscrito ha sido leído y aprobado por todos los autores, que se ha cumplido con los requisitos de la autoría expuestos anteriormente en el presente documento y, más aún, que cada uno de los autores cree que el manuscrito representa un trabajo honrado; y d) el nombre, la dirección y el número telefónico del autor corresponsal, quien se encargará de comunicarse con los demás autores en lo concerniente a las revisiones y a la aprobación final de las pruebas de imprenta. La carta incluirá cualquier información suplementaria que pueda resultar útil para el director, tal como el tipo de artículo que el manuscrito representa para esa revista en particular y si el autor (o los autores) estaría(n) dispuesto(s) a sufragar el costo de reproducir las ilustraciones en color.

El manuscrito se acompañará de copias de los permisos concedidos para reproducir material ya publicado, para usar ilustraciones o revelar información personal delicada sobre individuos que puedan ser identificados, o para nombrar a ciertas personas por su colaboración.

MANUSCRITOS EN DISQUETE

Tratándose de artículos que están cercanos a la aceptación final, algunas revistas piden que los autores proporcionen los manuscritos en forma electrónica (en disquetes) y pueden aceptar una variedad de formatos de procesamiento de textos o archivos (también llamados "ficheros") de texto (ASCII).

Al presentar disquetes, los autores deben:

1. Cerciorarse de incluir un impreso de la versión del manuscrito en disquete.
2. Incluir en el disquete solamente la versión más reciente del manuscrito.
3. Poner muy claramente el nombre del archivo.
4. Rotular el disquete con el formato y el nombre del archivo.
5. Facilitar información sobre el software y el hardware empleados.

En las instrucciones de la revista dirigidas a los autores, éstos deben consultar cuáles son los formatos que se aceptan, las convenciones para denominar los archivos y disquetes, el número de copias que han de enviarse, y otros detalles del caso.

Revistas participantes

Las revistas que han notificado al Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas su disposición a que se les envíen manuscritos preparados de conformidad con las versiones anteriores de los Requisitos uniformes del Comité mencionan este hecho en sus instrucciones a los autores. La lista completa de ellas puede solicitarse a la Oficina de la Secretaría en *Annals of Internal Medicine*.

**En Venezuela y hacia y desde todo el mundo,
en IPOSTEL le ofrecemos**

**SERVICIOS TRADICIONALES de Cartas, Impresos y
Encomiendas.**



... y además contamos con novedosos

SERVICIOS EXPRESOS



A nivel nacional ofrecemos: EEE (Entrega Especial Expresa) es un servicio que le permite enviar documentos y encomiendas a todo el Territorio del país de una forma expresa, económica y segura.



EMS, (Express Mail Service), es un servicio tipo courier que le permite enviar documentos y mercancías a nivel internacional, respondiendo a su necesidad de entrega en tiempo breve y a los precios más económicos del mercado.

SERVICIOS ELECTRONICOS

CORREO ELECTRONICO Y KIOSCO INTERNET

Ipostel habilitó para aquellos usuarios que les gusta navegar en el mundo de la red, kioscos de internet, ubicados en Altamira, C.C.C.T y los Ruices, los cuales disponen de computadoras de fácil acceso a todas aquellas personas interesadas en explorar dentro del campo de la comunicación.



AUTOMATIZACION DE TAQUILLA

La automatización de taquillas cuenta con modernos accesorios como balanza electrónica e impresora de recibos; esta permite mejorar la atención en las taquillas postales y simultáneamente establecer un control eléctrico de los ingresos por venta de servicios.



SEGURIDAD Y RASTREO POR CODIGO DE BARRA

El Código de barra permite registrar los datos más importantes de los envíos EMS entrantes y salientes, este sistema actualmente es utilizado a nivel internacional, para envíos EMS.



Un Mundo de Servicios para Usted...

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) 62.24.85 - 62.87.30