

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 50

SEPTIEMBRE 2000

Nº 3

Contenido

Páginas

EDITORIAL	217
ARTICULOS GENERALES	
Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (<i>Allium sativum</i>) L. Jacinto García Gómez and Francisco J. Sánchez-Muniz	219
Efeitos farmacológicos da suplementação dietética com arginina em ratos com tumor sólido de Walker 256 M.R.C.G.Novaes, L.A.M.Lima, J.E.G.Ribeiro, A.V.Magalhães, M.V.Sousa, L. Morhy	230
Utilização de tabelas de composição de alimentos na avaliação do risco de hipovitaminose A Cláudia Saunders, Andréa Ramalho, Elizabeth Accioly, Fernando Paiva	237
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
New property of vitamin A and β -carotene on human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption Miguel Layrisse, María Nieves García-Casal, Liseti Solano, María Adela Barón, Franklin Arguello, Daisy Llovera, José Ramírez, Irene Leets and Eleonora Tropper	243
Bioquímica Nutricional	
Modificaciones de los lípidos séricos de ratas suplementadas con cobre por vía oral Oscar M. Alarcón-Corredor, Elizabeth Carnevalí de Tatá, José Reinoso-Füller, Yaritza Contreras, María Ramírez de Fernández y Claudia Yáñez-Domínguez	249

The influence of dietary nucleotides and long-chain polyunsaturated fatty acids on the incorporation of [³H] arachidonic acid on experimental liver cirrhosis Luísa H.M. Leite, Eliane Moreira-Vaz, Glorimar Rosa, Andréa C. Pereira, Christianne R. Monteiro, Fernanda J. Medeiros, Vera L.A. Chagas	257
Ciencia de Alimentos	
Análisis in vitro de la disponibilidad del hierro en el arroz fortificado Gabriela F. Romera, Angela Zuleta, María Inés Sarchi y María Elena Sambucetti	265
Efeito da extrusão termoplástica no teor de lisina disponível da farinha desengordurada de grão-de-bico (<i>Cicer arietinum</i>, L.) Maria Filomena Claret Fernandes de Aguiar Valim, José Paschoal Batistuti	270
Propriedades funcionais da farinha e concentrado protéico de feijão guandu (<i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp) Ivone Yurika Mizubuti, Oswaldo Biondo Júnior, Luiz Waldemar de Oliveira Souza, Rui Sérgio dos Santos Ferreira da Silva, Elza Iouko Ida	274
Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas Gisell C. Alfonso González	281
Tecnología de Alimentos	
Evaluación del posible uso tecnológico de algunos tubérculos de las dioscoreas: ñame congo (<i>Dioscorea bulbifera</i>) y mapuey (<i>Dioscorea trifida</i>) Alicia Mariela Rincón, Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny Carrillo de Padilla y Eduardo Martín	286
Evaluación fisicoquímica y microbiológica de tres mermeladas comerciales de guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.) Ricardo López G., Alejandra O. Ramírez M. y Lucía Graziani de Fariñas	291
Alimentos de humedad intermedia para ancianos en base a extrusado de maíz: soja, adicionado con calcio Valeria Cristina Del Castillo, Margarita Armada de Roman, Juan Carlos Gotiffredi	296
Microbiología de Alimentos	
Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San Jose, Costa Rica Pal Windrantz and María Laura Arias	301
Latin Foods. Composición de Alimentos	
Composicion en acidos grasos y proximal de siete especies de pescado de Isla de Pascua Nalda Romero P., Paz Robert C., Lilia Masson S., Rafael Pineda L.....	304
NUEVOS LIBROS	309
INFORMACION PARA LOS AUTORES	310

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 50

SEPTEMBER 2000

Nº 3

Contents

	Pages
EDITORIAL	217
GENERAL ARTICLES	
Review: Cardiovascular effect of garlic (<i>Allium sativum</i>) L. Jacinto García Gómez and Francisco J. Sánchez-Muniz	219
Pharmacological effects of arginine supplementation in rats with Walker 256 solid tumor M.R.C.G.Novaes, L.A.M.Lima, J.E.G.Ribeiro, A.V.Magalhães, M.V.Sousa, L. Morhy	230
The importance of food composition tables in the evaluation of risk of vitamin A deficiency Cláudia Saunders, Andréa Ramalho, Elizabeth Accioly, Fernando Paiva	237
RESEARCH PAPERS	
Human Nutrition	
New property of vitamin A and β -carotene on human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption Miguel Layrisse, María Nieves García-Casal, Liseti Solano, María Adela Barón, Franklin Arguello, Daisy Llovera, José Ramírez, Irene Leets and Eleonora Tropper	243

Nutritional Biochemistry

Changes in serum lipids in rats treated with copper

Oscar M. Alarcón-Corredor, Elizabeth Carnevalí de Tatá, José Reinoso-Füller, Yaritza Contreras,
María Ramírez de Fernández y Claudia Yáñez-Domínguez 249

The influence of dietary nucleotides and long-chain polyunsaturated fatty acids on the incorporation of [³H] arachidonic acid on experimental liver cirrhosis

Luísa H.M. Leite, Eliane Moreira-Vaz, Glorimar Rosa, Andréa C. Pereira, Christianne R. Monteiro,
Fernanda J. Medeiros, Vera L.A. Chagas 257

Effect of thermoplastic extrusion on lysine availability of chickpea (*Cicer arietinum*, L.) flour

Maria Filomena Claret Fernandes de Aguiar Valim, José Paschoal Batistuti

Food Science

In vitro assessment of iron availability on fortified rice

Gabriela F. Romera, Angela Zuleta, María Inés Sarchi y María Elena Sambucetti 265

Effect of thermoplastic extrusion on lysine availability of chickpea (*Cicer arietinum*, L.) flour

Maria Filomena Claret Fernandes de Aguiar Valim, José Paschoal Batistuti 270

Functional properties of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) flour and protein concentrate

Ivone Yurika Mizubuti, Oswaldo Biondo Júnior, Luiz Waldemar de Oliveira Souza,
Rui Sérgio dos Santos Ferreira da Silva, Elza Iouko Ida 274

Effect of thermal treatment on total dietetic fiber, soluble and insoluble contents in legumes

Gisell C. Alfonso González 281

Food Technology

Evaluation of the possible technological uses of some dioscoreas tubers: ñame congo (*Dioscorea bulbifera*) and mapuey (*Dioscorea trifida*)

Alicia Mariela Rincón, Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny Carrillo de Padilla y Eduardo Martín 286

Physicochemical and microbiological evaluation of three commercial guava jams (*Psidium guajava* L.)

Ricardo López G., Alejandra O. Ramírez M. y Lucía Graziani de Fariñas 291

Intermediate moisture food for elder people based on a legume: cereal mixture with calcium

Valeria Cristina Del Castillo, Margarita Armada de Roman, Juan Carlos Gotiffredi 296

Food Microbiology

Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San Jose, Costa Rica

Pal Windrantz and María Laura Arias 301

Latin Foods. Food Composition

Fatty acid composition and proximate of seven fish species of Eastern Island

Nalda Romero P., Paz Robert C., Lilia Masson S., Rafael Pinẽda L..... 304

NEW BOOKS 309

INFORMATION FOR AUTHORS 310

EDITORIAL

Fundación para la Alimentación y Nutrición “José María Bengoa”

En los inicios del milenio, surge un nuevo reto para continuar con la labor iniciada por la Fundación CAVENDES, que durante casi dos décadas produjo excelentes logros en el campo de la alimentación y nutrición no sólo para nuestro país, sino también para América Latina. El espacio de diálogo y participación creado -donde compartieron investigadores y estudiosos de la nutrición nacionales e internacionales- se ha visto plasmado en eventos y publicaciones que han fortalecido el estudio de la nutrición y la alimentación en distintos niveles académicos. La presencia de este foro de discusión fue fundamental como insumo en las instancias de política alimentaria y nutricional del país. Una de nuestras grandes satisfacciones fue la colaboración y apoyo logístico prestado a ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN (ALAN) desde que regresó a ser editado nuevamente en Venezuela en 1992. Además del Apartado Postal de ALAN donde se recibe y entrega el movimiento editorial de la revista, parte de la correspondencia, recepción de manuscritos y mensajes electrónicos se centraban en la Fundación CAVENDES, la cual de esta manera y con el apoyo efectivo de su personal profesional, técnico y administrativo, brindó invaluable apoyo.

En estos momentos difíciles, la labor toda de la Fundación CAVENDES que podría haberse interrumpido motivado a la crisis de su miembro fundador, no podía dejarse de lado. Contamos con el apoyo del Dr. José María Bengoa que ha sido gestor y propulsor, junto con muchos otros venezolanos, de los éxitos alcanzados por la Fundación CAVENDES. Así, un grupo de venezolanos unimos voluntades para tratar de darle continuidad a una labor que en los momentos actuales, toma mayor relevancia debido al complejo problema de alimentación y nutrición en nuestro país. Surge así en merecido homenaje al maestro, la Fundación para la Alimentación y Nutrición “José María Bengoa” -Fundación Bengoa- como un acto solidario con el país. Se aspira contribuir a mejorar la alimentación y nutrición de los venezolanos mediante la educación nutricional, la cooperación interinstitucional y empresarial, la prestación de servicios a terceros, la capacitación y el establecimiento de un foro de discusión interdisciplinario, abierto y plural. En este nuevo escenario, -franco y productivo, continuación del anterior- La Fundación Bengoa se complace en reiterar su apoyo a ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION, continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición, hoy con 50 años de brillante e ininterrumpida publicación. Es propicio este espacio para invitar a todos a que recorramos juntos el camino hacia una nueva meta que Venezuela hoy más que ayer necesita.

Maritza Landaeta de Jiménez

Mercedes López de Blanco

Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*)

L. Jacinto García Gómez and Francisco J. Sánchez-Muniz

Dirección Provincial del Ministerio de Educación y Cultura. Toledo (España), Departamento de Nutrición y Bromatología I (Nutrición). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Madrid-España

RESUMEN. El ajo ha sido utilizado médicamente desde muy antiguo e, incluso, todavía hoy forma parte de la medicina popular en muchas culturas. En los últimos tiempos se ha incrementado el número de estudios sobre la efectividad del ajo en la normalización de los factores de riesgo cardiovascular y sobre el papel del mismo en el tratamiento de dichas enfermedades. Trabajos recientes señalan la existencia en el ajo de gran cantidad de sustancias, muchas de ellas azufradas, con importantes aplicaciones en el campo de la salud. El objetivo de este trabajo es revisar los resultados de numerosos estudios referentes al ajo en relación con las enfermedades cardiovasculares. De alguno de ellos puede resumirse que el ajo puede promover la normalización de los lípidos plasmáticos, frenar la peroxidación lipídica, estimular la actividad fibrinolítica, inhibir la agregación plaquetaria, atenuar los cambios morfoestructurales de la pared vascular relacionado con el envejecimiento o la lesión aterosclerótica de la misma, y reducir la tensión arterial. Sin embargo otros estudios recientes no apoyan dichos resultados. Estos efectos positivos han despertado numerosas expectativas en cuanto al uso del ajo en la prevención y control de las enfermedades cardiovasculares. No obstante, dada la labilidad de algunos compuestos que contiene y la falta de acuerdo en los resultados obtenidos se sugiere moderación en su consumo. La variabilidad en su composición debida al tipo de recolección y envejecimiento junto con la modificación en la composición original por el enlatado, encapsulado y tratamiento industrial hacen necesaria la aplicación de una regulación que garantice el uso en forma y dosis adecuada de este alimento funcional.

Palabras clave: Ajo, composición, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas, fibrinólisis, agregación plaquetaria, presión arterial.

SUMMARY. Review: Cardiovascular effect of garlic (*Allium sativum*). Garlic has been used for centuries, and even nowadays is part of popular medicine in many cultures. New data have increased the interest in garlic and its role in normalization and treatment of cardiovascular disease risk factors. Recent studies have shown the complex composition of garlic, containing many compounds, that present potential positive effect in the field of health. The aim of the present paper was to review results of some studies that have found a relationship between garlic and cardiovascular diseases. From some of them it can be summarized that garlic can normalize plasma lipid, check lipid peroxidation, stimulate fibrinolytic activity, inhibit platelet aggregation, smooth the thickening and structural changes of artery wall related to aging and atherosclerosis, and decrease blood pressure. However, some other studies do not support these benefits. The positive effects found have promoted many study projects, nevertheless, the extract lability and the lack of result consensus call for a moderate consumption of garlic and garlic extracts. The composition variation due to gathering and aging together with the changes occurring in canning and industrial treatment makes necessary the application of some norms in the production and consumption of this functional food in order to guarantee its use in adequate form and doses.

Key words: Garlic, composition, cholesterol, triglycerides, lipoprotein, fibrinolysis, platelet aggregation, blood pressure.

INTRODUCCION

Como ningún otro vegetal, a lo largo de la historia, el ajo ha gozado de una gran variedad de aplicaciones. Así, además de su uso culinario, el ajo también se ha utilizado como elemento religioso, higiénico, medicinal e incluso, ya dentro del campo de las creencias más misteriosas, se le ha atribuido, según la leyenda, un poder de protección frente a los vampiros. Se acepta que el ajo ha formado parte de la dieta de la humanidad desde el pasado más remoto. De hecho, se han encontrado en cuevas, en su momento habitadas por el hombre, restos de bulbos de ajo de más de 10.000 años de antigüedad. Su utilización en medicina tradicional se remonta al menos a 4.000 años (1-5).

Su nombre botánico es *Allium sativum*. El término *allium* procede de la palabra celta *all*, que significa ardiente o caliente, mientras que *sativum* es un término latino que significa cultivado. Su origen parece estar en las estepas del Asia Central, desde donde se extendió hacia el Este hasta alcanzar China y hacia el Oeste en dirección a Europa (6).

En cuanto a sus efectos beneficiosos se sabe que ya en tiempos de los faraones, tal como se indica en el papiro del *Código de Ebers*, los antiguos egipcios utilizaban el ajo como tónico cardíaco. En la anciana medicina ayurvédica india, el ajo era recomendado para la hipertensión arterial, la debilidad miocárdica y otras alteraciones del sistema cardiovascular. En Europa, esta liliácea solía emplearse, entre otras dolencias, para aliviar la dificultad respiratoria que acompaña al edema

pulmonar secundario a una insuficiencia cardiaca. Algunos autores, tales como el alemán Hieronymus Bock, en el siglo XVI, y el inglés Sir Thomas Sydenham, en el siglo XVII, recomendaron el ajo para tratar dicho proceso, conocido en el pasado como hidropesía (6).

La ciencia moderna ha encontrado que en el ajo existen diferentes compuestos que presentan efectos terapéuticos en el campo de las enfermedades cardiovasculares y del cáncer. También ha sido estudiada su actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antiasmática (1,4,5).

Valor nutritivo y componentes bioactivos del ajo

A pesar del uso muy frecuente del ajo en la cocina de numerosas culturas como la mediterránea, su importancia nutritiva en la dieta cotidiana es prácticamente insignificante. Esto se debe fundamentalmente a su empleo como saborizante en pequeñas cantidades y no como alimento. La composición en nutrientes del ajo se presenta en la Tabla 1. Cerca del 30% de su parte comestible está integrado por hidratos de carbono disponibles y aproximadamente un 6% por proteínas. Su contenido en algunos minerales y vitaminas es interesante (7,8).

TABLA 1
Componentes nutritivos del ajo (*Allium sativum*)

	Medida	Proteínas	Lípidos	Carbo- hidratos	Acidos orgánicos	Etanol	Total
Valor energético (promedio) por 100 g de porción comestible	(Kjul) (Kcal)	102.82 24.20	4.44 1.08	482.97 113.64	0.00 0.00	0.00 0.00	590.26 138.92
Porcentaje de desecho	Promedio	12	Mínimo	8	Máximo	16	
Componentes	Medida	Promedio	Variación	Densidad de nutrientes			
Ingredientes principales							
Agua	g	64.00	63.00 - 64.60		g/MJ		108.43
Proteínas	g	6.05	5.30 - 6.76		g/MJ		10.25
Lípidos	g	0.12	0.06 - 0.20		g/MJ		0.20
Carbohidratos (utilizables)	g	28.41			g/MJ		48.13
Minerales	g	1.42	1.40-1.44		g/MJ		2.41
Minerales y elementos traza							
Calcio	mg	38.00			mg/MJ		64.38
Manganeso	µg	460.00			g/MJ		779.32
Hierro	mg	1.40			mg/MJ		2.37
Cobre	µg	149.00	37.00-260.00		g/MJ		252.43
Zinc	µg	575.00	150.00-1000.00		g/MJ		974.15
Níquel	µg	10.00			g/MJ		16.94
Molibdeno	µg	70.00			g /MJ		118.59
Aluminio	µg	1.80			g/MJ		3.05
Fósforo	mg	134.00			mg/MJ		227.02
Cloro	mg	30.00			mg/MJ		50.83
Yodo	µg	2.70			g/MJ		4.57
Boro	µg	440.00	340.00-630.00		g/MJ		745.43
Selenio	µg	5.69	4.40-28.00		g/MJ		9.64
Vitaminas							
Vitamina E	µg	10.90			g/MJ		18.47
Total tocoferol	µg	100.00			g/MJ		169.42
Alfa-tocoferol	µg	10.00			g/MJ		16.94
Delta-tocoferol	µg	90.00			g/MJ		152.48
Vitamina B1	µg	200.00	180.00-210.00		g/MJ		338.83
Vitamina B2	µg	80.00			g /MJ		135.53
Nicotinamida	µg	600.00			g /MJ		1016.50
Vitamina C	mg	14.00	9.00-18.00		mg/MJ		23.72
Acidos							
Acido salicílico	µg	100.00			g /MJ		169.42
Acidos grasos							
Acido láurico	µg	500.00			g/MJ		847.08
Acido palmítico	mg	24.00			mg/MJ		40.66
Acido esteárico		Trazas	Trazas				Trazas
Acido oleico	mg	3.00			mg/MJ		5.08
Acido linoleico	mg	62.00			mg/MJ		105.04
Acido linolénico	mg	5.50			mg/MJ		9.32

Modificado de Souci y colaboradores (7).

En cuanto a los componentes bioactivos del ajo, éstos se cuentan por cientos. Identificarlos todos y conocer que acción o acciones produce cada uno de ellos es una tarea sin duda ingente que llevará varias décadas. La mayoría de los investigadores considera que la clave de los beneficios para la salud debidos al ajo, reside en su alto contenido en compuestos azufrados. Aunque muchos alimentos también los poseen, el ajo, no obstante, contienen proporcionalmente más que ningún otro vegetal (tres veces más que sus seguidores más próximos: la cebolla y el brócoli). En la Tabla 2 se detallan los principales compuestos azufrados del ajo y sus posibles acciones biológicas. Asimismo, en la Tabla 3 se describen los ingredientes no azufrados más significativos del ajo con sus presumibles efectos biológicos.

TABLA 2
Compuestos azufrados del ajo

Compuesto	Posible actividad biológica
Aliína Ajoeno (ajocisteína)	Hipotensora, hipoglucemiante Previene la formación de coágulos, ayuda a disolverlos. Anti-inflamatorio, vasodilatador, hipotensor, antibiótico
Alicina y Tiosulfínatos Alil mercaptano	Antibiótica, antifúngica, antiviral Hipocolesterolemiante, previene la aterosclerosis, antitumoral, antidiabética, hipotensora
Sulfuro de dialilo y afines	Hipocolesterolemiante. Aumenta la producción de enzimas desintoxicantes. Anticancerígeno. Previene los daños químicos del DNA.
S-alil-cisteína y compuestos al γ-glutámico	Hipocolesterolemiantes, antioxidantes, quimioprotectores frente al cáncer. Favorecen la acción desintoxicante del hígado frente a sustancias químicas

TABLA 3
Compuestos no azufrados del ajo

Compuesto	Posible acción biológica
Adenosina	Vasodilatadora, hipotensora, miorelajante. Estimula la síntesis de hormonas esteroidicas. Estimula la liberación de glucagón
Fructanos (Escorodosa) Fracción proteica F-4	Efectos cardioprotectores Estimula el sistema inmune por medio de macrófagos y células esplénicas
Quercitina	Estabiliza los mastocitos. Ejerce por tanto efectos beneficiosos en el asma y la alergia
Saponinas (Gitonina F, Eurobósido B) Escordínina	Hipotensoras. La Gitonina F es antivírica, el Erubósido B antifúngico Hipotensora en conejos y perros. Factor de crecimiento en dosis elevadas. Incrementa la utilización de la vitamina B1. Antibacteriana
Selenio Ácidos fenólicos	Antioxidante Antioxidantes. Antiinflamatorios. Antivíricos y antibacterianos

Hasta el presente, han sido identificados cerca de 30 ingredientes del ajo con efecto beneficioso potencial sobre la salud, los cuales manifiestan un amplio abanico de acciones metabólicas. No obstante, es necesario señalar que un determinado compuesto del ajo, cualquiera de los que se han manifestado capaces de ayudar en algún proceso patológico, no necesariamente ha de servir para otros.

El tipo y concentración de estos compuestos extraídos del ajo depende de la madurez del mismo (9), prácticas de producción y cultivo (10), localización en la planta (11) y condiciones de procesamiento (12). La obtención de esencias y extractos del ajo, el deshidratado, enlatado y congelación llevan a la formación de productos con diferentes características fisicoquímicas y propiedades biológicas (p.e. la alicina tiene una vida media que puede ir de horas hasta días en función del disolvente de extracción utilizado o del pH del medio ya que a pH ácido la aliinasa, enzima responsable de la formación de alicina se inactiva. También el aceite esencial de ajo obtenido por destilación a vapor posee propiedades antioxidantes, pero carece de propiedades bactericidas y antitrombóticas (12). El almacenamiento también parece influir en el incremento de compuestos azufrados, probablemente por la formación gradual de S-alk(en)il-L-cisteína sulfóxidos a partir de precursores con g-glutámico (13,14). Por otra parte, los compuestos azufrados del ajo desencadenan un variado y único conjunto de reacciones químicas, que son las que generan muchos de sus efectos metabólicos.

La mayoría de los componentes azufrados no están presentes en las células intactas. Cuando un ajo es machacado, partido o cortado, varios de sus componentes azufrados son liberados, abandonando el interior de las células vegetales; entonces interaccionan unos con otros para desencadenar una cascada de reacciones químicas, generadora de un elevado conjunto de componentes. Así por ejemplo, cuando la célula se rompe tienen lugar la reacción entre el enzima aliinasa y los precursores volátiles (S-alkenilcisteína sulfóxido y ácido sulfónico) resultando la formación de diferentes tiosulfínatos y compuestos derivados relacionados con el ácido sulfónico (Figura 1). La descomposición de los sulfínatos tales como la alicina (dialil tiosulfínato) puede ocurrir a través de diferentes vías metabólicas. Una de ellas combina tres moléculas de alicina produciendo dos moléculas de ajoeno. A través de otras degradaciones no enzimáticas los tiosulfínatos se transforman en otros compuestos azufrados tales como los tiosulfínatos, cepenos, mono, di, tri y tetrasulfuros, tioles, tiofenos y anhídrido sulfuroso (15).

Cuando el ajo es sujeto a extracción con agua y etanol a temperatura ambiente se produce alicina la cual es responsable del olor del ajo. Una extracción más suave empleando etanol absoluto a temperaturas inferiores a cero grados centígrados produce aliína (1) (Figura 1). En presencia de aliinasa, la aliína se descompone en ácido 2-propensulfónico el cual se dimeriza en alicina (1), sustancia que posee diferentes acciones p.e. hipolipemiantes (16). Otras reacciones que tienen

lugar, pero que escapan al contenido de esta revisión, han sido comentadas por Mazza (9).

Los diversos componentes del ajo muestran diferentes cualidades en cuanto a su absorción digestiva, biodisponibilidad y efectos sobre el organismo, en función de las transformaciones que sufren durante el proceso digestivo. La Tabla 4 resume algunos de los mecanismos metabólicos en los cuales se involucran algunos compuestos del ajo.

FIGURA 1
Efectos del procesado en la formación de diferentes compuestos bioactivos del ajo. Modificado de Block (1)

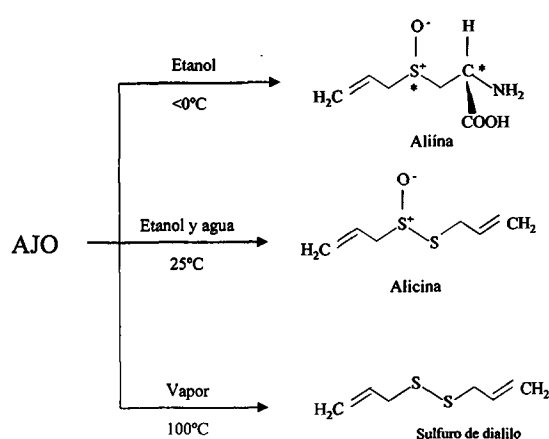


TABLA 4
Metabolismo de algunos componentes del ajo

Compuesto	Metabolismo
Ajoeno	Reacciona con la cisteína para formar ajocisteína y S-allyl-mercaptocisteína (SAMC). Al ponerse en contacto con el aminoácido cisteína, el methyl-allyl-trisulfuro también se metaboliza en SAMC.
Aliína	En gran medida es absorbida en el intestino, y cerca de un 60% es biodisponible. Parte se transforma en sulfuro de dialilo y luego en SAMC o sulfatos. La absorción es muy rápida. Desaparece de la circulación en 6 horas.
Sustancias que contienen cisteína	Estas reaccionan con la alicina y otros tiosulfatos para formar SAMC. La alicina abandona rápidamente el torrente circulatorio, siendo convertida en sulfatos en el hígado. No se detecta alicina en sangre u orina después de ingerir ajo.
Sulfuro de dialilo	Se convierte en parte en sulfato y en parte se excreta por orina
S-allyl-mercapto-cisteína (SAMC)	Se transforma en sangre en alil-mercaptano
S-allyl-cisteína	Una vez absorbida alcanza un máximo en sangre a los 30 minutos, encontrándose en todos los órganos excepto en los riñones, después de 6 horas desaparece completamente de sangre. En el hígado se transforma parcialmente en N-acetil-S-allylcisteína que luego es filtrada por los riñones.
Compuestos de Vinilditina	Lentamente absorbidos durante 2 horas. Algunos de ellos se acumulan en los adipocitos, mientras que otros se excretan rápidamente, por lo que no suelen detectarse en plasma.

No obstante, debido a que las enfermedades cardiovasculares constituyen la causa de muerte más importante en los países desarrollados y a los numerosos esfuerzos de investigación encaminados a prevenirlas y/o curarlas, esta mini-revisión se centra en analizar diferentes aspectos del ajo en relación con las mismas.

Efectos del ajo sobre los niveles de lípidos y lipoproteínas séricas

Estudios en animales de experimentación muestran que el ajo modifica los lípidos sanguíneos (17-22). En humanos, el ajo o sus extractos en polvo o aceites esenciales - se han mostrado capaz de contrarrestar el aumento de colesterol y triglicéridos sanguíneos inducido por la ingesta de grasas saturadas (23,24). Este efecto persiste después de que el ajo sea cocinado. En voluntarios con niveles normales de lípidos sanguíneos, Bhushan y colaboradores encontraron que el ajo produce una disminución del 15% del nivel de colesterol (25).

Un amplio número de investigadores han estudiado los efectos del ajo sobre la normalización de los lípidos sanguíneos en pacientes en riesgo cardiovascular. Así Augusti trató con ajo a pacientes con hipercolesterolemia, observando una disminución del 29% en los niveles de colesterol después de 2 meses (26). En otros estudios realizados en pacientes con enfermedad coronaria arterial, la medicación con aceite esencial de ajo durante 5 meses produjo una disminución del 10% del colesterol del suero y de un 21% en los triglicéridos. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se incrementaron un 31% y las de baja densidad (LDL) disminuyeron en un 7.5% (27). Después de 8 meses de tratamiento, los niveles de colesterol y triglicéridos habían disminuido un 17% y un 20% respectivamente, al tiempo que se produjo un incremento de los niveles de HDL (27).

Sucur estudió el efecto del ajo sobre los lípidos y lipoproteínas séricas en 200 pacientes con hiperlipoproteinemia. Su respuesta al tratamiento estuvo marcada por una mejora en los patrones de lípidos sanguíneos (28). Por su parte, Ernst y colaboradores trataron a 10 pacientes hipercolesterolémicos con una dieta hipocalórica y 600 mg diarios de extracto de ajo en polvo, mientras que el grupo control sólo recibió la correspondiente dieta. Dichos autores encontraron que, aunque los niveles de colesterol disminuyeron en ambos grupos, la reducción fue solamente un 10% mayor en el grupo que recibió ajo. La concentración de los triglicéridos séricos bajó de manera significativa sólo en los pacientes tratados con dicho vegetal. También los niveles de LDL se redujeron después de 4 semanas de tratamiento con ajo, mientras que los de HDL se mantuvieron invariables (29).

Warshafsky y colaboradores hallaron que la ingestión de medio a un diente de ajo al día redujo los valores de colesterol en un 9% (30). En un amplio meta-análisis, Silagy y Neil concluyeron que el ajo reduce los niveles de colesterol en un 12% - también los de triglicéridos- y que dicha reducción se hace patente a las 4 semanas de tratamiento, manteniéndose

durante todo el tiempo que duró el experimento (Figuras 2 y 3). Asimismo, observaron que la máxima reducción de colesterol se daba con el empleo de ajo crudo, a una dosis diaria de 10 g (3 dientes), o de aceite de ajo, a una dosis diaria de 8 mg (31).

FIGURA 2

Variación de los niveles de colesterol en pacientes tratados con ajo frente a placebo. Modificado de Silagy and Neil (31)

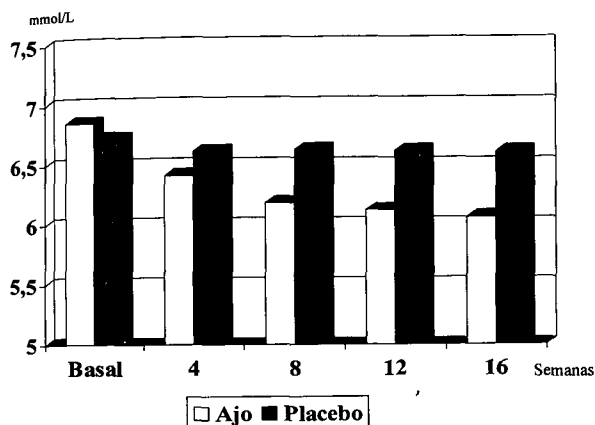
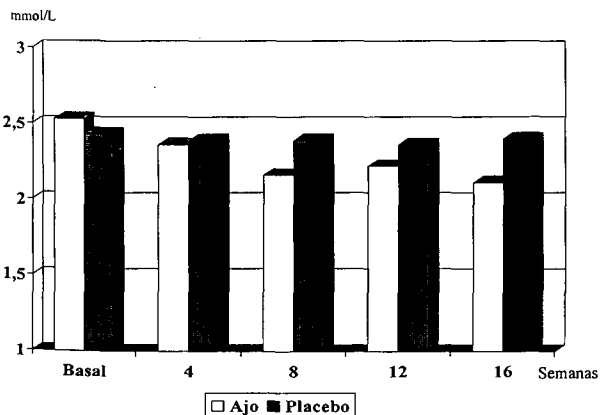


FIGURA 3

Variación de los niveles de triglicéridos en pacientes tratados con ajo frente a placebo. Modificado de Silagy and Neil (31)

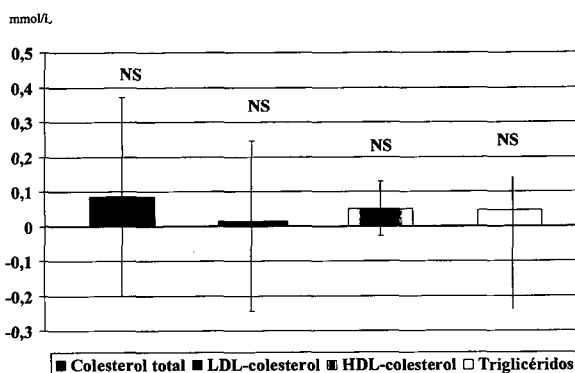


Otros estudios mas recientes, no obstante, apuntan diferentes resultados. Así, McCrindle y colaboradores suministraron extracto de ajo en polvo (300 mg, 3 veces al día) o placebo de igual apariencia a una treintena de niños y muchachos afectados de hipercolesterolemia familiar con edades comprendidas entre 8 y 18 años. Después de 8 semanas de experimento no encontraron efectos significativos entre am-

bos grupos en el colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicéridos, apolipoproteína B-100, lipoproteína (a), fibrinógeno y homocisteína (32). Sólo se afectaron significativamente los niveles de Apolipoproteína A-I, los cuales aumentaron un 10%, sugiriendo por tanto un efecto beneficioso débil del consumo de ajo. Otros dos grupos de investigadores observaron que dosis de 300 mg de extracto de ajo, 3 veces al día se mostraron ineficaces para bajar los niveles de colesterol y lípidos sanguíneos en pacientes adultos (33,34). Igualmente otros estudios diseñados de forma cuidadosa no han logrado demostrar ningún efecto sobre las lipoproteínas de la suplementación con extracto de ajos (34-37). Un aspecto detallado de los resultados de uno de esos estudios recientes se presenta en la Figura 4. Sin embargo otros grupos de investigación sí han señalado la eficacia del consumo de dicho vegetal sobre el metabolismo lipoproteico (38,39).

FIGURA 4

Efectos de una preparación de aceite de ajo obtenido por destilación al vapor (equivalente a 4-5 g de dientes de ajos frescos o 4.000 unidades de equivalentes de alicina al día). Los valores con sus barras de error representan la media con sus intervalos de confianza (95%) de la diferencia obtenida por el tratamiento y placebo. NS: Diferencia no significativa. Los valores basales (media ± DS) en suero para colesterol total fueron $7,53 \pm 0,78$ mmol/L, para el colesterol transportado por las lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol) $5,35 \pm 0,78$ mmol/L, para el colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol) $1,50 \pm 0,41$ mmol/L y para los triglicéridos $1,45 \pm 0,73$ mmol/L. Adaptado de Berthold y colaboradores (36)



Según Berthold y colaboradores, algunos estudios investigando los efectos hipolipemiantes del ajo están a veces mal diseñados a causa de la descripción inadecuada de los métodos y de los pacientes estudiados o están sujetos a conflictos de interés (36). Además la precisión de los datos obtenidos en los meta-análisis está limitada por la pobre calidad de los estudios

revisados y el pequeño número de estudios donde se señalan resultados negativos (36).

Sin embargo, diversas referencias epidemiológicas apoyan los efectos beneficiosos del ajo en las enfermedades cardiovasculares. Sainani y colaboradores estudiaron la influencia del ajo, como componente de la dieta, sobre el perfil lipídico sanguíneo de una comunidad y observaron que los niveles de colesterol más bajos se daban en aquellos individuos que mayor cantidad de ajos consumían, mientras que los niveles de colesterol eran progresivamente más elevados a medida que disminuía la ingesta de ajo, presentando los niveles más altos de este lípido aquellos individuos que no consumían nada de ajo (40). Bien conocido es el estudio de los Siete Países, en el que se encontró una correlación inversa entre el consumo medio de ajo y la incidencia de enfermedad coronaria (41). Un trabajo anterior realizado en Hungría también comprobó que la población que consumía cantidades promedio elevadas de ajo estaba especialmente protegida frente a la cardiopatía coronaria (42). Otros estudios han señalado que el consumo de ajos puede disminuir la lipemia postprandial (43). Aunque los mecanismos bioquímicos responsables de estas acciones no están totalmente definidos, se cree que este vegetal puede actuar como modulador de muchas enzimas que participan en el metabolismo lipoproteico y que podrían explicar, al menos en parte, las modificaciones encontradas en los lípidos plasmáticos. Así se ha definido el efecto inhibidor del ajo sobre el enzima clave de la síntesis de colesterol, la 3-hydroxy-3-metil-glutaril-CoA-reductasa (44).

Efectos del consumo de ajos sobre el status antioxidante y la peroxidación del suero y las lipoproteínas

En 1989 Steinberg y colaboradores combinaban la teoría lipídica de la aterosclerosis y la respuesta al daño endotelial, con los conocimientos referentes a la modificación oxidativa de las LDL, insistiendo en el importante papel de las LDL oxidadas en la génesis y en la progresión del proceso aterosclerótico (45). Según Witzum algunos factores afectan de forma determinante la susceptibilidad de las LDL a la oxidación (46). Entre los factores intrínsecos merecen destacarse el contenido en dichas lipoproteínas de ácidos grasos (AG) poliinsaturados y AG monoinsaturados y antioxidantes endógenos, también el tamaño de estas partículas lipoproteicas. Respecto a los factores extrínsecos destaca el equilibrio entre el contenido extracelular de algunos componentes prooxidantes y la concentración de antioxidantes, así como los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (46). A su vez se ha demostrado en las lesiones ateroscleróticas la presencia de tales LDL-oxidadas y anticuerpos autoinmunes contra LDL-oxidadas (47). Según Holvoet y Collen estas partículas lipoproteicas y sus anticuerpos correspondientes acelerarían la progresión de las lesiones (i) incrementando la adhesión de monocitos y macrófagos generando células espumosas, (ii) induciendo la migración de las células de músculo liso y su proliferación y transformación en células espumosas, (iii)

incrementando la adhesión de las plaquetas y su agregación, la cual estimularía la formación de células espumosas y proliferación de células de músculo liso; (iv) desencadenando trombosis, y (v) dificultando la vasodilatación la cual resultaría en un incremento del stress circulatorio (48).

Scherat y colaboradores (49) estudiaron en 25 voluntarios (13 mujeres y 12 hombres) con edad media de $35,2 \pm 15,1$ años la influencia de la aplicación de una dosis diaria de 900 mg de polvo seco de ajo conteniendo 1,3% de alicina durante un periodo de 9 semanas sobre la peroxidación del suero y el status del glutatión (un marcador del balance prooxidante/antioxidante) (49). Estos autores encontraron al completarse el tratamiento un descenso del 63% en el status del glutatión (glutatión reducido (GSH) y glutatión peroxidado (GSSG)) después de 9 semanas de tratamiento. Esta disminución fue porcentualmente más importante en los 9 individuos de más de 40 años (76%) que en los 16 con menos de 30 años (50%). Las diferencias significativas debidas a la edad al principio del estudio desaparecieron al final del tratamiento. En los eritrocitos se encontró un incremento significativo del GSH que afectó al cociente GSSG/GSH (49). Estos resultados sugieren que dicha preparación de ajo tuvo una buena actividad antioxidante en los humanos in vivo y está de acuerdo con otros estudios (50, 51).

Se ha propuesto que la alicina muestra una analogía estructural con el dimetilsulfóxido el cual posee una buena capacidad scavenger de radicales libres (49). Además, el ajo contiene además selenio de reconocido papel antioxidante (49). La modificación del balance prooxidante/antioxidante promovido por el consumo de ajo se realizaría a través de los enzimas relacionados con el glutatión y del sistema del citocromo P-450. Así se ha definido que dicha liliacea es activadora de los citocromos P-450 IIEI y P-450 IIBI (52), y de los enzimas glutatión-S-transferasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (53). Además, puede suponerse que los componentes azufrados del ajo actúan como precursores y regeneradores del GSH, como inductores enzimáticos de la síntesis y regeneración de GSH o como antioxidantes per se (49).

Ismail y colaboradores estudiaron en conejos las propiedades antioxidantes de dietas hipercolesterolemiantes enriquecidas con un 2% de ajo frente a otras conteniendo 10% de pectina, 2% de ginseng o 135 mg de gemfibrocil/kg de peso corporal. El incremento de la peroxidación plasmática observado fue mucho significativamente menor en los animales que recibieron la dieta que contenía ajo (22).

Aumento de la actividad fibrinolítica y acción antiagregante plaquetaria

Para asegurar la hemostasis, la coagulación sanguínea es equilibrada de manera fisiológica por la fibrinólisis. La alteración de la actividad fibrinolítica predispone a la formación de coágulos y a la trombosis. De otro lado, el aumento de la fibrinólisis puede proteger contra la trombosis y el infarto de

miocardio o cerebral.

Uno de los investigadores que más ha estudiado los efectos del ajo es Arun Bordia, de la India (24, 54-60). Para conocer los posibles efectos fibrinolíticos del mismo, Bordia y colaboradores administraron 100g de mantequilla a 10 personas sanas, lo que produjo una marcada disminución de la actividad fibrinolítica. La adición de 50 g de ajo a la comida de cada participante produjo una disminución en el tiempo de coagulación y un incremento en la actividad fibrinolítica (24).

En otro estudio clínico reciente dos grupos de pacientes hipercolesterolémicos se trataron con un extracto envejecido de ajo o con placebo, durante 10 meses y se observó que la adhesión plaquetaria con fibrinógeno disminuyó un 30% en el grupo tratado con el extracto antiguo del ajo en comparación con el grupo tratado con placebo (61). Por otra parte, Chutani y Bordia observaron que tal incremento tenía lugar entre 6,5 y 12 horas después de la toma de ajo (62). Asimismo, después de la ingesta diaria de ajo durante un mes, detectaron en pacientes con cardiopatía isquémica un incremento entre un 72% y un 85% de la fibrinólisis (62). Según Bordia y colaboradores, tanto en voluntarios sanos como en enfermos con cardiopatía isquémica, el ajo también previno el descenso post-prandial de la actividad fibrinolítica (58). Después de tres meses de tratamiento con aceite de ajo la actividad fibrinolítica se elevó en voluntarios un 130%, mientras que en pacientes con antecedentes previos de infarto de miocardio lo hizo en un 84%, cifra que se redujo a un 24% en pacientes que habían sufrido un infarto de miocardio reciente. Sin embargo otros autores señalan que el ajo no modifica la fibrinogénesis (63).

Ali y colaboradores han comparado muy recientemente el efecto de extractos acuosos de ajo y cebolla crudos y hervidos sobre la agregación plaquetaria inducida por colágeno. Ambos extractos crudos inhibieron de forma dosis-dependiente la agregación plaquetaria, sin embargo el ajo se mostró aproximadamente 13 veces más activo que la cebolla. Los extractos hervidos fueron menos activos que los crudos, perdiéndose la relación dosis-respuesta en el extracto de cebolla (64).

Bordia y colaboradores sugieren que los componentes del ajo (y de la cebolla) que actúan previniendo la trombosis o la formación de coágulos o disolviendo los existentes - lo hacen gracias a suprimir la formación de dos grupos de sustancias que intervienen en la trombogénesis y coagulación sanguínea: las prostaglandinas y los tromboxanos (57).

Los datos epidemiológicos están en sintonía con los descubrimientos clínicos. Así, Sainani y colaboradores encontraron una correlación positiva entre actividad fibrinolítica y consumo declarado de ajo (40).

Varios compuestos azufrados del ajo han sido asociados con dicho efecto. Uno de ellos es el ajoeno, el cual se presenta sólo en preparaciones de base oleosa. La vía precisa por la que el ajoeno previene la formación de coágulos no es completamente conocida. Uno de los grupos de investigación que aisló primero el ajoeno fue el de Apitz-Castro, quienes, además encontraron que dicho compuesto del ajo potenciaba el efecto

antitrombótico de medicamentos antiinflamatorios (65). Este equipo investigador señala que el ajoeno actúa bloqueando el receptor GP IIb/IIIa, en ocasiones llamado el receptor de fibrinógeno. El GP IIb/IIIa es una proteína que aparece en abundancia en la superficie de las plaquetas una vez que éstas han recibido la señal de formar agregados. Sin embargo, otros estudios señalan que el consumo de ajo no reduce in vitro la unión del fibrinógeno al receptor GP IIb/IIIa en cerdos (66). También se ha atribuido este efecto antitrombótico a la inhibición de la síntesis de tromboxano (67, 68), aunque otros estudios señalan que la producción in vitro de tromboxano A2 no cambia en seres humanos (69). La alteración de las propiedades de la membrana de las plaquetas (70) también ha sido considerada para explicar los beneficios observados. Asimismo, se ha comprobado que otro componente del ajo, el metil (2-propenil) trisulfito, es diez veces más potente inhibiendo la agregación plaquetaria que el dialil-disulfido o trisulfido (71).

El ajoeno podría no ser el principal componente activo antiplaquetario, porque no existe en el ajo de forma natural ni en sus preparaciones comerciales; pudiendo encontrarse sólo una pequeña cantidad de ajoeno en la maceración oleosa del ajo. No obstante, el ajoeno se ha desarrollado como fármaco para tratamiento de trastornos tromboembólicos, llegándose incluso a pensar que el ajoeno puede ser útil como antigregante plaquetario en caso de intolerancia al ácido acetil-salicílico (72).

Algunos trabajos han estudiado la posible conexión entre el ajo, la regulación de la coagulación sanguínea y la vía L-arginina-óxido nítrico, sin resultados concluyentes por el momento (73).

Efecto sobre la tensión arterial

Los efectos hipotensores del ajo ya fueron descritos en el año 1921 por Loeper y Debray (74). Más tarde, otros estudios llegaron a la conclusión que la administración regular de ajo a pacientes con hipertensión esencial puede inducir una reducción de la tensión sistólica entre 12 y 30 mmHg, y de la diastólica entre 7 y 20 mmHg (27,75,76). Trabajos más recientes han confirmado este efecto hipotensor del ajo (77, 78). No obstante el estudio de McCrindle y colaboradores realizado en chicos de 8 a 18 años con hiperlipemia familiar el suplemento de 300 mg de extracto de ajo 3 veces al día resultó ineficaz para disminuir la tensión arterial (32).

En un estudio no controlado de corta duración realizado en seres humanos con hipertensión arterial moderada se ha sugerido un efecto hipotensor moderado del consumo de ajos (79). Este efecto también ha sido corroborado en ratas y podría ser debido a una acción directa de algunos componentes del ajo sobre el endotelio vascular (80).

No se conoce con certeza cual o cuales son los ingredientes del ajo que intervienen en la reducción de la presión arterial. Melzig y Krause señalan que determinados componentes del ajo (saponinas y carbohidratos afines a la fructosa) actúan como inhibidores del enzima adenosina deaminasa (ADA) en

la aorta (81). La adenosina está presente en cantidades significativas en el ajo. Si el enzima ADA es inhibida, más adenosina se encuentra disponible. De esta forma la adenosina puede ayudar a dilatar los vasos sanguíneos y a relajar la musculatura lisa intramural. Ambos efectos conducen a reducir la presión arterial. En dicho estudio también se indica que algunos de los efectos encontrados desaparecieron cuando en los experimentos se empleó extracto en polvo en lugar de ajo fresco (81).

Otra posible explicación se encuentra en los trabajos llevados a cabo en la Charing Cross and Westminster Medical School de Londres por un grupo de investigadores dirigidos por el doctor Indrajit Das (82). Este grupo encontró una relación entre las cantidades de ajo consumidas y los niveles de óxido nítrico en sangre. Entre otras muchas funciones, el óxido nítrico ejerce un importante efecto vasodilatador en arterias intactas. En experimentos realizados con cultivos celulares estos autores comprobaron que a medida que se incrementaba la dosis de ajo, también se incrementaban los niveles de la enzima óxido nítrico sintetasa, la cual interviene en la formación de óxido nítrico.

Asimismo, con la intención de justificar el efecto hipotensor del ajo se han propuesto algunos otros mecanismos, tales como la modulación de la producción de prostaglandinas (83), o el bloqueo de los beta-adrenoreceptores (78).

Efecto sobre la elasticidad vascular

En un estudio epidemiológico reciente se ha señalado el efecto protector del consumo prolongado de ajo frente a la pérdida fisiológica de la elasticidad vascular secundaria al envejecimiento (84). En él se seleccionaron 101 adultos sanos de ambos sexos, con edades entre 50 y 80 años, que tomaron una cantidad diaria 300 mg de extracto de polvo de ajo durante un periodo de 2 ó más años, frente a otro grupo control de 101 sujetos. Se midió la elasticidad de la aorta por medio de la velocidad de onda del pulso (PWV) y de la resistencia elástica vascular (EVR). Las conclusiones de dicho estudio fueron que la toma prolongada de polvo de ajo contribuye a atenuar la progresiva falta de estabilidad que con el paso del tiempo se produce en la pared de la aorta (84).

También se ha visto, sobre todo en animales de laboratorio, que la administración de ajo disminuye la acumulación de lípidos en las arterias repercutiendo por tanto en la elasticidad vascular (37,64,80).

En arterias ateroscleróticas humanas el enzima óxido nítrico sintetasa puede promover vasoconstricción. Dirch y colaboradores estudiaron el efecto de la alicina y el ajoeno sobre la inducción del enzima óxido nítrico sintetasa en macrófagos estimulados con mucopolisacáridos (85). Tanto el ajoeno como la alicina redujeron la acumulación de fitrito (un marcador de la síntesis de óxido nítrico) en el sobrenadante de los cultivos de macrófagos. También la expresión génica y la actividad de la óxido nítrico sintetasa estuvieron disminuidas. Dado el papel de los macrófagos en el desarrollo de la

enfermedad cardiovascular (45,48), Dirch y colaboradores sugieren que los efectos cardiovasculares beneficiosos del consumo de ajo podrían deberse a este mecanismo (85).

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

El grueso de estudios, tanto epidemiológicos como clínicos y de laboratorio, señala que el ajo puede tener efectos positivos sobre los factores de riesgo cardiovascular, ya que reduce la hiperlipidemia, la hipertensión, y previene la formación de trombos. En base a su potencial antiarteriosclerótico (77,85), grupos prominentes de investigación han apoyado el uso del ajo para la prevención de las enfermedades cardiovasculares (83, 87, 88). Los escasos efectos secundarios del ajo - olor, molestias digestivas, etc. (6,76), hacen del ajo y de sus componentes químicos una atractiva herramienta terapéutica en el campo cardiovascular, acercando la posibilidad de prolongar la vida sin poner en peligro su calidad.

Aunque los resultados de numerosas investigaciones han encontrado un efecto dosis-dependiente en la actividad del ajo, no hay consenso en cuanto a la dosis mínima requerida para obtener cambios beneficiosos. No obstante, en cuanto al extracto en polvo, se suele recomendar una toma mínima de 600 mg por día (lo dosis más habitual empleada suele ser de 900 mg, dividida en tres tomas). Dada la pérdida producida durante la preparaciones térmicas y culinarias en compuestos químicos activos, se aconseja tomar el ajo crudo o en preparaciones específicas. Entre las más usuales se encuentran: los aceites esenciales y los extractos secos en polvo; productos que además tienen la ventaja de carecer del fuerte olor propio del ajo crudo.

Es importante tener presente que la U. S. Food and Drug Administration no ha aprobado el ajo - ni los productos derivados del mismo - como agentes reductores del colesterol. Sin embargo, el gobierno alemán si ha dado un paso en esta dirección. Como resultado, la Kommission E de la Agencia Federal Alemana de Salud equivalente a la FDA norteamericana -, ha incluido en su monografía que una dosis de 4 g diarios de ajo crudo, o bien 8 mg de aceite esencial de ajo, son apropiados para controlar el colesterol y prevenir otros factores de riesgo cardiovascular. Puesto que el peso medio de un diente de ajo es de tres a cuatro gramos, según las recomendaciones del organismo alemán, un poco menos de un diente y medio de ajo al día proveería la cantidad terapéutica suficiente.

No obstante debemos también considerar que en nutrición un producto puede ponerse de moda y ser consumido de forma indiscriminada y en grandes cantidades, pudiendo ocurrir que algo beneficioso se convirtiera en tóxico, ya que se es conocido que a dosis altas puede ser causante de irritación gástrica y náuseas.

Por último creemos que los diferentes resultados obtenidos sobre los efectos del ajo se deben:

- a) a la diversidad de preparaciones del ajo utilizadas
- b) a la diversidad de dosis y periodos de tratamiento
- c) a la naturaleza de los componentes del ajo, ya que su composición química cambia en función de frescura y secado del ajo.

Sólo ensayos químicos realizados con preparaciones estrictamente definidas podrán permitir la desaparición de estas ambigüedades y de ciertos efectos adversos del ajo. La existencia de sospechas acerca de la validez de la metodología utilizada en muchos estudios, la aparición de algunos trabajos que ponen en duda los efectos beneficiosos potenciales del ajo y la falta de consenso sobre cuales son las dosis y las formas o presentaciones más adecuadas, hace necesario que se realicen un mayor número de investigaciones al respecto.

REFERENCIAS

1. Block E. The chemistry of garlic and onions. *Sci Am* 1985;252:114-119.
2. Block E. Antithrombotic agent of garlic: A lesson from 5000 years of folk medicine. In: Steiner RP, editor. *Folk Medicine: The Art and the Science*. Washington, DC: American Chemical Society, 1986:125-137.
3. Srivastava KC, Bordiov A, Verma K. Garlic (*Allium sativum*) for disease prevention. *South African J Sci* 1995;91:68-77.
4. Fenwick GR, Hanley AB. The genus *Allium*. Part 1. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 1985;22:199-271.
5. Hanly AB, Fenwick GR. Cultivated alliums. *J Plant Foods* 1985; 6:211-238.
6. Moyers S. *Garlic in health, history, and world cuisine*. St. Petersburg, USA: Suncoast Press, 1996.
7. Souci SW, Fachmann W, Krant H. *Food Composition and Nutrition Tables*. Stuttgart: Medpharm, 1994.
8. Ministerio de Sanidad y Consumo. Secretaría General Técnica. Carretero Baeza ML, Gómez Vazquez MD revisión y coordinación. *Tablas de Composición de Alimentos Españoles 1995*.
9. Lancaster JE, McCallion BJ, Shaw ML. The levels of precursors, the S-alk(en)yl-L-cysteine sulphoxides during the growth of the onion (*Allium cepa* L.). *J Sci Food Agric* 1984;35:415-421.
10. Mazza G. *Functional Foods. Biochemical & Processing Aspects*. Lancaster, Basel: Technomic Publishing CO., Inc. 1998:204-233.
11. Freeman GG. Distribution of flavour components in onion (*Allium cepa* L.), leek (*Allium porrum*) and garlic (*Allium sativum*). *J Sci Food Agric* 1975;26:471-481.
12. Malkeja AN, Bailey JM. Antiplatelet constituents of garlic and onions. *Agent Actions* 1990;29:360-363.
13. Freeman GG, Whenham RJ. Changes in onion (*Allium cepa* L.) flavour components resulting from some postharvest processes. *J Sci Food Agric* 1974;25:499-515.
14. Freeman GG, Whenham RJ. Nature and origin of volatile flavour components of onions and related species. *Flavours* 1976;910:222-229
15. Breu W, Dorch W. *Allium cepa* L (onion): Chemistry analysis and pharmacology. *Econ Med Plant Res* 1994;6:116-147.
16. Sumiyoshi H, Wargovich MJ. Garlic (*Allium sativum*): A review of its relationship to cancer. *Asia Pacific J Pharmacol* 1989;4:133-140.
17. Bobbol A, Augusti KT, Joseph PK. Hypolipidemic effects of onion oil and garlic oil in ethanol-fed rats. *Indian J Biochem Biophys* 1984;21, 211-213.
18. Chi MS, Koh ET, Stewart TI. Effects of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol or lard. *J Nutr* 1982;112:241-248.
19. Kamanna VS, Cahdrasekhara N. Hypocholesterolemic activity of different fractions of garlic. *Indian J Med Res* 1984;79:580-583.
20. Pushpendran CK, Devasagayam TPA, Banerji A, Eapen J. Cholesterol-lowering effect of allicin in suckling rats. *Indian J Exp Biol* 1980;18:858-861.
21. Srivastava M, Swarn N, Kapoor NK. Effect of hypocholesterolemic agents of plant origin on catecholamine biosynthesis in normal and cholesterol fed rabbits. *J Biosci* 1984;3:277-282.
22. Ismail MF, Gad MZ, Hamdy MA. Study of the hypolipidemic properties of pectin, garlic and ginseng in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmacol Res* 1999;39:157-166.
23. Basksh R, Chughatai MID. Influence of garlic on serum cholesterol, serum triglycerides, serum total lipids and serum glucose in human subjects. *Nahrung* 1984;28:159-163.
24. Bordia AK, Bansai HC, Arora SK, Rathore AS, Ranawat RVS, Singh SV. Effects of the essential oil (active principle) of garlic on serum cholesterol, plasma fibrinogen, whole blood coagulation time and fibrinolytic activity in alimentary lipaemia. *J Assoc Physicians India* 1974;22:267-270.
25. Bhushan S, Sharma SP, Agrawal S, Indraycin A, Seth P. Effects of garlic on normal blood cholesterol levels. *Indian J Physiol Pharmacol* 1979;23:211-214.
26. Augusti KT. Hypocholesterolaemic effect of garlic (*Allium sativum*). *Indian J Exp Biol* 1977;15:489-490.
27. Damnau F. The use of garlic concentrate in vascular hypertension. *Med Record* 1941;153:249-251.
28. Sujur M. Effect of garlic on serum lipids and lipoproteins in patients suffering from hyperlipoproteinemia. *Diabetol Croatica* 1980;9:323-338.
29. Ernst E, Weihmayr T, Matrai A. Garlic and blood lipids. *Br Med J* 1985;291:139.
30. Warshafsky S, Kamer RS, Sivak SI. Effect of garlic on total serum cholesterol: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993;119: 599-615.
31. Silagy C, Neil A. Garlic as a lipid lowering agent- a meta-analysis. *J R Coll Physicians London* 1994;28:39-45.
32. McCrindle BW, Helden E, Connor WT. Garlic extract therapy in children with hypercholesterolemia. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1998;152:1089-94.
33. Isaacsohn J L, Moser M, Stein EA, Dudley K, Liskov E, Black HR. Garlic powder and plasma lipids and lipoproteins: a multicenter, randomized, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med* 1998;158:1189-94.
34. Simons LA, Balasubramiam S, Von Konigsmark M, Parfitt A, Simons J, Peters W. On the effect of garlic on plasma lipids and lipoproteins in mild hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 1995;113:219-225.

35. Gordon T. Mortality experience among the Japanese in the United States, Hawaii and Japan. *Public Health Rep* 1957;72:543-553.
36. Berthold HK, Sudhop T, von Bergmann K Effect of a garlic oil preparation on serum lipoproteins and cholesterol metabolism. A randomized controlled trial. *JAMA* 1998;279:1900-1902.
37. Neil HAW, Silagy CA, Lancaster T. Garlic powder in the treatment of moderate hyperlipidemia. *J R Coll Physicians London* 1996;30:329-334.
38. Jain AK, Vargas R, Gotzkowsky S, McMahon FG. Can garlic reduce levels of serum lipids? A controlled clinical study. *Am J Med* 1993;94:632-635.
39. Steiner M, Khan AH, Holvert D, Lin RI. A double-blind crossover study in moderately hypercholesterolemic men that compared the effect of aged garlic extract and placebo administration on blood lipids. *Am J Clin Nutr* 1996;64:866-870.
40. Sainani GS, Desai DB, Gorke NH, Natu SM, Pise DV, Sanani PG. Effect of dietary garlic and onion on serum lipids profile in Jain community. *Indian J Med Res* 1979;69:776-780.
41. Keys A. Wine, garlic and CHD in seven countries. *Lancet* 1980;1:145-146.
42. Magyrar E. Incidence of coronary sclerosis and myocardial infarction in Hungary in the light of statistical data derived from autopsy material. *Acta Med Acad Sci Hung*. 1969;26:263-269.
43. Rotzsch W, Richter V, Rassoul F, and Walper A. Postprandiale Lipämie unter Medikation von *Allium sativum*. Kontrollierte Doppelblindstudie bei Probanden mit Erniedrigtem HDL2-cholesterin. *Arzneimittelforschung* 1992;42:1233-1237.
44. Kumar Rv, Banerji A, Kuurup CK, Ramasarna T. The nature of inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by garlic-derived diallyl disulfide. *Biochim Biophys Acta* 1991;1078:219-225.
45. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: Modifications of low density lipoproteins that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989;320:915-924.
46. Witztum J. Susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Med* 1993;94:347-349.
47. Ylä-Hertuala S, Palinski W, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler S, Witztum JL, Steinberg D. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbits and man. *J Clin Invest* 1989;84:1086-1095.
48. Holvoet P, Collen D. Oxidized lipoproteins in atherosclerosis and thrombosis. *FASEB J* 1994;8:1279-1284.
49. Scherat TG, Siems WG, Brenke R, Behrends H, Jakstadt M, Conradi E, Grune T. Influence of a garlic extract on oxidative stress parameters in humans. In: Kumpulainen JT, Salonen JT, editors. *Natural antioxidants and food quality in atherosclerosis and cancer prevention*. Cambridge UK: The Royal Society of Chemistry. 1996:286-289.
50. Phelps S and Harris WS. Garlic supplementation and lipoprotein oxidation susceptibility. *Lipids* 1993 28:475-477.
51. Popov I, Blumstein A, Lewin G. Antioxidant effect of aqueous garlic extract. 1st communication: Direct detection using the photochemiluminescence. *Arzneimittelforschung* 1994;44:602-603.
52. Brady JF, Li H, Ishizaki H, Yang CS. Effect of diallyl sulfide on rat liver microsomal nitrosamine metabolism and other monooxygenase activities. *Cancer Res* 1988;48:5937-5940.
53. Maurya AK, Singh SV. Differential induction of glutathione transferase isoenzymes of mice stomach by diallyl sulfide, a naturally occurring anticarcinogen. *Cancer Lett* 1991;57:121-129.
54. Bordia A. Effects of garlic on human platelet aggregation in vitro. *Atherosclerosis* 1978;30:355-360.
55. Bordia A. Effect of garlic on blood lipids in patients with coronary heart disease. *Am J Clin Nutr*. 1981;34: 2100-2103.
56. Bordia A, Verma SK. Effect of garlic feeding on regression of experimental atherosclerosis in rabbits. *Artery* 1980;7:428-437.
57. Bordia AK, Bansai HC, Arora SK, Singh SV. Effects of the essential oils of garlic and onion on alimentary hyperlipemia. *Atherosclerosis* 1975;21:15-18.
58. Bordia AK, Joshi HK, Sandhya YK, Bhu N. Effects of essential oil of garlic on serum fibrinolytic activity in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1978;28:155-159.
59. Bordia A, Sharma KD, Parmar YK, Verna SK. Protective effect of garlic oil on the changes produced by 3 weeks of fatty diet on serum cholesterol, serum triglycerides, fibrinolytic activity and platelet adhesiveness in man. *Indian Heart J* 1982;34:86-88.
60. Bordia AK, Sodhya SK, Rathore AS, Bhu N. Essential oil of garlic on blood lipids and fibrinolytic activity in patients with coronary artery disease. *J Assoc Physicians India* 1978;26:327-331.
61. Steiner M; Li MR. Changes in platelet function and susceptibility of lipoproteins to oxidation associated with administration of aged garlic extract. *J Cardiovascular Pharmacology* 1998;31:904-908.
62. Chutani SK, Bordia A. The effect of fried vs. raw garlic on fibrinolytic activity in man. *Atherosclerosis* 1981;38: 417-21.
63. Legnani C, Frascaro M, Guazzaloca G, et al. Effects of a dried garlic preparation on fibrinolysis and platelet aggregation in healthy subjects. *Arzneimittelforschung* 1993;43:119-122.
64. Al M, Bordia T, Mustafa T. Effect of raw versus boiled aqueous extract of garlic and onion on platelet aggregation. *Prostag Leukotr Ess Fatty Acids* 1999;60:43-47.
65. Apitz-Castro R, Escalante J, Vargas R, Jain MK. Ajoene, the antiplatelet principle of garlic, synergistically potentiates the antiaggregatory action of prostacyclin, forskolin, indomethacin and dypiridamole on human platelets. *Thromb Res* 1984;42: 303-311.
66. Apitz Castro R, Badimon JJ, Badimon L. A garlic derivative, ajoene, inhibits platelet deposition on severely damaged vessel wall in an in vivo porcine experimental model. *Thromb Res* 1994;75:246-249.
67. Makheja AN, Vvanderhoeck J, Bailey JM. Inhibition of platelet aggregation and thromboxane synthesis by onion and garlic. *Lancet*, 1979;1:781.
68. Vanderhoeck JY, Makheja AN, Bailey JM. Inhibition of fatty acid oxygenases by onion and garlic oils. Evidence for the mechanism by which these oils inhibit platelet aggregation. *Biochem Pharmacol* 1980;29:3169-3173.
69. Srivastava KC, Tyagi OD. Effect of garlic-derived principle (ajoene) on aggregation and arachidonic acid metabolism in

- human blood platelets. *Prostag Leukotr Ess Fatty Acids* 1993;49:587-595.
70. Apitz-Castro R, Cabrera S, Cruz M, Ledezma E, Jain MK. Effects of garlic extracts and three pure components isolated from it on human platelet aggregation, arachidonate metabolism, release reactivity and platelet ultrastructure. *Thromb Res.* 1983;32:155-169.
 71. Ariga T, Oshiba S, Tamada T. Platelet aggregation inhibitor in garlic. *Lancet* 1981;1:150-151.
 72. Lawson LD, Ramson DK, Hughes BG. Inhibition of whole blood platelet-aggregation by compounds in garlic clove extracts and commercial garlic products. *Thromb Res* 1992;65:141-156.
 73. Das I, Hirani J, Sooranna S. Arginine is not responsible for the activation of nitric oxide synthase by garlic. *J Ethnopharmacol* 1996;53:5-9.
 74. Loeper M, Debray M. Hypotensive effect of tincture of garlic. *Progr Med* 1921;36:391-392.
 75. Pekiov U. Plants with hypotensive, antiatheromatous, and coronary dilating action. *Am J Chines Med* 1979;7:197-236.
 76. Rulfin J, Hunter SA. An evaluation of the side-effects of garlic as an antihypertensive agent. *Cytobios* 1983;37:85-89.
 77. Kiesewetter H, Jung F, Pindur G, Jung FM, Mrowietz C, Wenzel E. Effect of garlic on trombocyte aggregation, microcirculation and other risk factors. *Int J Clin Pharm Ther Toxicol* 1991;29:151-155.
 78. Martin N, Bardisa L, Pantoja C, Roman R, Vargas M. Experimental cardiovascular depressant effects of garlic (*Allium sativum*) dialysate. *J Ethnopharmacol* 1992;37:145-149.
 79. McMahon FG, Vargas R. Can garlic lower blood pressure? A pilot study. *Pharmacotherapy* 1993;13:406-407.
 80. Ozturk Y, Aydin S, Kosar M, Baser KH. Endothelium-dependent and independent effects of garlic on rat aorta. *J Ethnopharmacol* 1994;44:109-116.
 81. Melzig MG, Krause E. Inhibition of adenosine deaminase activity of aortic endothelial cells by extracts of garlic (*Allium sativum*). *Pharmazie* 1995;50:359-361.
 82. Das I, Khan NS, Sooranna SR. Potent activation of nitric oxide synthase by garlic: a basis for its therapeutic applications. *Curr Med Res Opin* 1995;13:257-263.
 83. Rashid A, Hunter SA. The mechanism of hypotensive effects of garlic extract. *JAMA* 1985;35:357-362.
 84. Dirch VM, Kierner AK, Wagner H, Vollmar AM. Effect of allicin and ajoene, two compounds of garlic, on inducible nitric oxide synthase. *Atherosclerosis* 1998;139:33-339.
 85. Breithaupt-Groger K, Ling M, Boudoulas H, Belz GG. Protective effect of chronic garlic intake on elastic properties of aorta in the elderly. *Circulation* 1997;96:2649-2655.
 86. Orekhov AN, Grunwald J. Effects of garlic on atherosclerosis. *Nutrition* 1997;3:656-663.
 87. Slater NGP. On garlic. *Lancet* 1979; 1:1294.
 88. Tyrell H. On garlic. *Lancet* 1979;1:129.

Recibido: 13-01-2000

Aceptado: 19-07-2000

Efeitos farmacológicos da suplementação dietética com arginina em ratos com tumor sólido de Walker 256

M.R.C.G.Novaes, L.A.M.Lima, J.E.G.Ribeiro, A.V.Magalhães, M.V.Sousa, L. Morhy

Universidade de Brasília (UnB), Centro Brasileiro de Sequenciamento de Proteínas, Departamento de Biologia Celular, Brasília, D.F. Brasil

RESUMO. Os efeitos da suplementação com arginina na dieta de portadores de câncer são controversos. O objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos da suplementação dietética com arginina no crescimento tumoral, disseminação metastática, metabolismo de aminoácidos, alterações hematológicas, tempo de sobrevivência e peso corporal de ratos Wistar com tumor sólido de Walker 256. Foram administradas soluções por via gástrica, contendo arginina nas concentrações de 4%, 6% e dieta padrão (controle).

A suplementação com arginina inibiu a disseminação de células tumorais no modelo experimental, embora o crescimento tumoral não tenha sido afetado significativamente. O tempo de sobrevivência dos animais com tumor sólido não foi afetado de forma significativa. Foi observado diminuição significativa do peso corpóreo após a administração da arginina a 6% ($p < 0.05$). O metabolismo dos aminoácidos foi estimulado após ingestão de suplementos com arginina, evidenciado pelos aumentos significativos dos níveis sanguíneos de arginina, ornitina, citrulina, prolina e histidina quando comparados ao grupo controle ($p < 0.001$). O grau de anemia no tumor sólido foi menos severo nos grupos que receberam suplementação com arginina, evidenciado através do hemograma ($p < 0.001$) e da análise citológica. Os resultados sugerem que a suplementação dietética com arginina a 6% apresentou algum efeito benéfico no tumor sólido de Walker 256 que ultrapassa o efeito nutricional.

Palavras-chaves: Suplementação com arginina, tumor de Walker 256, metástase, metabolismo de aminoácidos, tempo de sobrevivência.

SUMMARY. Pharmacological effects of arginine supplementation in rats with Walker 256 solid tumor. The effects of diet arginine supplementation for those with cancer are controversial. We evaluate the effects of dietetic supplementation with arginine over body weight, growth of tumor, metastatic dissemination, surviving time, amino acid metabolism, haematological changes of the rats with Walker 256 solid tumor. Intragastrical solutions with arginine at 4% and 6%, a standard diet (control) were administered to the animals. The supplementation with arginine was associated with a lower weight gain during the study period ($p < 0.05$). Surviving time of the rats with solid tumor did not vary significantly between the groups. The rate of metastase was lower in animals with Walker 256 solid tumor supplemented with arginine. The amino acid metabolism was stimulate in the animals after arginine supplementation at 4% and 6%, demonstrated by significant increases in blood levels of arginine, ornitine, citruline, proline and histidine when compared to the control group. Anaemia was less severe in the rats with Walker 256 solid tumor that received arginine supplementation. The results suggest that arginine 6% supplementation may have pharmacologic effect in rats with Walker 256 solid beyond the nutritional one.

Key words: Arginine supplementation, Walker 256 tumor, surviving time, metastases, amino acids metabolism.

INTRODUÇÃO

A influência da arginina sobre o crescimento tumoral e nutrição do hospedeiro tem sido investigada por mais de 60 anos (1-4).

A proposição para o uso de quantidades suplementares de arginina no suporte nutricional do portador de câncer tem sido avaliada como aporte de substrato nitrogenado e por seus efeitos farmacológicos, que possivelmente, ampliam os mecanismos de defesa imunológicos envolvidos e, conseqüentemente, possibilitam a melhora do prognóstico do paciente.

Este aminoácido tem apresentado múltiplas ações fisiológicas e farmacológicas. É precursor metabólico da creatina,

da creatinina, de poliaminas e do óxido nítrico, e tem importante participação no ciclo da uréia. É descrito também como estimulador do hormônio de crescimento hipofisário, e tem sido relacionado ao aumento da atividade das células *killer* e *T-helper*, ao estímulo da produção das citocinas interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), receptor para IL-2, interleucina-6 (IL-6) e ao fator alfa de necrose do tumor (TNF-alfa) que são importantes mediadores na gênese da caquexia (5).

Apesar de serem descritas na literatura muitas ações da arginina, os resultados em portadores de câncer ainda são insuficientes e controversos. *In vitro*, L-arginina pode inibir e estimular linhagens celulares de câncer (7). *In vivo*, estudos experimentais demonstraram também estimulação (4,6,8) e inibição do crescimento tumoral (1,3,9,10).

Neste estudo utilizamos o tumor de Walker 256, sólido, para avaliar os efeitos da suplementação dietética com arginina no crescimento tumoral, disseminação metastática, tempo de sobrevida, peso corporal, metabolismo dos aminoácidos e alterações hematológicas.

MATERIAIS E METODOS

Preparação dos animais

Ratos Wistar machos e jovens (42-48 dias), pesando 142.34 ± 19.36 g, foram distribuídos em gaiolas contendo em média cinco ratos e mantidos durante dois dias, sob idênticas condições ambientais, com ciclos de luz de 12h/dia, ração e água *ad libitum*.

Procedência, manutenção e inoculação do tumor de Walker 256

A linhagem A do Tumor de Walker 256 (origem: *The Christ Hospital Line, National Cancer Institute Bank, Cambridge, Mass., USA*), foi obtida junto à Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e conservada em nitrogênio líquido a -160°C . A técnica de inoculação utilizada nos animais foi multifocal e subcutânea na região dorso-lombar, totalizando 4 inoculações por animal, com aproximadamente 4 milhões de células por inoculação (11).

Dieta dos animais e posologia da arginina

A ração utilizada no estudo (Labina, Agribands Purina do Brasil Ltda), continha em sua composição arginina (1.5%), proteína (23.0%), minerais (8.0%), fibras (9.0%) e vitaminas (traços). A arginina, foi obtida na forma de cloridrato de arginina (Laboratório Ajinomoto do Brasil) e administrada pura, diluída em água destilada, nas concentrações de 4% e 6% das calorias totais estimadas do valor calórico (VCT) de um rato jovem. Um rato jovem consome cerca de 15g/dia de ração o que corresponde aproximadamente 47.3 kcal/dia. A dieta padrão não continha a suplementação de arginina. Todas as soluções foram introduzidas no animal através de entubação gástrica, iniciadas doze horas após a inoculação das células tumorais, mantendo-se esta periodicidade de administração (12/12 horas).

Alteração ponderal e peso da carcaça

A alteração no peso corpóreo foi calculada pela subtração entre a média do peso final (animal morto) e o peso inicial. O peso da carcaça dos animais correspondeu ao último peso do animal subtraindo-se o peso dos tumores.

Exame anatomo-patológico dos animais

A necropsia dos animais foi realizada com evisceração total em monoblocos, os quais foram fixados em formaldeído a 10%. O material selecionado foi incluído em parafina, seccionado em micrótomo rotativo com 5 micrômetros de espessura e corado pelo método da hematoxilina-eosina, para análise histopatológica.

Pesagem e determinação do volume dos tumores

Os tumores foram pesados em balança analítica. O peso final refere-se a média dos quatro tumores de cada rato, conforme validado previamente (11). O volume do tumor foi estimado utilizando-se a fórmula: $V=L.W.D./6$, onde: L é o comprimento, W é a largura e D é a espessura. As medições foram feitas com paquímetro, com precisão de duas casas decimais e aferido pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) (4, 12).

Dosagem dos aminoácidos plasmáticos

A análise dos aminoácidos foi realizada no analisador Hitachi L-8500, por cromatografia de troca iônica com coluna de alta resolução, seguida da detecção com ninhidrina na fase pós-coluna. O coeficiente de variação do analisador apresentou-se inferior a 0.8%.

Dosagem de creatinina, uréia e glicose no soro

Para a determinação da creatinina foi utilizado o método cinético (LABORLAB, Brasil). Para a determinação de uréia foi utilizado o método cinético UV (urease-GLDH, CELM, Brasil). A determinação da glicose foi realizada pelo método enzimático (LABORLAB, Brasil). Os valores obtidos foram expressos em mg/dl.

Análise hematológica

Foram colhidos 3ml de sangue venoso com anticoagulante (EDTA a 10%) por punção cardíaca e realizado o hemograma, utilizando-se o Contador diferencial de células (Mod. CDI.)

Análise estatística

A análise estatística foi desenvolvida no software SAS (Statistical Analysis System), versão 6.12. Os dados foram analisados utilizando-se os procedimentos de análise de variância (ANOVA) e, posteriormente, os testes de Duncan e Student-Newman-Keuls. A significância estatística aceita foi $p < 0.05$.

RESULTADOS

Efeito da suplementação com arginina no desenvolvimento do tumor sólido de Walker 256 e no tempo de sobrevida dos animais

A arginina não afetou a incidência nem o período de latência, sendo que os tumores tornaram-se palpáveis entre 3 a 4 dias após inoculação.

A suplementação com arginina a 6% tendeu a reduzir o volume do tumor (3.35 ± 0.56 cm³), quando comparado ao grupo que recebeu a suplementação com arginina a 4% (3.51 ± 0.58 cm³) e ao grupo simplesmente tratado com dieta padrão (3.85 ± 0.32 cm³), não atingindo diferença estatística ($p < 0.06$). O peso do tumor também tendeu a apresentar-se menor após a administração de arginina a 6% (4.85 ± 1.51 g), quando comparado às administrações de arginina a 4% (5.01 ± 1.62 g) e com dieta padrão (5.20 ± 1.58 g), não sendo

entretanto esta diferença estatisticamente significativa ($p < 0.06$), (Tabela 1).

O tempo de sobrevivência dos animais não apresentou diferença significativa entre os grupos ($P < 0.06$), (Tabela 1).

TABELA 1

Efeito da suplementação dietética com arginina em ratos com tumor sólido de Walker 256

	Dietas		Dieta padrão
	Arginina 6%	Arginina 4%	
Peso do tumor (g) *	4.85±1.51	5.01±1.62	5.20±1.58
Volume do tumor (cm ³) ⁺	3.35±0.56	3.51±0.58	3.85±0.52
Tempo sobrevivência (h) ⁺⁺	153.71±67.86	148.31±62.40	107.73±64.10

Análise de variância (ANOVA). Testes aplicados: Duncan, Student-Newman-Keuls. * $P < 0.06$, NS; ⁺ $P < 0.06$, NS; ⁺⁺ $P < 0.06$, NS. Os valores representam a média ±DP (n=52) em cada grupo.

Efeito da suplementação com arginina no desenvolvimento metastático do tumor sólido de Walker 256

Nos animais inoculados com tumor sólido, as células apresentaram-se como uma neoplasia homogênea e monótona, com características poligonais ou irregulares, isoladas ou em pequenos grupos, com limites citoplasmáticos imprecisos. O citoplasma apresentou-se escasso, basofílico; os núcleos volumosos, de tamanhos variados, com nucléolos proeminentes e alto índice mitótico. O tumor infiltrou os feixes musculares e a pele por contiguidade.

No grupo que recebeu simplesmente a dieta padrão, foi observado comprometimento visceral do pulmão e fígado, de intensidade moderada a acentuada, com características histopatológicas semelhantes, em 100% dos animais necropsiados. No pulmão foi observada metástase nodular volumosa peri-brônquica e infiltração nos septos interlobares de intensidade moderada a acentuada, caracterizando provavelmente uma disseminação metastática de origem linfática. No fígado destes animais, foi encontrada hepatoesplenomegalia com infiltração de células neoplásicas, intra, extra-lobular e sinusoidal, de intensidade moderada.

Na análise histopatológica dos animais com tumor de Walker 256, que receberam suplementação com arginina a 4%, foi observado comprometimento pulmonar e hepático de intensidade moderada. No pulmão foi observada metástase nodular de intensidade discreta. Os animais apresentaram esplenomegalia, com infiltração de células neoplásicas intra e extra-lobulares, de intensidade discreta, em 100% dos animais do grupo. No rim foram observadas discretas alterações degenerativas das células tubulares renais, porém com ausência de células tumorais.

O comprometimento pulmonar e hepático também foi encontrado no grupo que recebeu a suplementação com arginina a 6%. No pulmão foi observada infiltração neoplásica perivascular (único nódulo) em 80% dos animais necropsiados, de

intensidade discreta. No fígado destes animais, foi encontrada infiltração neoplásica inter e extra-lobulares, em 80% dos animais necropsiados, de intensidade discreta. No rim, foram notadas as discretas alterações degenerativas das células tubulares renais, descritas anteriormente no grupo que recebeu arginina a 4%.

Efeito da suplementação com arginina no peso corpóreo e peso da carcaça dos animais com tumor sólido de Walker 256

Todos os ratos machos e jovens inoculados com o tumor sólido de Walker 256, apresentaram ganho ponderal, independente da suplementação dietética, todavia a suplementação com arginina esteve associada a um menor ganho ponderal, durante o período de estudo quando comparado aos animais do grupo que recebeu somente a dieta padrão (Tabela 2).

A análise da alteração no peso dos animais possibilitou verificar que um menor ganho ponderal esteve relacionada à dosagem de arginina a 6%, sendo obtida uma pequena alteração corpórea (3.55±16.69g), quando comparado aos grupos suplementados com a concentração a 4% (8.64±16.50g) e com dieta padrão (15.28±20.50g), sendo esta diferença estatisticamente significativa apenas entre os grupos arg 6% x dieta padrão ($p < 0.05$), (Tabela 2).

O peso médio da carcaça decresceu nos animais que receberam a suplementação com arginina a 6% (140.55±20.50g), quando comparado aos animais que receberam a arginina a 4% (145.49±19.40g) e a dieta padrão (152.87±22.68g), sendo a diferença estatisticamente significativa apenas entre os grupos que receberam a arginina 6% e a dieta padrão ($p < 0.05$), (Tabela 2).

TABELA 2

Alteração ponderal corpórea nos animais inoculados com tumor sólido de Walker 256, após suplementação dietética com arginina

Peso (g)	Dietas		Dieta padrão
	Arginina 6%	Arginina 4%	
Peso inicial	141.85±16.41	141.86±16.24	142.79±22.40
Peso final	145.40±20.50	150.50±19.40	158.07±22.68
Alteração no peso ⁺	3.55±16.69	8.64±16.50	15.28±20.50
Peso da carcaça ⁺	140.55±20.50	145.49±19.40	152.87±22.68

Análise de variância (ANOVA). Testes aplicados: Duncan, Student-Newman-Keuls. ⁺arg 6% x dieta padrão, $p < 0.05$. Demais relações NS. Os valores representam a média ±DP (n=52) em cada grupo.

Efeito da suplementação com arginina nas concentrações plasmáticas dos aminoácidos nos animais com tumor de Walker 256

Foi observado um aumento significativo nas concentrações plasmáticas de arginina, citrulina, ornitina, prolina e histidina (arg 6% x arg 4% x dieta padrão, $p < 0.001$), (Tabela 3).

TABELA 3

Alterações na concentração plasmática dos aminoácidos (AA) plasmáticos após a suplementação com arginina, em ratos com tumor sólido de Walker 256

AA (nmol/l)	Dieta		Dieta Padrão
	Arginina 6%	Arginina 4%	
Arginina*	157.68±15.39	123.70±11.91	101.50±13.38
Omitina*	156.00±10.77	107.40±12.79	80.07±14.35
Citulina*	78.96±17.55	66.69±14.99	53.80±11.46
Lisina	174.18±10.51	159.83±11.29	143.35±12.64
Histidina*	79.00±16.47	57.98±17.16	41.20±10.08
Prolina*	163.90±14.86	157.00±15.20	114.11±15.71
Valina	181.24±13.28	160.63±18.71	151.73±12.91
Metionina	67.27±21.18	50.86±11.00	48.26±18.51
Isoleucina	72.57±17.77	64.47±26.99	60.60±11.74
Leucina	151.80±12.49	120.42±20.47	132.64±25.49
Feniltilamina	77.62±26.42	68.58±19.28	65.12±13.87
Treonina	151.71±14.54	148.19±26.62	133.69±20.51
Glicina	339.20±17.67	322.97±13.18	318.68±12.48
Alanina	229.57±23.34	217.40±21.91	209.70±22.48

Análise univariada (ANOVA). Testes aplicados: Duncan, Student-Newman-Keuls. *Arg 6% x dieta padrão (P<0.001); *arg 6% x arg 4% (P<0.001); *arg 4% x dieta padrão (P<0.001). Demais relações NS. Os valores representam a média ± DP (n=20) em cada grupo.

Dosagem de uréia, creatinina e glicose nos animais com tumor de Walker 256

Não foram encontradas alterações significativas nos níveis de uréia (P<0.09) e creatinina (P<0.12) e glicose (P<0.16) nos animais suplementados com arginina, quando comparados ao grupo que recebeu apenas a dieta padrão (Tabela 4).

TABELA 4

Concentração de uréia, creatinina e glicose após a suplementação dietética com arginina em ratos com tumor sólido de Walker 256

	Dieta		Dieta Padrão
	Arginina 6%	Arginina 4%	
Uréia*	119.00±8.9	113.00±7.1	110.00±9.0
Creatinina ⁺	71.00±21.0	67.00±25.0	64.00±19.0
Glicose ⁺⁺	181.00±11.0	175.00±16.0	170.00±14.0

Análise univariada (ANOVA). Testes aplicados: Duncan, Student-Newman-Keuls. *P<0.09, NS; ⁺P<0.12, NS; ⁺⁺P<0.16, NS. Os valores representam a média ±DP (n=20) em cada grupo. Unidade de referência: mg/dl.

Alterações hematológicas obtidas após a suplementação com arginina nos animais inoculados com tumor de Walker 256

O grupo de animais que recebeu dieta padrão apresentou menores índices hematimétricos quando comparados aos grupos que receberam arginina (p<0.001). O número de leucócitos não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados (P<0.06), (Tabela 5).

TABELA 5

Alterações hematológicas após a suplementação com arginina em ratos com tumor sólido de Walker 256

	Dieta		Dieta Padrão
	Arginina 6%	Arginina 4%	
Eritrócitos*	3.02±0.21	2.77±0.17	2.47±0.17
Hemoglobinas*	6.77±0.34	6.06±0.18	5.75±0.18
Hematócrito*	24.25±0.51	23.75±0.21	23.20±0.64
Leucócitos*	5.65±0.58	5.57±0.48	5.50±0.40
Neutrófilos*	6.00±0.83	4.90±0.95	4.00±0.80
Linfócitos*	4.10±0.26	2.70±0.45	2.40±0.32

Análise univariada (ANOVA). Testes aplicados: Duncan, Student-Newman-Keuls. *Arg 6% x arg 4%, P<0.001; arg 6% x dieta padrão, P<0.001 e arg 4% x dieta padrão, P<0.001. Demais relações NS. Os resultados representam a média±DP (n=20) em cada grupo.

No hemograma do grupo suplementado com arginina a 6% a citomorfologia dos eritrócitos indicou policromasia (52.6%±0.30) e eritroblastose (40.0%±0.44) em quantidade que tendeu a ser superior a observada no grupo suplementado com arginina a 4% (46.0%±0.63 e 34.0%±0.62) e que recebeu somente a dieta padrão (39.0%±0.30 e 31.0%±0.52).

DISCUSSÃO

Desenvolvimento do tumor sólido de Walker 256 e tempo de sobrevida dos animais

O tumor de Walker 256 apresenta efeitos sistêmicos variados, como anorexia, alterações imunológicas e hidroeletrólíticas. Buscando obter maior sincronismo no desenvolvimento tumoral entre os animais do mesmo grupo, foi utilizada a técnica de inoculação multifocal, validada anteriormente (11).

No presente estudo, a arginina não afetou o período de latência (4 a 5 dias) ou a incidência do tumor (100%) nos grupos estudados, sugerindo que a arginina não previniu a iniciação do tumor após a inoculação das células tumorais. Esta observação apresentou-se semelhante à relatada previamente (3).

A influência da arginina também não foi notada no desenvolvimento inicial do tumor de Walker 256, o qual apresentou um padrão de desenvolvimento idêntico nos grupos. O crescimento tumoral seguiu um padrão de evolução típico, com um período inicial livre de efeitos sistêmicos detectáveis (período subclínico), seguido por um período

sintomático (período clínico), caracterizado por uma fase de sintomas moderados e uma fase grave, com diminuição da ingesta de ração, pouca reação ao estímulo externo e ao manuseio, depressão, seguida da morte do animal.

A suplementação com arginina a 6%, possivelmente, prolongou a duração das fases finais de desenvolvimento tumoral, sendo constatado aumento no tempo de sobrevivência médio neste grupo quando comparado aos demais grupos, porém sem significado estatístico ($P < 0.06$). O aumento da sobrevida dos animais com câncer, após a suplementação com arginina, foi relatado anteriormente (7,13).

No presente estudo, houve uma tendência a diminuição no peso e volume do tumor após utilização da arginina, porém as diferenças não se apresentaram estatisticamente significativas, quando foram comparados os grupos suplementados com arginina (6% e 4%) e que recebeu simplesmente a dieta padrão.

Embora as ações farmacológicas deste aminoácido não tenham sido ainda totalmente elucidadas, os efeitos observados podem ser explicados por várias hipóteses, entre elas, pelo conceito, que o crescimento tumoral é um processo dinâmico envolvendo uma competição entre células imunocompetentes e células neoplásicas, nas quais o crescimento é a soma da destruição e proliferação celular. Neste modelo, é sugerido que a progressão do tumor depende da capacidade do sistema imune em reconhecer e destruir as células neoplásicas, sendo que esta capacidade pode estar relacionada ao grau de imunogenicidade do tumor (9, 14).

Tem sido sugerido também que se o tumor for fracamente imunogênico, a suplementação com L-arginina pode estimular o crescimento tumoral devido à falta de reconhecimento do sistema imune, relatado em certos tumores humanos. Por outro lado, descreveu-se também que se o tumor for fortemente imunogênico, como tumores transplantáveis em animais, após a suplementação com arginina, as defesas do organismo podem predominar, resultando em inibição do crescimento tumoral (9).

Complementando o mecanismo de ação sugerido, a arginina é precursora do óxido nítrico (ON), cujas ações farmacológicas têm sido relacionadas à inibição do crescimento de células tumorais *in vitro* (5,14,15), citotoxicidade dos macrófagos ativados e inibição da agregação dos neutrófilos (5), além de participar em vários fenômenos fisiológicos incluindo a regulação da pressão arterial, neuro-transmissão e imunidade celular (16).

Muitos mecanismos tentam explicar a ação do ON na inibição do crescimento tumoral *in vitro*. Entre estes, que o ON interage com proteínas que contêm ferro necessárias à respiração e replicação celulares, incluindo a enzima do ciclo do ácido cítrico: aconitase e a enzima da síntese do DNA: ribonucleotídeo redutase, exercendo efeito inibitório sobre o crescimento tumoral. Além disso, o ON exógeno produzido por macrófagos, como também o endógeno produzido por

células tumorais, tem capacidade de induzir a apoptose ou morte celular programada em tumores (5).

Histopatologia do tumor e desenvolvimento de metástases no tumor sólido de Walker 256

A origem e determinação histopatológica deste tumor não é consensual na literatura sendo defendida as características carcinomatosa, adenomatosa, linfóide e até hematopoética por diferentes autores (17). No presente estudo, foi constatado em todos os grupos estudados, que o tumor pode ter se originado como um tumor misto, sugerindo ser semelhante a um *stem-cell* multipotencial capaz de dar origem a diversos tipos de tumores malignos. Ao exame microscópico, os padrões de um carcinoma ou sarcoma mostram-se como entidades individuais e independentes.

Na presente investigação, foi observado que nos animais que receberam a suplementação com arginina a 6% apresentaram comprometimento discreto das vísceras necropsiadas, quando comparado aos grupos que receberam a suplementação a 4% ou a dieta padrão (controles), sugerindo desta forma, que a utilização dietética da arginina apresentou-se benéfica na prevenção de metástases, no tumor sólido de Walker 256, corroborando com dados obtidos anteriormente, (10,18), embora o relato de literatura não seja consensual (5,13).

Na presente investigação, foram observadas alterações degenerativas das células tubulares renais, com ausência de células tumorais, em todos os animais que receberam suplementação com arginina. Este fato poderia estar relacionado, eventualmente, a toxicidade da arginina em grau não estabelecido até o presente.

Alterações ponderais nos animais com tumor sólido de Walker 256

A literatura não se apresenta consensual quanto aos efeitos benéficos da arginina na variação ponderal dos animais. O efeito catabólico da arginina no portador de câncer tem sido defendido por alguns autores (19, 20) e refutado por outros (12, 21).

Foi observado na presente investigação, que todos os animais com tumor sólido de Walker 256 apresentaram ganho ponderal, independentemente da suplementação dietética. Este fato ocorreu possivelmente devido aos animais serem jovens, em fase de crescimento. Foi notado também que a suplementação dietética com arginina na concentração de 6% proporcionou um menor ganho ponderal, quando comparada aos demais grupos.

A explicação dos efeitos observados ainda não foi elucidada, e desta forma especulamos que a arginina esteve associada ao menor desenvolvimento tumoral nos grupos com tumor sólido refletindo menor alteração ponderal, ou ainda, a arginina em altas concentrações, pode ocasionar toxicidade e inibição do crescimento celular dos animais jovens, proporcionando diminuição do ganho ponderal.

Em animais jovens, incluindo roedores, a arginina juntamente a outros nove aminoácidos (leucina, isoleucina, lisina, cistina, treonina, triptofano, tirosina e valina) são considerados essenciais (22). Em muitos casos, é sugerido a suplementação dietética destes aminoácidos para que o animal exiba melhor desempenho no crescimento, embora não tenha sido estabelecido a concentração ideal (22,23). Foi sugerido apenas que a administração de altas concentrações de aminoácidos proporcionou efeitos tóxicos em roedores (24).

Metabolismo dos aminoácidos nos animais com tumor sólido de Walker 256

Os aminoácidos circulantes servem como substrato para a síntese de proteínas, gluconeogênese, ureagênese e catabolismo oxidativo, os quais constituem processos metabólicos que podem estar significativamente alterados no câncer (25-27). Mudanças no metabolismo dos aminoácidos têm sido descritas nos tumores (28,29), como também no hospedeiro (25,30).

Apesar dos trabalhos revistos utilizarem amostragens pequenas e falta de detalhes metodológicos, os estudos realizados utilizando como modelo experimental o tumor de Walker 256, indicaram diminuição na concentração plasmática dos aminoácidos, especialmente aminoácidos essenciais (13,31). Este decréscimo na concentração plasmática observado nos animais com tumor de Walker 256, sem a suplementação dietética, deve-se, possivelmente, à utilização dos aminoácidos pelos tumores malignos, uma vez que os tumores precisam de aminoácidos como fonte de nitrogênio para a síntese proteica e fonte de energia para o metabolismo através da gluconeogênese (13,25,30,32).

Foi observado na presente investigação que a suplementação dietética com arginina a 6% resultou em uma tendência de aumento na concentração plasmática de todos os aminoácidos, nos animais com tumor sólido de Walker 256. Porém, foram obtidas alterações significativas nos quantitativos da arginina, histidina, prolina ornitina e citrulina ($P < 0.001$).

Entre os aminoácidos que sofreram alteração, a arginina, histidina e prolina são classificados como glicogênicos, ou seja, são aminoácidos cujo catabolismo origina piruvato ou um dos intermediários do ciclo de Krebs. Estes intermediários são substratos importantes para a gliconeogênese e responsáveis por estimular a formação de glicogênio no fígado e músculo dos animais (23).

Os aumentos na concentração dos aminoácidos citrulina, ornitina e arginina devem-se, provavelmente, às relações metabólicas que estes aminoácidos possuem entre si no organismo dos animais. A arginina além de ser derivada da dieta, é também formada através da citrulina como resultado de várias reações inter-órgãos (20). A citrulina sintetizada no fígado dos animais é parcialmente convertida em ornitina, a qual é transformada em arginina e uréia, através da enzima ornitina carbamoiltransferase. A citrulina excedente é absorvida pelo rim. O rim converte a citrulina em arginina. Parte da arginina é utilizada na síntese de proteína e parte é distribuída

a outros tecidos do organismo. Na literatura, o aumento destes aminoácidos tem sido relacionado ao aumento na atividade das enzimas ornitina carbamoiltransferase e arginina sintetase no rim de ratos submetidos a altas dietas protéicas (22).

Análise hematológica nos animais com tumor sólido de Walker 256

A anemia é uma complicação comumente observada em pacientes oncológicos (33-35). Os mecanismos responsáveis pela anemia no portador de câncer são normalmente extrínsecos ao tumor e devidos a vários mecanismos. No paciente caquético com câncer é observada uma ineficiência na utilização dos nutrientes pelo organismo, além de alterações na ingestão, digestão e absorção dos alimentos, podendo também contribuir no estado anêmico dos animais (34).

No presente estudo, foi notado que todos os animais com tumor sólido de Walker 256, em estágio avançado, apresentaram ao exame palidez acentuada das mucosas e orelhas, pelos opacos e sem brilho, movimentos lentos ao toque ou aproximação, diminuição na ingestão da ração e eliminação das fezes.

O número de eritrócitos, a quantidade de hemoglobina, o hematócrito e os números absolutos de leucócitos, neutrófilos e linfócitos, aumentaram com a suplementação com arginina a 6% quando comparado ao grupo que recebeu apenas a dieta padrão, sendo este aumento dose-dependente ($p < 0.001$).

A citologia demonstrou no grupo suplementado com arginina a 6% que cerca de 39.0% dos ratos apresentaram policromasia e aproximadamente 31.0% dos animais apresentaram eritroblastose, indicando possivelmente efeito da arginina na regeneração das células do sistema hematopoético. A leucocitose, com a presença de células mais jovens da linhagem neutrofílica (mielócitos, metamielócitos e neutrófilos bastonetes) foi observada em todos os grupos.

Os resultados indicam que a arginina ocasionou alterações hematológicas nos animais, sendo que o efeito apresentou-se dose-dependente quando comparado aos grupos de estudo ($p < 0.001$).

Os achados sugerem que a suplementação dietética com arginina a 6%, pode apresentar algum efeito benéfico no câncer que ultrapassa o aspecto nutricional.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal e do Programa de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico do Brasil para a realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

- 1 Beard H.H. The effect of parenteral injection of synthetic amino acids upon the appearance, growth and disappearance of emg sarcoma in rats. Arch Biochem., 1943; 1:177-186.

2. Weisburger JH, Yamamoto RS & Glass RM. Prevention by Arginine Glutamate of the carcinogenicity of acetamide in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1969; 14:163.
3. Takeda Y, Tominaga T, Tei N, Kitamura M & Taga S. Inhibitory effect of L-arginine on growth of rat mammary tumors induced by 7,12-Dimethylbenz (a) Anthracene. *Cancer Res*, 1975; 35:2390-2393.
4. Novaes MRCG. Efeitos da suplementação nutricional com L-Arginina no tumor de Walker 256. Tese de Doutorado. Universidade De Brasília, 1999.
5. Senkal M, Kemen M, Homann HH, Eickhoff U, Baier J & Zumtobel V. Modulation of postoperative immune response by enteral nutrition with a diet enriched with arginine, RNA, and Omega-3 Fatty Acids in patients with upper gastrointestinal cancer. *Eur J Surg*, 1995; 161:115-122.
6. Cho-Chung YS, Clair T & Bodwin JS. Arrest of mammary tumor in vivo by L-arginine: Stimulation of NAD-dependent activation of adenylate cyclase. *Biochem Biophys Res Commun.*, 1980; 95:1306-1310.
7. Park KGM, Hayes PD, Garlick PJ, Sewell H & Eremin O. Stimulation of lymphocyte natural cytotoxicity by L-arginine. *Lancet*, 1991; 337:645-646.
8. Yeatman JT, Risley GL & Brunson ME. Depletion of dietary arginine inhibits growth of metastatic tumor. *Arch Surg*, 1991; 126:1376-1382.
9. Tachibana L, Mukai K, Moriguchi S, Takama S & Kishino Y. Evaluation of the effect of arginine-enriched amino acid solution on tumor growth. *J Parenter Enteral Nutr*, 1985; 9:428-434.
10. Milner JA & Stepanovich LV. Inhibitor effect of dietary arginine on growth of Ehrlich Ascites Tumor cells in mice. *J Nutr*, 1979; 109:489-494.
11. Rettori O, Vieira-Matos AN & Tahin QS. Variability and discontinuity of the pathognomonic systemic effects caused by Walker 256 tumor progression in rats. *Tumori*, 1995; 81:370-377.
12. Reynolds JV, Daly JM, Shou J, Sigal R, Ziegler MM & Naji A. Immunological effects of arginine supplementation in tumor bearing and non tumor bearing hosts. *Ann Surg*, 1990; 211:202-210.
13. Ye SL, Istafan NW, Drriscoll DF & Bistran BR. Tumor and host response to arginine and branched chain amino acid enriched total parenteral nutrition. *Cancer*, 1992; 69:261-270.
14. Konur A, Krause SW, Reahli M, Kreutz M & Andreessen R. Human monocytes induce a carcinoma cell line to secrete high amounts of nitric oxide. *J Immunology*, 1996; 2110-2115.
15. Carmo A, Lopes C, Santos M, Proença R, Cunha-Vaz J & Carvalho A. Nitric Oxide Synthase activity and L-arginine metabolism in the retinas from streptozotocin-induced rats. *General Pharmacology*, 1998; 30:319-324.
16. Tozer GM, Prise VE & Chaplin DJ. Inhibition of nitric oxide synthase induces a selective in tumor blood flow that is reversible with L-arginine. *Cancer Research.*, 1997; 57:948-955.
17. Seifter E, Rettura G & Barbul A. Arginine: An essential amino acid for injured rats. *Surgery*, 1978; 84:224-230.
18. Kirk SJ & Barbul A. Role of arginine in trauma, sepsis and immunity. *J Parenter Enteral Nut.*, 1990; 14(5):226s-229s.
19. Milner JA, Wakeling AE & Visek WJ. Effect of arginine deficiency on growth and intermediary metabolism in rats. *J Nutrition*, 1974; 104(12):1681-1689.
20. Rogers QR, Freedland RA & Symmons RA. In vivo synthesis and utilization of arginine in the rat. *Amer J Physiology*, 1972; 223(1):236-240.
21. Champe P & Harvey RA. *Bioquímica Ilustrada*. In: Aminoácidos. Ed. Artes Médicas Sul Ltda. 2 Ed., Porto Alegre, 1997, 7-15, 91 p.
22. Barbul A. Arginine: Biochemistry, Physiology and therapeutic implications. *J Parenter Enteral Nutr*, 1986; 10:227-238.
23. Guitani A, Recchia M, Carli M, Rocchetti M, Bartosek I & Garattini S. Walker Carcinoma 256: A Model for studies on tumor anorexia and cachexia. *Oncology*, 1982; 39:173-178.
24. Hester JE & Fee WE. Effect of arginine on growth of squamous cell carcinoma in the C3h/Km mouse. *Arch Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1995; 121 (2):193-196.
25. Clarke EF, Lewis AM & Waterhouse C. Peripheral amino acid levels in patients with cancer. *Cancer*, 1978; 42:2909-13.
26. Lundholm K, Edstrom S, Karlberg I, Ekman L & Schersten T. Relationship between food intake, body composition and tumor growth to host metabolism in nongrowing mice with sarcoma. *Cancer Res.*, 1980; 40:2516-2522.
27. Pisters PW & Pearlstone DB. Protein and amino acid metabolism in cancer cachexia: Investigative techniques and therapeutic interventions. *Crit Rev In Clin Lab Sciences.*, 1993; 30(3):223-272.
28. Rivera S, Azcón-Bieto J, López-Soriano FJ, Miralpeix M & Argilés JM. Amino acid metabolism in tumor-bearing mice. *Biochem J*, 1988; 249:443-449.
29. Marquez J, Sánchez-Jiménez F, Medina MA, Quesada AR, Nuñez CL. Nitrogen metabolism in tumor bearing mice. *Arch Biochem Biophys*, 1989; 268:667-675.
30. Kurzer M, Janiszewski J, Meguid MM. Amino acid profiles in tumor-bearing and pair-fed nontumor-bearing malnourished rats. *Cancer*, 1988; 62:1492-1496.
31. Tayek JA, Istfan NW, Jones CT, Harmawy KJ, Bistran BR, Black-Burn GL. Influence of the Walker256 carcinosarcoma on muscle, tumor, and whole-body protein synthesis and growth rate in the cancer-bearing rat. *Cancer Res*, 1986; 46:5649-5654.
32. Norton JA, Gorschboth CM, Wesley RA, Burt ME, Brennan MF. Fasting plasma amino acid levels in cancer patients. *Cancer*, 1985; 56:1181-1186.
33. Theologides A. Pathogenesis of cachexia in cancer: A review and a hypothesis. *Cancer*, 1972; 20:484-488.
34. Saba HI. Anemia in cancer patients. Introduction an overviews. *Cancer Control*, 1998, 5:3-5.
35. Zuckerman KS. Hematopoietic abnormalities in patients with cancer. *Cancer Control*, 1998; 5:6-11.
36. Bach JS & Lasnitzki I. Some aspects of the role of arginine and arginase in mouse Carcinoma 63. *Enzymology*, 1953; 12:198-205.

Recibido:17-08-1999

Aceptado:26-06-2000

Utilização de tabelas de composição de alimentos na avaliação do risco de hipovitaminose A

Cláudia Saunders, Andréa Ramalho, Elizabeth Accioly, Fernando Paiva

Instituto de Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IN/UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

RESUMO. Cento e noventa e oito dietas de gestantes atendidas em hospital da rede pública do Rio de Janeiro, Brasil, foram analisadas, usando 5 tabelas de composição de alimentos e o Inquérito Recordatório de 24 horas. A flutuação no teor de vitamina A foi 793 a 1494µgRE com diferenças significativas ao nível de 5% de acordo com o teste de Fisher. A Tabela do INCAP foi considerada mais adequada para esta análise, por levar em consideração a atividade biológica das diversas pró-vitaminas A (carotenóides). Entretanto, esta Tabela não inclui um grande número de alimentos consumidos em Brasil, e também não contempla preparações culinárias e alimentos industrializados que aparecem com frequência nos inquéritos. Isto faz necessário dar mais atenção aos instrumentos de avaliação do consumo de vitamina A, para aumentar a precisão da determinação de risco nutricional em populações.

Palavras-chaves: Inquérito dietético, recordatório 24 horas, retinol, carotenóides.

SUMMARY. The importance of food composition tables in the evaluation of risk of vitamin A deficiency. One hundred and ninety-eight 24h-recall questionnaires from pregnant attendees of the public health services in Rio de Janeiro, Brazil, were analyzed, using 5 different Food Composition Tables. The differences in calculated intakes were as high as 88% (793 to 1494µgRE). The differences were significant at the 5% level using Fishers test. The INCAP table was considered more adequate because it gives more attention to the different conversion factors for carotenoids. However, the INCAP Table does not include several foods frequently consumed in Brazil, neither does it show values for culinary preparations and industrialized foods. This study shows that there is a need to improve the tools to evaluate vitamin A intake if we wish to assess nutritional risk in populations.

Key words: Dietary survey, 24-hour dietary recall, retinol, carotenoids.

INTRODUÇÃO

A Hipovitaminose A é uma carência nutricional de grande importância em nível de Saúde Pública, e juntamente com as deficiências de ferro e iodo, formam a chamada "fome oculta", com cifras preocupantes na América Latina e Caribe (1,2). Calcula-se, que atinge 254 milhões de crianças em todo o mundo (3), além de gestantes e puérperas, grupos reconhecidamente de risco para essa carência (4).

O Brasil está incluído entre os países onde a hipovitaminose A é considerada como grave, segundo indicadores subclínico, conforme dados da WHO (4), a partir de estudos pontuais com gestantes, puérperas, recém-nascidos, pré-escolares e escolares nas regiões nordeste e sudeste do país (5-12). O Ministério da Saúde (13) declara que 23% das mortes por diarreia em crianças, estão associadas com a Hipovitaminose A e que essa carência nutricional é a principal causa de cegueira evitável no mundo.

O principal fator determinante da Hipovitaminose A, apontado em trabalhos epidemiológicos, é a ingestão dietética deficiente, e o aumento do consumo "per capita" de alimentos fonte de vitamina A tem sido apontado como uma das principais estratégias para o combate dessa carência (3,14-17).

A ingestão dietética inadequada é o primeiro estágio da

deficiência nutricional e pode ser detectada através de inquérito dietético. Com isso, a informação dietética tem sido considerada um indicador precoce, pré-patológico da carência de vitamina A. O inquérito dietético tem sua relevância comprovada na avaliação do estado nutricional de indivíduos, tem sido amplamente utilizado em trabalhos epidemiológicos, e é recomendado como capaz de fornecer informações importantes sobre o padrão alimentar da população, servindo de base para programas de intervenção (7,14,18).

A preocupação com a construção de tabelas, indispensáveis na avaliação dos dados obtidos com inquéritos dietéticos, que mais se aproximem do real teor de nutrientes ingeridos, tem sido relatada por pesquisadores, inclusive no que diz respeito à vitamina A (19-23). A questão da biodisponibilidade desta vitamina, principalmente das formas pró-vitamínicas (carotenóides), também tem sido levantada, pois, representam a principal forma de consumo de vitamina A para grande parcela da população, sobretudo em países em desenvolvimento (3). Em trabalhos recentes, autores tecem considerações a respeito da biodisponibilidade de vitamina A em alimentos ricos em carotenóides, sugerindo cautela na recomendação de fontes vegetais para atender as recomendações nutricionais, principalmente em termos de estratégia de intervenção (3,17)

O objetivo do presente trabalho foi verificar, a partir de dados coletados com inquérito dietético aplicado em gestantes, a flutuação do conteúdo médio de vitamina A das dietas, cuja análise foi realizada com base em 5 diferentes tabelas de composição química de alimentos, normalmente empregadas pelos profissionais da área de nutrição em planejamento e análise de dietas.

METODOLOGIA

Foram entrevistadas e colhidas informações de consumo alimentar através do Recordatório 24 horas (REC) de 198 gestantes assistidas no Serviço de Assistência Pré-natal do Hospital Municipal Miguel Couto, Rio de Janeiro, Brasil.

A coleta de dados foi realizada após acordo institucional entre o Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro e a Divisão de Recursos Humanos da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro e após a aprovação da Comissão de Ética do referido hospital.

Os entrevistadores envolvidos na pesquisa, passaram por treinamento e reciclagem periódica para a obtenção de dados válidos, precisos e seguros. Durante a coleta de dados foram utilizadas técnicas de entrevista previamente estabelecidas.

A captação da amostra ocorreu em regime de 3 plantões semanais de 6 horas, no período de abril a novembro de 1993, na referida Unidade de Saúde mencionada. Todas as gestantes presentes à sala de espera para a consulta médica foram convidadas a participar do estudo, e aquelas que após esclarecimento sobre os objetivos do trabalho concordaram em participar, responderam ao inquérito.

O método REC foi aplicado no presente estudo, com o objetivo apenas de verificar a flutuação dos valores de vitamina A presentes nas dietas. Para avaliação do consumo da vitamina A em relação às recomendações de ingestão e detectar o risco dessa carência nutricional numa dada população, o método Frequência de Consumo Semi-quantitativo vem sendo o mais utilizado e recomendado (7,14,24,25).

Na avaliação dietética através do REC, o entrevistador registrou o consumo de alimentos das últimas 24 horas anteriores à entrevista, incluindo preparações culinárias, líquidos ingeridos e suplementos nutricionais. Para a quantificação das porções de alimentos utilizados pelas gestantes, utilizou-se figuras representativas de tamanho de porções de alimentos (carnes, vegetais e frutas). Quantificou-se todos os alimentos citados, mesmo os que não representavam boas fontes de vitamina A, com o objetivo de não influenciar a entrevistada. O material ilustrativo foi elaborado baseando-se em trabalho de Martins (26) e, para os alimentos não disponíveis em figuras foram consideradas medidas caseiras usualmente empregadas (colher de sopa, concha, copo americano, xícara, prato fundo, entre outros).

De posse das porções e medidas de alimentos utilizadas pelas gestantes, foi realizada a conversão em peso/volume,

utilizando-se os trabalhos de Martins (26), Pinheiro e colaboradores (27) e Soares e colaboradores (28). Os teores de vitamina A foram expressos em μg de retinol equivalente (RE). Por convenção, 1 μgRE equivale a 1 μgRE de vitamina A pré-formada (retinol) ou a 3,33 UI de vitamina A.

As tabelas de composição dos alimentos utilizadas para a obtenção do teor de vitamina A das dietas, foram assim denominadas no presente trabalho:

- *Tabela A* - Tabela do Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) - Leung & Flores (29)
- *Tabela B* - Tabela da Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - FIBGE (30)
- *Tabela C* - Tabela do Grupo de Pesquisa em Nutrição Materno-Infantil da Universidade Federal do Rio de Janeiro Pinheiro et al. (27)
- *Tabela D* - Tabela de Franco (31)
- *Tabela E* - Tabela Handbook nº 8 do Departamento de Agricultura dos EUA - USDA in Centro de Informática em Saúde da Escola Paulista de Medicina (32)

Com o objetivo de avaliar a adequação dietética de vitamina A das gestantes, comparou-se o valor de consumo de cada gestante com o nível de ingestão segura sugerido pela FAO (33) para tal nutriente que, para o grupo estudado, é de 600 $\mu\text{gRE}/\text{dia}$. Valores de consumo inferiores ao nível indicado, foram considerados como ingestão inadequada.

O teste F (análise de variância) foi utilizado para avaliar a existência de diferenças significativas, entre as médias obtidas com a análise das dietas a partir das 5 tabelas de composição química dos alimentos e o teste de Tukey foi empregado, quando o F foi significativo, visando determinar quais as médias foram diferentes entre si (34).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, constatou-se grande flutuação dos valores médios de vitamina A obtidos com a avaliação de 198 dietas a partir de 5 diferentes tabelas de composição química dos alimentos, com diferença significativa do ponto de vista estatístico (Tabela 1). Analisando-se as medidas de tendência central obtidas, pode-se constatar que a média foi mais desviada para valores altos, fortemente influenciada pelos valores extremos e a mediana foi mais representativa como medida de tendência central. Com a análise do desvio padrão, verificou-se que houve grande variação intra-pessoal dos valores de ingestão de vitamina A, observada com a aplicação das 5 tabelas na estimativa de cada dieta.

Analisando-se ainda a Tabela 1, verifica-se que o maior valor médio (1494,06 μgRE) e os menores valores médios (793,02 μgRE e 908,97 μgRE), foram obtidos com a avaliação de consumo a partir das Tabelas C, D e E, respectivamente, tendo o teste de Tukey demonstrado existirem diferenças significantes dos valores obtidos entre as tabelas C e D e entre C e E.

Essa variação dos valores obtidos com a avaliação feita

com diferentes tabelas, também é descrita por Taylor e colaboradores (35), que encontraram diferenças significantes entre os valores da vitamina A obtidos com a aplicação de diferentes tabelas de composição química dos alimentos.

Há de se destacar que a variabilidade dos valores de ingestão de vitamina A resultou em cifras médias de ingestão

acima da recomendação dietética nos resultados obtidos em todas as tabelas estudadas (Tabela 1). No entanto, independentemente da tabela empregada, a frequência de inadequação dietética chega a 2/3 da amostra, segundo a tabela A e a menor frequência deste evento, conforme a tabela C, representa nível ainda bastante considerável de inadequação dietética, na ordem de 56,1% (Tabela 2).

TABELA 1

Medidas de tendência central de ingestão de vitamina A de 198 gestantes, segundo 5 tabelas de composição de alimentos. Hospital Municipal Miguel Couto, RJ.

Ingestão de vitamina A total(μ gRE)	Tabelas de composição química de alimentos					Teste F
	A	B	C	D	E	
Média	1008,89	1204,90	1494,06	793,02	908,97	
Desvio padrão	2456,11	2629,63	3538,77	1157,12	1497,56	2,5872 *
Mediana	262,10	464,45	476,95	447,55	462,95	
Moda	5,70	-	-	77,40	0	
Valor Mínimo	0	0	0	3,00	0	
Valor Máximo	22620,10	22981,90	31110,10	9347,80	15102,00	

* $0,01 < p < 0,05$ gl = 4; 985

TABELA 2

Ingestão dietética de vitamina A de 198 gestantes, segundo 5 tabelas de composição de alimentos. Hospital Municipal Miguel Couto, RJ

Ingestão de Vitamina A	Tabelas de composição química de alimentos									
	A		B		C		D		E	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Inadequada (<600 μ gRE/dia)	141	(71,2)	124	(62,6)	111	(56,1)	124	(62,6)	115	(58,1)
Adequada (\geq 600 μ gRE/dia)	57	(28,8)	74	(37,4)	87	(43,9)	74	(37,4)	83	(41,9)

Investigando-se a razão para as discrepâncias encontradas, foram constatados alguns achados importantes. Observou-se que entre as tabelas analisadas, algumas omitem os critérios adotados para a obtenção do valor da vitamina A expresso em μ gRE e, também as formas de vitamina A consideradas em cada alimento (retinol, β -caroteno e outros carotenóides). Na publicação que apresenta o teor da vitamina A expresso em unidades internacionais (UI) e em retinol equivalente (μ gRE), constatou-se que o fator utilizado para a obtenção do teor de vitamina A a partir dos alimentos de origem animal foi 3,33 e para os de origem vegetal o fator utilizado para a obtenção do teor de vitamina A foi 10. Porém, sabe-se que nos alimentos de origem vegetal podem ocorrer diferentes formas de carotenóides com atividade vitamínica A diferente (Quadro 1) (36), como exemplo: a abóbora que é uma importante fonte de vitamina A, contém β -caroteno e α -caroteno (ativos) e mais,

luteína e zeaxantina (inativos) e o brócolis contém β -caroteno (ativo) e mais, luteína e zeaxantina (inativos) (37,38). Com isso, quando não são considerados os tipos e proporções dos carotenóides presentes em cada alimento, o teor de vitamina A dos alimentos pode ser superestimado, pois todos os carotenóides dos alimentos de origem vegetal passam a ser considerados, como tendo atividade equivalente a do β -caroteno e sabe-se que os outros carotenóides apresentam atividade biológica, em relação ao β -caroteno, na ordem 0 a 75% (Quadro 2) (39). Assim, para os alimentos nos quais os carotenóides são a forma de vitamina A predominante, os valores de ingestão de vitamina A podem ser superestimados, particularmente, se forem considerados os carotenóides sem atividade vitamínica A, como por exemplo: licopeno, luteína, zeaxantina (Quadro 2) (39).

QUADRO 1
Formas e Proporções de vitamina A presentes nos alimentos de origem animal e vegetal

Alimentos	Retinol %	β-caroteno %	Outros Carotenóides %
Origem animal			
Carnes e vísceras	90	10	
Aves	70	30	
Pescados e mariscos	90	10	
Ovos	70	30	
Leite e produtos lácteos			
lábicos	70	30	
Gordura animal	90	10	
Origem vegetal			
Cereais:			
Milho amarelo		40	60
Outros		50	50
Leguminosas e outras sementes			
Hortalças:			
Verdes		75	25
Amarelo intenso (cenoura, abóbora)		85	15
Batata - tipo pálido	50	50	
Outras		50	50
Frutas			
Amarelo intenso (caqui)		85	15
Outras		75	25
Azeites vegetais			
Palma		65	35
Outros		50	50

Fonte: Flores et al. (36)

QUADRO 2
Atividade relativa da pró-vitamina A de diversos carotenóides

Carotenóides	Atividade %
β-caroteno	100
α-caroteno	50-54
γ-caroteno	42-50
3,4-deshidro-β-caroteno	75
β-caroteno-5,6-epóxido	21
α-caroteno-5,6-epóxido	25
3-oxo-β-caroteno	52
3-hidroxi-β-caroteno (criptoxantina)	50-60
4-hidroxi-β-caroteno	48
β-2'-apo-carotenal	Ativo
β-8'-apo-carotenal	72
Licopeno	Inativo
Luteína	Inativa
3,3'-dihidroxi-β-caroteno (zeaxantina)	Inativo

Fonte: Simpson & Tsou (39)

Além disso, a forma de preparação dos alimentos de origem vegetal também pode interferir na sua

biodisponibilidade, e deve ser considerada na construção de tabelas de composição química dos alimentos, pois, sabe-se que a matriz na qual o carotenóide está inserido no alimento, interfere na sua disponibilidade. Nas folhas verdes, os carotenóides se apresentam nos cloroplastos como complexos de pigmento-proteína e para sua liberação, requerem a desintegração do carotenóide. Em outras hortaliças e frutas, os carotenóides, às vezes, se encontram em gotículas de gordura, das quais podem liberar-se facilmente. A cocção dos alimentos contribui para a liberação dos carotenóides porém, se for prolongada, pode causar a destruição oxidativa do mesmo (3).

Em populações de baixa renda, o consumo da vitamina A é, via de regra, predominantemente de fontes de origem vegetal, podendo representar 80% ou mais do total da vitamina A ingerida, o que requer cuidado na análise e interpretação dos dados dietéticos (3,14,40). Vale ressaltar que a utilização dos carotenóides pelo organismo sofre influência de outros componentes dietéticos, tais como gorduras, proteínas, zinco e vitamina E, além de terem sua biodisponibilidade reduzida se a ingestão de fibra, clorofila e carotenóides sem atividade vitamínica A for alta. Do ponto de vista de Saúde Pública, há de se destacar, que os parasitas intestinais particularmente *Ascaris lumbricóides* e *Giardia lamblia* interferem na absorção da vitamina A, comprometendo o estado nutricional dos indivíduos (3).

A tabela que considera a atividade biológica e a eficiência de conversão do retinol, β-caroteno e outros carotenóides, conforme a recomendação da WHO (40) é a tabela do INCAP (29) que, apesar de ter como limitações a apresentação de alimentos na forma crua, não contemplar preparações culinárias regionais e alimentos industrializados, além de não considerar a interação entre os nutrientes (fato comum às demais tabelas disponíveis) ainda assim, é a que melhor apresenta o conteúdo total da vitamina A (29). Adicionalmente, fornece a proporção das formas da vitamina A presentes nos alimentos e informa os fatores adotados para estimativa do teor de vitamina A: retinol, eficiência = 1 (100% utilizável); β-caroteno, eficiência = 1/6 (16,7% utilizável); outros carotenóides, eficiência = 1/12 (8,3% utilizável). Tal apresentação facilita a consulta do usuário, sendo a tabela mais internacionalmente utilizada para estimativa de consumo de vitamina A, em trabalhos epidemiológicos, além de apresentar a análise de alimentos disponíveis e usualmente consumidos na América Latina (6,41,42).

Na Tabela 3 pode-se constatar uma grande variação no conteúdo de vitamina A presente nos alimentos mais citados pela amostra estudada, merecendo destaque cenoura, espinafre, fígado, queijo minas e requeijão. Essas diferenças, possivelmente, sejam devidas ao procedimento empregado na avaliação do teor de vitamina A das diferentes formas da vitamina pré-formada ou pró-vitamina contida nos alimentos, os métodos analíticos empregados na análise do teor vitamínico dos alimentos, as variações regionais e a forma de preparo das amostras alimentares para análise (cruas ou cozidas,

tempo de cocção). Variações ainda maiores foram descritas por Lajolo & Vannuchi (21). Vale destacar que devido às propriedades físicas da vitamina A, o método analítico recomendado atualmente é a Cromatografia Líquida de Alta Resolução (HPLC), e que para evitar a oxidação e a polimerização das amostras, estas devem ser analisadas imediatamente, ou congeladas protegidas da luz (3).

TABELA 3

Valores mínimos e máximos de vitamina A nos alimentos mais citados por 198 gestantes, segundo 5 tabelas de composição de alimentos. Hospital Municipal Miguel Couto, R

Alimentos	Valor mínimo (µgRE)	Valor Máximo (µgRE)
Abóbora	100,0	525,0
Alface	86,6	190,0
Cenoura	900,0	2455,0
Espinafre	360,0	1170,0
Fígado de Boi	3004,0	11116,3
Manga	209,9	389,0
Manteiga	652,0	754,0
Melão	116,0	322,0
Queijo Minas	56,0	270,0
Queijo Prato	192,0	270,0
Requeijão	56,0	437,0
Tomate	60,0	113,0

Apesar de reconhecidas as limitações dos inquéritos dietéticos para avaliação do estado nutricional de vitamina A, dada sua baixa correlação com os indicadores clínicos e bioquímicos para avaliação do estado nutricional deste nutriente (43,44), o seu baixo custo, facilidade de execução e sobretudo, sua boa aceitação por parte da população, tornam a informação alimentar de valor essencial na avaliação do risco nutricional e no planejamento de medidas de intervenção.

A busca ou aprimoramento de métodos de inquérito dietético capazes de classificar populações e indivíduos, segundo categorias de risco de deficiência, para um ou mais nutrientes certamente, vem contribuindo para melhorar a correlação entre o indicador dietético e os demais indicadores do estado nutricional de vitamina A, merecendo destaque o método Frequência de Consumo Semi-quantitativo, o mais recomendado em estudos com este nutriente (7,14,25).

O diagnóstico dietético apesar das limitações inerentes aos métodos e instrumentos disponíveis, tem posição de destaque como indicador de risco nutricional e quando em conjunto com outros indicadores de maior sensibilidade pode contribuir para o diagnóstico e combate de carências nutricionais específicas.

Através dos dados obtidos pode-se concluir que na avaliação do consumo dietético com base em tabelas de composição

química dos alimentos, devem ser consideradas suas limitações no que diz respeito à vitamina A, já que representam instrumento de fundamental importância nos estudos epidemiológicos para a avaliação de ingestão desse nutriente. A identificação e controle dos possíveis vieses do inquérito dietético poderão melhorar sua fidedignidade como indicador precoce e pré-patológico do estado nutricional de vitamina A, carência nutricional considerada problema de Saúde Pública de grande magnitude.

Face ao exposto é indispensável a revisão das tabelas de composição química dos alimentos e o emprego da metodologia de análise de nutrientes que considerem variações de solo, clima, estações do ano, alterações sofridas pelos alimentos na cocção, bem como os efeitos da interação com outros nutrientes além de contemplar alimentos regionais, com o objetivo de evitar a superestimação ou a subestimação dos teores de vitamina A dos alimentos de origem vegetal.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial ao professor Dr. Hernando Flores pela valiosa consultoria científica prestada durante a realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

- Mora JO, Dary O. Deficiencia de vitamina A y acciones para su prevención y control en América Latina y el Caribe, 1994. Bol Oficina Sanit Panam 1994;117(6): 519-528.
- Underwood B. Tercer taller regional sobre deficiencias de vitamina A y otros micronutrientes en América Latina y el Caribe. Recife, Brasil, agosto, 23-27, 1993. USAID, 1993:4-8.
- Mclaren DS, Frigg M. Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD). Washington: Organización Panamericana de la Salud, OPAS, 1999.
- World Health Organization (WHO). Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva: WHO, 1996 (technical report series n° 96.10).
- Araújo RL, Araújo BDG, Sieiro RO, Machado RDP, Leite BV. Diagnóstico de hipovitaminose A e anemia nutricional na população do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. Arch Latinoam Nutr 1986; XXXVI: 642-653.
- Batista Filho M, Chaves N, Varela RM, Martins MHS, Salzano AC, Bazante, MO, Teixeira SMG, Lima EJC, Reis FM, Martins GC, Linhares ER. Inquérito nutricional em área urbana da zona da mata do Nordeste brasileiro - água Preta - Pernambuco. O Hospital 1971 maio; 79(5): 135-155.
- Coelho CSP, Ramalho RA, Accioly E. Vitamina A: Inquérito dietético na avaliação do estado nutricional em gestantes. Gynaecia 1995 setembro; 1:200-204.
- Dutra de Oliveira JE, Cunha SFC, Marchini JS. Problemas nutricionais por carência ou deficiência. In: A desnutrição dos pobres e dos ricos. Dados sobre a alimentação no Brasil. São Paulo: Sarvier, 1996:36-47
- Favaro RMD, Souza NV, Batista SM, Ferriani MGC, Desai ID,

- Dutra de Oliveira JE. Vitamin A status of young children in southern Brazil. *Am J Clin Nutr* 1986; 43:852-858.
10. Ramalho RA, Anjos LA, Flores H. Hypovitaminosis A in neonates from public Hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública* 1998 out/dêz; 14(4): 821-827.
 11. Varela RM, Teixeira SG, Batista M. Hipovitaminosis A in the sugarcane zone of the Southern Pernambuco State, Northeast Brazil. *Am J Clin Nutr* 1972; 28(8):800-804.
 12. Wilson D, Nery MES. Hipovitaminose A in Rio Grande do Sul, Brazil. Preliminary study. *Int J Vit Nutr Res* 1983; 24(suppl): 35-44.
 13. Ministério de Saúde. Política Nacional de Alimentação e Nutrição. Brasília; Ministério da Saúde, 2000
 14. International Vitamin A Consultative Group (IVACG). Guidelines for the development of a simplified assessment to identify groups at risk for inadequate intake of vitamin A. New York: The Nutrition Foundation, 1989
 15. Ministério da Saúde (MS). Instituto de Alimentação e Nutrição (INAN). Programa de Controle da Hipovitaminose A. Normas Técnicas. Brasília, DF, 1990.
 16. Organización Panamericana de la Salud (OPAS). Primer Informe sobre la situación de la nutrición en el mundo. Washington: OPAS, 1990. (cuaderno técnico, 28)
 17. Solomons NW, Bulux J. Plant Sources of provitamin A and human nutriture. *Nutrition Reviews* 1993; 51(7):199-204.
 18. Horner MR, Dorea JG, Pereira MG, Bezerra VL, Salomon JB. Inquérito dietético com base no consumo familiar: O caso de Ilhéus, Bahia, Brasil, em 1979. *Arch Latinoam Nutr* 1981 dic; 31(4):726-739.
 19. Bieri JG, McKenna MC. Expressing dietary values for fat-soluble vitamins: changes in concepts and terminology. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 289-295.
 20. Cooke JR. Food composition tables - Analytical problems in the collection of data. *Human Nutrition: Applied Nutrition* 1983; 37A: 441- 447.
 21. Lajolo FM, Vanucchi H. Informe Brasil. Tabelas de composição de nutrientes em alimentos: situação no Brasil e necessidades. *Arch Latinoam Nutr* 1987; XXXVII(4):702-713.
 22. Philippi ST, Rigo N, Lorenzano C. Estudo comparativo entre tabelas de composição química dos alimentos para avaliação de dietas. *Revista de Nutrição da PUCCAMP* 1995; 8(2): 200-213.
 23. Willett WC. *Nutritional epidemiology*. Geneva: WHO, 1990.
 24. Nimsakul S, Collumbien M, Likit-Ekaraj V, Suwanarach C, Tansuhajj A, Fuchs GJ. Simplified dietary assessment to detect vitamin A deficiency. *Nutrition Research* 1994; 14(3):325-336.
 25. Sloan N, Rosen D. Validation of the HKI frequency method to identify communities with vitamin A deficiency. Meeting of the International Vitamin A Consultative Group. Abstract XV. Arusha, Tanzania, march, 1993.
 26. Martins MHS. Valor nutritivo de alimentos definidos por pesos médios, frações e medidas caseiras. Recife: UFPE/CCS, 1982.
 27. Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. 3ª ed. Rio de Janeiro: Grupo de Pesquisa em Nutrição Materno- Infantil da UFRJ (IPPMG/UFRJ), 1996.
 28. Soares EA, Portela ES, Ishii M. Relação de medidas caseiras de 320 alimentos e respectivas gramagens. São Paulo: CEANE, 1991.
 29. Leung WTW, Flores M. Tabla de composición de alimentos para uso en America Latina. Instituto de Nutrición Centro America y Panamá. Ciudad de Guatemala, jun., 1961.
 30. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (FIBGE). Estudo Nacional da Despesa Familiar. Tabelas de composição dos alimentos. 4ª ed. Rio de Janeiro: FIBGE, 1996.
 31. Franco G. Tabela de composição química dos alimentos. 9ª ed. São Paulo/Rio de Janeiro: Livraria Atheneu Editora, 1992.
 32. United States Department of Agriculture In: Centro de Informática em Saúde da Escola Paulista de Medicina (CIS-EPM). Programa de apoio à nutrição. (PAN). São Paulo, 1993.
 33. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO/OMS). Necessidades de vitamina A, hierro, folato y vitamina B12. Roma: FAO/OMS, 1991.
 34. Zar JH. *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice Hall, 1996
 35. Taylor M, Kozlowski BW, Baer MT. Energy and nutrient values from different computerized data bases. *J Am Diet Assoc* 1985 sept; 85:1136-1138.
 36. Flores M, Menchú M, Lara MY, Arroyave GI. Contenido de vitamina A en los alimentos incluidos en la tabla de composición de alimentos para uso en América Latina. Separata de *Arch Latinoam Nutr* 1969 set; XIX(3).
 37. Ong ASH, Tee ES. Natural sources of carotenoids from plants and oils. *Methods in Enzymology* 1992, 213:142-167
 38. Mahan LK, Escott-Stump S. *Vitaminas*. In: Krause. Alimentos, nutrição e dietoterapia. São Paulo: Roca, 1998 p. 77-122
 39. Simpson KL, Tsou SCS. Vitamin A and provitamin A composition of foods. In: Bauernfiel JC. *Vitamin A deficiency and its Control*. New York: Academic Press: 461-478, 1986
 40. World Health Organization (WHO). *Requeriments of Vitamin A, Thiamine, Riboflavine and Niacin*. Geneva: WHO, 1967. (technical report series nº 362)
 41. Murillo, S, Ulate E, Mata, L. Nutricion materna durante el embarazo: estudio de mujeres de una zona rural de Costa Rica. *Bol Oficina Sanit Panam* 1988; 104(4): 345-354.
 42. Roncada MJ. Hipovitaminose A. Níveis séricos de vitamina A e caroteno em populações litorâneas do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Públ* 1972; 6:3-18
 43. Bowering J, Lowenber RL, Morrison MA. Nutritional studies of pregnant women in East Harlen. *Am J Clin Nutr* 1980 sept; 33: 1987-1966.
 44. Flores H, Araújo CR. Liver levels of retinol in unselected necropsy specimens: a prevalence survey of vitamin A deficiency in Recife, Brazil. *Am J Clin Nutr* 1984; 40:146-152.

Recibido:12-09-1998

Aceptado:27-07-2000

New property of vitamin A and β -carotene on human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption

Miguel Layrisse, María Nieves García-Casal, Liseti Solano, María Adela Barón, Franklin Arguello, Daisy Llovera, José Ramírez, Irene Leets and Eleonora Tropper

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas-Centro de Medicina Experimental- Laboratorio de Anemias Nutricionales, Universidad Central de Venezuela and Centro de Investigaciones en Nutrición "Dr. Eleazar Lara Pantin", Universidad de Carabobo, Venezuela

RESUMEN. Nueva propiedad de la vitamina A y β -caroteno sobre la absorción de hierro en humanos: efecto de los fitatos y polifenoles como inhibidores de la absorción de hierro. Ciento setenta y cuatro sujetos fueron estudiados con el fin de conocer la interacción de la vitamina A y el β -caroteno con los inhibidores de la absorción de hierro, utilizando un desayuno basal conteniendo un pan preparado a partir de 100 g de harina precocida de maíz o de harina blanca de trigo obtenidas comercialmente y fortificadas con fumarato ferroso y vitaminas, más 50 g de queso y 10 g de margarina. Este pan fue marcado con ^{59}Fe o ^{55}Fe . Se apreció que el porcentaje de absorción de hierro del desayuno preparado con harina de maíz administrado solo o con diferentes concentraciones de café fue prácticamente el mismo, mientras que la absorción de hierro del desayuno basal preparado con harina de trigo disminuyó de 6% cuando el desayuno es administrado solo, a menos de 2% cuando fue administrado con diferentes concentraciones de café. El único ingrediente presente en la harina de maíz y no en la de trigo, fue la vitamina A. Esta diferencia estimuló a los autores para practicar otros experimentos utilizando harina precocida de maíz o harina blanca de trigo fortificadas solamente con fumarato ferroso. Estos estudios demostraron que la vitamina A inhibe el efecto de los polifenoles y parcialmente el de los fitatos sobre la absorción de hierro. Estudios espectrofotométricos y de HPLC demostraron que ocurren interacciones entre la vitamina A y el hierro. Otros experimentos, que incluyeron 100 voluntarios, fueron practicados para evaluar el efecto de la vitamina A y el β -caroteno sobre la absorción del hierro del maíz, trigo y arroz. La presencia de vitamina A aumentó la absorción de hierro hasta 3 veces en arroz, 2.4 veces en trigo y 1.8 veces en maíz. El β -caroteno aumentó la absorción hasta 3 veces para los tres cereales estudiados. Esta información sugiere que la vitamina A y el β -caroteno forman complejos con el hierro manteniéndolo soluble en el lumen intestinal y evitando el efecto inhibitorio de fitatos y polifenoles sobre la absorción de hierro.

Palabras clave: Hierro, vitamina A, β -caroteno, humanos, fitatos, polifenoles.

SUMMARY. One hundred and seventy four human subjects were studied to find out the interaction of vitamin A or β -carotene with the inhibitors of iron absorption, from a basal breakfast containing bread from either 100 g of precooked corn flour or 100 g of white wheat flour, 50 g of cheese and 10 g of margarine. Bread was labeled with either ^{55}Fe or ^{59}Fe . This bread was made from commercially flours fortified with iron as ferrous fumarate and vitamins. It was noticed that the percentage of iron absorption from the breakfast prepared with precooked corn flour given alone and with different concentrations of coffee was practically the same, while the iron absorption from the breakfast prepared from wheat flour decreased from 6% when the breakfast was given alone, to less than 2% when it was given with different concentrations of coffee. The only ingredient present in precooked corn flour and not in wheat flour was vitamin A. This difference encouraged the authors to perform further experiments using precooked corn and wheat flours fortified only with ferrous fumarate. These studies demonstrated that vitamin A inhibits the effect of the polyphenol and partially inhibits the effect of phytate on iron absorption. HPLC and spectrophotometric studies demonstrated an interaction between vitamin A and iron. Other experiments, which included 100 volunteers, were performed to test the effect of vitamin A and β -carotene on iron absorption from corn, wheat and rice. The presence of vitamin A increased iron absorption up to 3 times for rice, 2.4 times for wheat and 1.8 times for corn. β -carotene increased absorption almost 3 times for the three cereals tested, showing that both compounds were capable of preventing the inhibitory effect of phytates on iron absorption. This information suggest that vitamin A and β -carotene form a complex with iron keeping it soluble in the intestinal lumen and preventing the inhibitory effect of phytates and polyphenols on iron absorption.

Key words: Iron, vitamin A, β -carotene, humans, phytates, polyphenols.

INTRODUCTION

Vitamin A is vital nutrient for cellular differentiation,

vision, bone growth, reproduction and integrity of the immune system (1). It is also essential for erythropoiesis. Deficiency of this vitamin results in anemia in humans and animals that is

reversed only by vitamin A supplementation (2-6).

β -carotene is the most abundant provitamin A in foods. Approximately 10-50% of the total β -carotene consumed is absorbed in the gastrointestinal tract and within the intestinal wall is partially converted into vitamin A. The efficiency of β -carotene absorption decreases as intake increases and conversion to vitamin A is regulated by the vitamin A status of the individual. β -carotene accumulation is not toxic, so it is considered as a safe source of vitamin A (7).

After our laboratory studied the iron absorption from diets consumed by different socioeconomic strata of the Venezuelan population (8), we continued the studies about the interaction of various micronutrient on iron absorption, especially since 1993 when was started a national program of fortification of precooked corn and wheat flours with iron and vitamins (Table 1).

TABLE 1
Enrichment of food vehicles in Venezuela

	Precooked maize flour /kg	White wheat flour/ kg
Vitamin A, IU	9,500	-
Thiamin, mg	3.1	1.5
Riboflavin, mg	2.5	2.0
Niacin, mg	51.06	20.0
Iron* mg	50.0	20.0

Since 1994, 33.3 mg as ferrous fumarate + 16.7 mg as electrolytic iron

In 1994, one year after starting the fortification project in national scale, a survey was performed on 7, 11 and 15 year old school children of both sexes. All subjects lived in Caracas and belonged to the low socioeconomic strata of the population. The comparison between the survey made in 1992, one year before the inception of the fortification program, and the 1994 survey for the same age, sex and socioeconomic strata of the population, made one year after the initiation of fortification, showed that the prevalence of iron deficiency and anemia had been significantly reduced from 37% to 15% and from 19% to 10%, respectively. This was confirmed by the iron reserves measured by the serum ferritin concentration of all subjects tested, which increased from the median of 15 g/L in 1992 to the median of 21 g/L in 1994 (9).

Such results were impressive and provocative since iron fortification usually takes a considerable longer time to produce favorable results. These results motivated the authors to start iron absorption studies to find out an explanation for such particular behavior originating from the fortified flours.

Iron Absorption Studies

The iron absorption studies were performed in one hundred and seventy four human subjects. The methods from iron absorption studies were already published (10,11,13).

Results of the experiments

This article condense the results of the experiments carried out on the effect of vitamin A and β -carotene on iron absorption from a basal breakfast containing 100 g of either precooked corn flour or wheat flour enriched with iron and vitamins + 50 g of cheese and 10 g of margarine.

In the first experiment (Table 2), where the bread was prepared from enriched precooked corn flour, the percentage of iron absorption was practically the same from the breakfast given alone than from the one given with different concentrations of coffee. Iron absorption from the breakfast prepared from wheat flour decreased from 6.8%, when the breakfast was given alone, to 1% or less, when it was given with an infusion containing various concentrations of coffee (10).

Comparing the enrichment patterns of precooked corn flour and wheat flour, the only vitamin present in precooked corn flour and not in wheat flour is vitamin A. This difference encouraged the authors to perform further studies using precooked corn flour fortified only with 5 mg of iron as ferrous fumarate per 100 grams of flour.

Iron absorption from the bread prepared from non-enriched corn flour increased more than twice when 1000 IU of vitamin A were added during the preparation of the dough. This increase in absorption was not affected when coffee or tea infusions were given with the bread that contained vitamin A. These results indicate that the vitamin A prevents the effect of phytates and polyphenols on iron absorption. The effect of vitamin A on phytates was fully demonstrated in Table 3. Iron absorption from the bread prepared with precooked corn flour given alone, or with the addition of either 1000 IU of vitamin A or 304 U of phytase was studied. The iron absorption from precooked corn bread given alone was 3.6%, from the bread with vitamin A was 10.6% and from bread with phytase was 15.4% (11).

The incorporation of 1000 IU of vitamin A to the dough prepared with non-enriched wheat flour is ineffective because 50% of the vitamin A is denatured by the effect of yeast in the dough and after baking was further reduced to about 100 IU. Dissolving 1000 IU of vitamin A in water and drinking it slowly while eating the bread prepared from non-enriched wheat flour, can compensate the losses. Also by incorporating 2000 IU of vitamin A in the dough instead of 1000 IU produced the same effect (10,13).

HPLC and spectrophotometric studies

In an attempt to find out if there is a direct interaction between iron compounds and vitamin A in food during the digestive process, spectrophotometric and HPLC studies were performed. Changes in absorbance or elution profiles provide evidence of the formation of vitamin A-iron complexes (Figure 1). When 0.01 M solutions of vitamin A and FeCl_3 , are combined and passed through a C-18 column in the HPLC

TABLE 2
Iron absorption from a basal breakfast containing either precooked maize bread or wheat bread prepared from commercially available fortified flour and several concentrations of coffee as a beverage

Subjects and sex	Hb g/dL	Serum transferrin saturation %	Serum ferritin concent. ug/L	Iron absorp tom (%)			
				A Basal breakfast given alone	B Basal breakfast + American coffee (2g)	C Basal breakfast + espresso coffee (4g)	D Basal breakfast + Capuchino coffee (4g)
1) 4M 3F Mean	11.9	20	17	5.1	7.7	8.2	7.8
SEM	0.2	0.5	1	1.4	1.4	1.4	1.3
Statistics: A vs B- p>.05; A vs C- p>.0.5; A vs D- >.05							
2) 1M 9F Mean	14.3	27	26	4.4	5.3	4.6	
SEM	0.4	1	1	1.3	1.3	1.5	
Statistics: A vs B- p>.05; A vs C- p>.05; A vs E- p>.05							
Average: Mean	13.3	24	22	4.7	6.1	5.8	
1 + 2							
SEM	0.4	2	1	1.3	1.5	1.5	
BASAL BREAKFAST WITH WHITE WHEAT BREAD							
2M 8F Mean	12.9	29	28	6.8	1.2	0.4	
SEM	0.8	1	2	1.2	1.4	1.4	

Statistics: A vs B- p<0.05; A vs C- p<0.05

TABLE 3
Effect of phytase and vitamin A on iron absorption from basal breakfast containing bread prepared from precooked corn flour enriched with 5 mg iron as ferrous fumaratet, 50 g cheese + 10 g margarine

Number and sex	Hb g/dL	Transferrin saturation %	Serum ferritin concent. ug/L	Iron absorption (%)		
				A Basal breakfast alone	B Basal breakfast + 1000 IU vitamin A	C Basal breakfast + 304 U Phytase
4M 9F Mean	12.3	26	19	3.6	10.6	15.4
SE	0.4	2	1	1.1	1.1	1.1

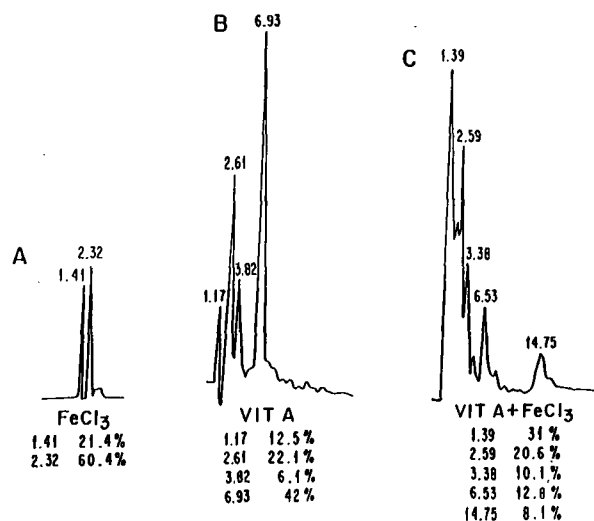
Statistics: A vs B p< 0.05; A vs C p<0.05; B vs C p>0.05

system, there are important changes in elution profiles. The peak that elutes at 6.93 min, and corresponds to vitamin A, is reduced by almost 30% when compared to the mixture of

vitamin A FeCl₃. Likewise, there is a new peak at 14.75 min not seen when FeCl₃ or vitamin A are injected separately.

FIGURE 1

Elution profile of FeCl_3 , vitamin A and FeCl_3 + vitamin A solutions in HPLC. Left column of each panel represents time in minutes, and second column represents the proportion of each peak



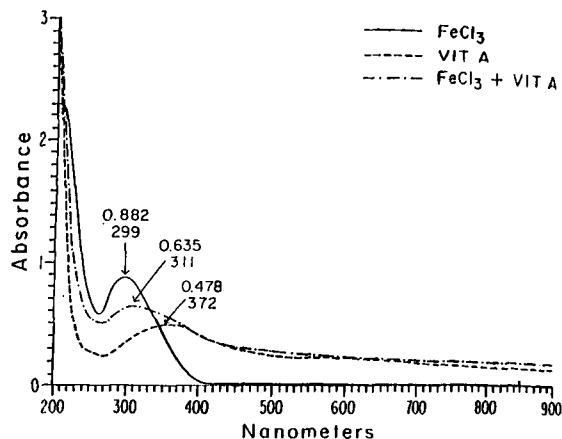
Regarding spectrophotometric measurements, there were changes in absorbance when we measure FeCl_3 and vitamin A as compared to combinations of these two solutions (Figure 2). For example, FeCl_3 has a maximum absorbance at 299 nm and vitamin A at 372 nm; when both solutions are combined the new maximum is at 311 nm. The dialyzable iron from food according to the method of Miller did not produce convincing results (12). We are currently performing iron uptake studies using the Caco-2 cell system trying to elucidate the mechanism responsible for the increase in iron absorption by vitamin A and β -carotene. The preliminary uptake studies using the Caco-cell system have produced promising results.

Other group of experiments were performed administering basal breakfasts made from either rice, corn or wheat and enriched with 1000, 2000 and 4000 IU of vitamin A. The results show that there is a two fold increase in iron absorption in the test with 1000 IU compared with the breakfast given alone, and increases in vitamin A doses from 2000 to 4000 IU, did not produce significant further increases in absorption from the three cereals. In the case of wheat breakfast with 1000 IU of vitamin A, this vitamin was dissolved in water and drinking slowly while eating the bread (13) (Table 4).

β -carotene increases iron absorption from corn, wheat and rice compared to the breakfast given alone. However, increases in the dose from 1000 to 2000 IU β -carotene/100 g cereal did not produce significant further increases in iron absorption. The effect of polyphenol on iron absorption, in presence of β -carotene was also evaluated. It can be noticed that iron absorption is not modified by coffee when β -carotene is added (Table 5).

FIGURE 2

Spectrophotometric measurements of absorbance for FeCl_3 , vitamin A and FeCl_3 + vitamin A solutions



Iron solubility with pH changes from 2 to 6, in presence of vitamin A was tested using different iron salts. There was a 75% decrease in iron solubility from ferrous fumarate when pH was raised from 2 to 6. When vitamin A was added to fumarate at pH 2 and then the pH raised to 6, iron solubility increased as a function of vitamin A concentration reaching a 78% of iron in solution when 3000 IU of vitamin A was added: Ferrous sulfate showed similar behavior. For EDTA and Ferrocenel^R (iron-aminoacid chelate), it was not possible to observe an effect of vitamin A on iron solubility because iron was 100% soluble at pH 6 without any vitamin addition.

We performed the same solubility test to evaluate the effect of β -carotene with pH changes. Either for ferrous fumarate or for ferrous sulfate virtually 100% of iron remained soluble at pH 6, when 3000 IU of β -carotene was added. With no β -carotene addition, only 26% of iron from ferrous fumarate and 36% from ferrous sulfate remained in solution when pH was raised to 6.

FINAL COMMENTS

Results from solubility experiments as well as human absorption studies show an important role for vitamin A and β -carotene in improving iron absorption, specially from foods with a high content in inhibitors, which are the staple foods of many countries worldwide.

This unexpected behavior of vitamin A and β -carotene in preventing the inhibition of iron absorption by phytates and polyphenols requires further studies to find out the mechanism for this peculiar reaction. The spectrophotometric results, elution patterns from HPLC and solubility of iron with vitamin A at pH 6, suggest that vitamin A binds iron liberated during the digestive process and forms a complex that acts as chelating agent preventing the inhibitory effect of phytates and polyphenols on non-heme iron absorption (10,11,13). It also

TABLE 4
Effect of increasing doses of vitamin A on iron absorption from rice, maize and wheat

Subjects and sex	Hb g/dL	Serum transferrin saturation %	Serum ferritin concent. µg/L	A Food given alone	Iron absorption (%)		
					B Food+ 1000 IU vitamin A	C Food+ 2000 IU vitamin A	D Food+ 4000 IU vitamin A
1) 100 g polished rice							
6M 11F Mean	12.6	22.7	28.5	3.8	8.4	7.5	11.7
SEM	0.4	2.3	1.3	1.1	1.1	1.2	1.2
Statistics**: A vs B p<0.05; A vs C p<0.05; A vs D p<0.05; B vs C p>0.05; B vs D p>0.05							
2) Basal Breakfast: 100 g precooked maize flour + 50 g cheese + 10 g margarine							
6M 11F Mean	13.5	27.1	28.1	4.6	9.8	13.9	11.8
SEM	0.5	2.2	1.3	1.2	1.2	1.1	1.1
Statistics**: A vs B p<0.05; A vs C p<0.05; A vs D p<0.05; B vs C p>0.05; B vs D p>0.05							
3) Basal Breakfast: 100 g white wheat flour + 50 g cheese + 10 g margarine							
3M 17F Mean	13.0	29.0	31.5	4.2	7.4*	7.1	7.5
SEM	0.2	1.5	1.2	1.2	1.1	1.1	1.1
Statistics**: A vs B p<0.05; A vs C p<0.05; A vs D p<0.05; B vs C p>0.05; B vs D p>0.05							

* Vitamin A was administered as a beverage while eating the bread

** ANOVA with Bonferroni as a post-test

TABLE 5
Iron absorption from meals containing rice, maize or wheat given alone or administered with vitamin A or β-carotene

Subjects and sex	Hb g/dL	Serum transferrin saturation %	Serum ferritin concent. µg/L	A Basal breakfast give alone	Iron absorption (%)		
					B Basal breakfast + 2000 IU vitamin A	C Basal breakfast + 1000 IU β-carotene.	D Basal breakfast + 2000 IU β-carotene. + 8 g coffee
1) 100 g polished rice							
3M 8F Mean	12.9	28	21	1.4	4.2	5.5*	10.1
SEM	1.1	2	1	1.2	1.2	1.2	1.1
Statistics**: A vs B p<0.001; A vs C p<0.001; A vs D p<0.001; B vs C p>0.05; B vs D p<0.001; C vs D p<0.05							
2) Basal Breakfast: 100 g precooked maize flour + 50 g cheese + 10 g margarine							
4M 14F8 Mean	13.0	30	24	3.0	6.5	8.4	6.3
SEM	1.1	2	1	1.1	1.2	1.1	1.2
Statistics**: A vs B p<0.001; A vs C p<0.001; A vs D p<0.001; B vs C p>0.05; B vs D p>0.05; C vs D p>0.05							
3) Basal Breakfast: 100 g white wheat flour + 50 g cheese + 10 g margarine							
3M 16F Mean	13.2	25	18	3.4	5.5	8.3	8.4
SEM	1.1	2	1	1.1	1.1	1.1	1.1
Statistics**: A vs B p<0.05; A vs C p<0.001; A vs D p<0.001; B vs C p>0.05; B vs D p>0.05; C vs D p>0.05							

* Coffee infusion was administered in test C for the rice meal and in test D for the other two meals.

** ANOVA with Bonferroni as a post-test

supported the dramatic reduction of the prevalence of iron deficiency after one year of iron fortification program in Venezuelan population, in which one food vehicle, precooked corn flour, was fortified with vitamin A (9).

Since iron and vitamin A deficiencies are the two main deficiencies in many developing populations, it is recommended that both micronutrients should be used in fortification programs.

This observation agrees with the studies that show that the chemical compounds containing double bonds are capable of reacting with iron (14). This hypothesis also agrees with the results of Hodges et al. (2), who demonstrated interaction between vitamin A and iron metabolism. The dramatic reduction of the prevalence of iron deficiency shown in a recent Venezuelan survey is probably due to the effect of vitamin A preventing phytate inhibition, which is present in fortified precooked maize flour (9).

The poor socioeconomic population living in Asia, Africa, and Latin America have low iron bioavailability from their diets due to the high consumption of cereals, legumes, and tubers. The fortification with vitamin A not only prevents this vitamin deficiency, but also potentiates the iron fortification.

REFERENCES

1. Olson J. Vitamin A. In Handbook of Vitamins. Nutrition, Biochemical and Clinical Aspects 1984 (L., Ed), p. 28, Marcel Dekker, New York, NY USA.
2. Hodges R, Sauberlich H, Ganham J, et al Hematopoietic studies in vitamin A deficiency. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: 876-885.
3. Mejía LA, Hodges E. and Rucker R.B. Role of Vitamin A in the absorption, retention and distribution of iron in the rat. *J. Nutr* 1979;109:129-137.
4. Mejía LA. and Arroyave G. The effect of vitamin A fortification of sugar on iron metabolism in preschool children in Guatemala. *Am J Clin Nutr.* 1982;36: 87-93.
5. Mejía LA La deficiencia de la vitamina A como factor de anemia nutricional. En: *Vitaminas, Agentes Nutritivos y Terapéuticos* (C. Rozo and M. Mamome, eds.), p.65-74, Ediciones Doyoma SA. Barcelona, España, 1986.
6. Mejía LA and Chew F. Hematological effect of supplementing anemia children with vitamin A alone and in combination with iron. *Am J Clin Nutr* 1988;48: 595-600.
7. Wang LD. Absorption and metabolism of β -carotene. *J Am Coll Nutr* 1994;13:314-325.
8. Taylor P, Martínez-Torres C, Méndez-Castellano H, et al. Iron bioavailability from diets consumed by different socioeconomic strata of the Venezuelan population. *J of Nutr.* 1995;125:1860-1868.
9. Layrisse M, Chávez JF, Méndez-Castellano H, et al Early response to the impact of iron fortification in the Venezuelan population. *Am J Clin Nutr* 1996;64:903-907.
10. Layrisse M, García-Casal M.N, Solano L, et al. The role of vitamin A on the inhibitors of non heme iron absorption. Preliminary Results. *J Nutr Biochem* 1997;8:61-67.
11. Layrisse M, García-Casal MN, Solano L. Vitamin A reduces the inhibition of iron absorption by phytates and polyphenols. *Food & Nutr Bull* 1998;19:3-5.
12. Miller D, Schrickler B, Rasmussen R, Van Campen D. An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *Am. J. Clin. Nutr* 1981;34:2248-2256.
13. García-Casal M.N., Layrisse M, Solano L, et al. Vitamin A and β -carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. *J Nutr* 1998;28:646-650.
14. Elschenbroch C and Salzer A. Donor/acceptor ligands. In *Organometallics. A Concise Introduction*, p252-291, VCH Publishers 1986.

Recibido:17-08-1999

Aceptado:17-01-2000

Modificaciones de los lípidos séricos de ratas suplementadas con cobre por vía oral

Oscar M. Alarcón-Corredor, Elizabeth Carnevalí de Tatá, José Reinos-Füller, Yaritza Contreras,
María Ramírez de Fernández y Claudia Yáñez-Domínguez

Facultad de Medicina y Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela

RESUMEN. Los trastornos en el metabolismo de los lípidos durante la carencia de cobre en las ratas son muy conocidos. La deficiencia de Cu se asocia con la retención espontánea de hierro hepático. Estudios previos han informado que la hipercolesterolemia y la hipertrigliceridemia están asociadas con concentraciones hepáticas elevadas de hierro en ratas carentes en Cu. Existe una relación directa entre la magnitud de los lípidos en la sangre y la concentración de hierro hepático. Basados en estos datos, se ha sugerido que el hierro es el responsable de la hiperlipemia de la carencia de Cu. En este estudio se determinó el efecto de dosis crecientes de Cu (10, 20 y 50 ppm) en la dieta, sobre el contenido sérico de lípidos totales, colesterol total, triglicéridos (triacylglicerols), fosfolípidos y ácidos grasos no esterificados (AGNE) y sobre el contenido hepático de Fe y Zn en ratas normales. Los resultados se compararon con los de ratas normales que recibieron una dieta equilibrada que contiene 0,6 y 6 ppm de Cu, respectivamente. Los resultados muestran que el suplemento de Cu disminuyó el nivel sérico de colesterol y de triglicéridos, aumentó el nivel de fosfolípidos y de AGNE y concomitantemente disminuyó las concentraciones hepáticas de Fe y Zn. Hubo una correlación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre triglicéridos y Fe hepático ($r = 0,917$; $R^2 = 64,03\%$), colesterol y Zn hepático ($r = 0,872$; $R^2 = 76,07\%$), colesterol y Fe hepático ($r = 0,995$; $R^2 = 99,10\%$), Fe hepático y Cu hepático ($r = -0,612$), Fe y Zn en hígado ($r = 0,837$), Cu y Zn en hígado ($r = -0,612$), y triglicéridos y Zn hepático ($r = 0,967$). El mecanismo (s) por el cual el Fe y Zn determinan estos cambios no se conoce; ninguna de las enzimas que participan en el metabolismo y en la biosíntesis del colesterol y de los triglicéridos requieren de Fe y/o de Zn. El aumento de los AGNE probablemente se debe a los cambios en el proceso de lipólisis y re-esterificación de los ácidos grasos en la sangre. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales para esclarecer los mecanismos precisos de estas interrelaciones.

Palabras clave: Cobre, metabolismo de los lípidos, colesterol sérico, triglicéridos, ácidos grasos no esterificados, hierro hepático, cinc hepático.

INTRODUCCION

El cobre (Cu) como parte integrante de numerosas cuproenzimas y cuproproteínas se considera un micronutriente esencial en diversos procesos fisiológicos y metabólicos que comprometen, entre otros, el desarrollo y el mantenimiento de

SUMMARY. Changes in serum lipids in rats treated with copper. Disturbances in lipid metabolism during copper deficiency in rats are well recognized. Copper deficiency is associated with the spontaneous retention of hepatic iron. Previous studies have reported that hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia are associated with elevated hepatic iron concentrations in copper deficient rats. There was a direct relationship between the magnitude of blood lipids and the concentration of hepatic iron. Based on these data, it has been hypothesized that iron was responsible for the development of lipemia of copper deficiency. In this study was determined the effect of increasing doses of Cu (10, 20 and 50 ppm) in the diet, on the serum total lipids, total cholesterol, triglycerides (triacylglycerols), phospholipids, non-esterified fatty acids (NEFA) and liver iron and zinc concentrations in normal rats. The results were compared with normal rats that received a balanced diet containing 0,6 and 6 ppm of Cu, respectively. The results show that Cu-supplement diminished the cholesterol and triglyceride serum levels, increased the level of phospholipids, NEFA and concomitantly decreased the hepatic concentrations of Fe and Zn. There was a statistically significant ($p < 0.05$) simple correlation between triglycerides and liver Fe ($r = 0,917$; $R^2 = 64,03\%$), cholesterol and liver Zn ($r = 0,872$; $R^2 = 76,07\%$), cholesterol and liver Fe ($r = 0,995$; $R^2 = 99,10\%$), liver Fe and liver Cu ($r = -0,612$), liver Fe and liver Zn ($r = 0,837$), liver Cu and liver Zn ($r = -0,612$), and serum triglycerides and liver Zn ($r = 0,967$). The mechanism (s) by which Fe and Zn determine these changes is not known; none of the enzymes that act in cholesterol and triglyceride metabolism and biosynthesis require Fe and/or Zn. The increase of NEFA is due to changes in the process of lipolysis and re-esterification of the fatty acids in blood. However, additional studies are needed for the precise mechanisms of this interrelationships to be clarified.

Kew words: Copper, lipid metabolism, serum cholesterol, triglycerides, phospholipids, non-esterified fatty acids, liver iron, liver zinc.

la integridad cardiovascular y ósea, la estructura y función del sistema nervioso central y la función eritropoyética, conjuntamente con el metabolismo del hierro (1).

La importancia bioquímica del cobre se conoce desde las investigaciones nutricionales realizadas en 1928. Sin embargo, a pesar de ciertos hallazgos en la década de los años 30, su

carencia en los humanos sólo se consideró de interés práctico a partir de los estudios realizados por Cordano y cols. (2), en lactantes y en niños peruanos desnutridos. La carencia de cobre no se consideró en el pasado un problema, debido a su amplia distribución en los renglones alimenticios que entran a formar parte de la mayoría de las dietas, en todo el mundo. Por otra parte, sus requerimientos diarios estimados son muy bajos. Sin embargo, en la actualidad se considera que en el humano puede presentarse, y de hecho sucede, la carencia de cobre (3). Aunque, la importancia y la intensidad del problema, al igual que la naturaleza y la frecuencia de las carencias moderadas, es algo que se debe aclarar.

La deficiencia de cobre es fundamentalmente una patología de los infantes; sin embargo, también se han descrito casos en niños y adultos. Esta puede ser el resultado de un ingreso alimentario inadecuado, de un proceso de mala-absorción, de requerimientos incrementados o de un incremento de las pérdidas corporales (4). Sus manifestaciones clínicas más constantes son anemia, neutropenia y lesiones óseas (5).

En los animales experimentales y en el hombre la carencia de cobre determina trastornos del metabolismo de los lípidos y la hiperlipemia se acompaña de modificaciones en el perfil lipoproteico (6-9). En la rata, la hipercolesterolemia se ha convertido en un síntoma clásico de la carencia nutricional de este elemento traza esencial (10).

En sujetos alimentados con una dieta experimental baja en cobre se ha observado un incremento en la concentración sérica del colesterol total y del colesterol:LDL y una concentración reducida del colesterol:HDL (11,12). Todas estas alteraciones son factores de riesgo muy bien conocidos para el desarrollo de la aterosclerosis (13,14). Sin embargo, otros experimentos no han reproducido estos cambios en el metabolismo del colesterol y de la glucosa (15).

Los trabajos de Williams y cols. (16) indican que la deficiencia de cobre está asociada con la retención espontánea de hierro hepático. Recientemente se ha señalado, en ratas, que la hipercolesterolemia y la hipertrigliceridemia están asociadas con concentraciones hepáticas elevadas de hierro (17), demostrándose una relación directa entre la magnitud de los lípidos de la sangre y la concentración del hierro hepático. Basado en estos datos, se ha sugerido que el hierro es el responsable para el desarrollo de la lipemia en la deficiencia de cobre. Los trabajos recientes de Fields y Lewis (18) sugieren que los nutrientes que tienen la capacidad de incrementar el hierro hepático tienen el potencial para incrementar el colesterol plasmático.

En base a estos hallazgos previos el motivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de las dosis crecientes de cobre (10, 20 y 50 ppm Cu/kg de dieta) por vía oral sobre el contenido hepático de hierro y de cinc , y sobre el contenido sérico de lípidos totales, de colesterol total, de triglicéridos, de fosfolípidos y de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en ratas macho blancas (Grupos experimentales) y comparar con lo que sucede en ratas alimentadas con dietas balanceadas que

contienen 0,6 y 6 ppm de Cu/kg, respectivamente (Grupos testigos).

MATERIALES Y METODOS

Animales y dieta

Se utilizaron 100 ratas blancas macho Wistar, de edad y peso uniforme (160-170 g) mantenidas en jaulas individuales de acero inoxidable, en el ambiente del Laboratorio, durante dos semanas, para las adaptaciones correspondientes. Se controló la temperatura y la humedad del cuarto a 23-25°C y 55-67%, respectivamente. Todas las ratas se alimentaron con una dieta basal de acuerdo con las recomendaciones del American Institute of Nutrition (19) formulada en nuestro Laboratorio para omitir el carbonato de cobre. La dieta, que no contiene colesterol, está constituida por una mezcla de sacarosa (62% por peso), clara de huevo (20%) y aceite de maíz (10%) con un nivel deficiente de cobre (0,6 ppm). Además la dieta contiene todos los nutrientes considerados esenciales para la rata, incluyendo 2 mg de biotina; el contenido de cobre de la misma se determinó después de la destrucción de la materia orgánica. Las ratas se alimentaron *ad libitum* y se les permitió el libre acceso al agua bidestilada y desionizada. La concentración de Cu en el agua desionizada estaba por debajo de los límites de detección del elemento (0,002 µg/mL) por el espectrofotómetro de absorción atómica empleado.

Diseño experimental

Al terminar el período de adaptación, las ratas con un peso promedio de 182 ± 9 g se distribuyeron al azar en 5 grupos, con 20 animales en cada uno, sin que hubiese diferencias significativas entre los promedios de los pesos de los mismos: 1) grupo deficiente en cobre (CuD) alimentado *ad libitum* con 0,6 ppm de Cu; 2) un grupo control alimentado *ad libitum* con 6 ppm de Cu/kg de dieta (CuA); 3) un grupo alimentado a la par, al cual se le suministró la dieta basal suplementada con 10 ppm de Cu (Cu10); 4) un grupo alimentado a la par, al cual se le suministró la dieta basal suplementada con 20 ppm de Cu (Cu20) y 5) un grupo alimentado a la par, al cual se le suministró la dieta basal suplementada con 50 ppm de Cu (Cu50) (Grupos experimentales). Las ratas de estos grupos fueron alimentadas diariamente con la misma cantidad de alimento consumida por las ratas control (CuA). El carbonato de cobre (Merck) se añadió a la dieta basal (0,6 ppm) para proporcionar las concentraciones de 6, 10, 20 y 50 ppm/kg de dieta.

Recolección de las muestras

Al comienzo de los experimentos, luego de un periodo de ayuno de 8 horas, las muestras de sangre (3 mL) se extrajeron por vía del seno retroorbitario bajo anestesia con éter dietílico (Merck) y tubos de microhematocrito. 1.5 mL de sangre se recolectaron en tubos de vidrio sin anticoagulante, el suero se separó mediante centrifugación a 1,000 g por 15 min a tempe-

ratura ambiente y se analizó antes de las 48 horas. La sangre restante (1.5 mL) se recolectó en tubos que contenían heparina y el plasma se separó por centrifugación.

Al finalizar el periodo de 6 semanas, una vez que las muestras de sangre se obtuvieron, los animales se sacrificaron y el hígado se removió rápidamente, se le eliminó la grasa y el tejido conectivo y se pesó. El cobre, de la dieta y del hígado, y el cinc y el hierro, del tejido hepático, fueron extraídos de las muestras de acuerdo al método descrito por Burguera y cols. (20). Se analizaron muestras por duplicado utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un corrector de ruido de doble haz y un microprocesador. Las concentraciones séricas de colesterol y de aciltriglicéridos (triglicéridos) se determinaron mediante métodos enzimáticos descritos previamente (21,22), mientras que los lípidos totales fueron determinados por el método de Aiquel (23). Los fosfolípidos se estimaron de acuerdo al método de O'Brien y cols. (24) y los niveles plasmáticos de los ácidos grasos no esterificados (AGNE) con la técnica descrita por Ióvine y cols. (25).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis de regresión lineal y ANOVA de una vía. El test de Duncan de rango múltiple se utilizó para comparar los promedios de los 5 grupos (CuD, CuA, Cu10, Cu20 y Cu50). Para el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico Statgrafic 2.0 para Win. Todos los datos se expresaron como medias \pm DE. La diferencia significativa entre los grupos al inicio y al final del experimento se calculó mediante la t de Student. El nivel de significación estadística se determinó a $p < 0,05$.

RESULTADOS

Los resultados de comparar los valores de los lípidos séricos al inicio (0 días) y al final (6 semanas) del periodo experimental se muestran en las Tablas 1 a 5. La Tabla 1 muestra los niveles totales de lípidos séricos de ratas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre. Se observa que en las ratas suplementadas con Cu, la lipemia se incrementa significativamente ($p < 0,05$) al finalizar las 6 semanas. El análisis estadístico (t de Student) demostró variaciones significativas ($p < 0,05$) al comparar los valores de los mismos al inicio (0 días) con los de las 6 semanas; el ANOVA ($F = 980$; $GL = 1/3$; $p > 0,05$) demostró diferencias estadísticamente significativas al comparar los promedios de la lipemia de los diferentes grupos de animales al finalizar el periodo experimental.

Los resultados obtenidos del modelo de regresión simple ($y = a + b \cdot X$, donde $X =$ dosis de cobre) para describir la relación entre los valores de la lipemia al final del experimento (6 semanas) y las dosis suministradas de cobre con la dieta se indican a continuación: $y = 245,5555 + 1,31899 \cdot \text{dosis}$; $r = 0,954$ y $R^2 = 90,94\%$. El valor del estadístico R^2 indica que el

modelo como se ajustó explica el 90,94% de la variabilidad de los valores de la lipemia, al cabo de 6 semanas de tratamiento. El coeficiente de correlación (r) igual a 0,954 indica que existe una relación relativamente fuerte y directamente proporcional entre las variables; es decir, que el incremento en los niveles totales de los lípidos séricos a las 6 semanas de tratamiento es directamente proporcional a las dosis de cobre.

TABLA 1

Niveles totales de lípidos séricos de ratas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre

Dieta	Lípidos totales (mg/dL)		p^a
	0 días	6 semanas	
CuD	233 \pm 19	250 \pm 18	ns
CuA	235 \pm 27	240 \pm 19	ns
Cu10	221 \pm 14	266 \pm 22	<0,05
Cu20	225 \pm 23	276 \pm 14	<0,05
Cu50	230 \pm 18	310 \pm 25	<0,05
	ns	$p < 0,05^b$	

Los resultados se expresan en medias \pm DE.

^a $p < 0,05$ estadísticamente significativo al comparar 0 días y 6 semanas. ^b $p < 0,05$ estadísticamente significativo al comparar los promedios de los diferentes grupos. ns= no significativo. CuD= Dieta deficiente en cobre (0,6 ppm). CuA= Dieta adecuada en cobre (6 ppm); Cu10= Dieta suplementada con 10 ppm de cobre/kg. Cu20= Dieta suplementada con 20 ppm de cobre. Cu50= Dieta suplementada con 50 ppm de cobre.

En la Tabla 2 se muestran los niveles de triglicéridos séricos de ratas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre. El análisis estadístico (t de Student) mostró variaciones significativas en los valores de estos compuestos (0 días y 6 semanas) al comparar la dieta deficiente en cobre con las dietas suplementadas con 20 y 50 ppm de Cu, respectivamente. En este caso se observa que el suplemento de cobre determina una disminución significativa, ($p < 0,05$) en los niveles de triglicéridos séricos al finalizar el periodo experimental. Al igual que lo que sucede con la lipemia, el ANOVA ($F = 995$; $GL = 1/3$; $p > 0,05$) demostró diferencias estadísticamente significativas al comparar los promedios de los triglicéridos de los diferentes grupos de animales al finalizar el periodo experimental.

La ecuación del modelo de regresión lineal para los triglicéridos fue $y = 77,9304 - 0,550256 \cdot \text{dosis}$; el valor $r = -0,774$ y el valor del estadístico $R^2 = 59,86\%$. El valor del estadístico R^2 indica que el modelo explica el 59,86% de la variabilidad de los valores de los triglicéridos al cabo de 6 semanas de tratamiento. El coeficiente de correlación (r) igual a -0,774 indica que existe una relación moderadamente fuerte e inversamente proporcional entre las variables; por esta razón, la disminución en los niveles séricos de los triglicéridos a las 6 semanas de tratamiento es directamente proporcional a las dosis de cobre administradas.

TABLA 2
Niveles de triglicéridos séricos de ratas
suplementadas con diferentes concentraciones de cobre

Dieta	Triglicéridos (mg/dL)		p ^a
	0 días	6 semanas	
CuD	72±8	90±8	<0,05
CuA	71±7	74±9	ns
Cu10	71±6	63±9	ns
Cu20	72±4	60±8	<0,05
Cu50	73±8	55±9	<0,05
	ns	p<0,05 ^b	

Los resultados se expresan en medias±DE.

^ap<0,05 estadísticamente significativo al comparar 0 días y 6 semanas. ^bp<0,05 estadísticamente significativo al comparar los promedios de los diferentes grupos. Resto de la leyenda igual a la Tabla 1.

En la Tabla 3 se observa que los niveles de colesterol sérico de ratas sometidas a una dieta deficiente de cobre están incrementados (p<0,05) en comparación con las ratas que reciben la dieta que contiene una cantidad adecuada del micronutriente; las dietas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre disminuyen significativamente (p<0,05) la colesterolemia, al finalizar el periodo de 6 semanas. La t de Student mostró variaciones significativas en los valores de estos compuestos (0 días y 6 semanas) al comparar la dieta deficiente en cobre con las dietas suplementadas con 10, 20 y 50 ppm de Cu, respectivamente.

TABLA 3
Niveles de colesterol sérico de ratas suplementadas
con diferentes concentraciones de cobre

Dieta	Colesterol (mg/dL)		p ^a
	0 días	6 semanas	
CuD	41±9	114±18	<0,05
CuA	41±7	42±6	ns
Cu10	41±8	30±8	<0,05
Cu20	42±9	27±7	<0,05
Cu50	43±9	21±6	<0,05
	ns	p<0,05 ^b	

Los resultados se expresan en medias±DE.

^ap<0,05 estadísticamente significativo al comparar 0 días y 6 semanas. ^bp<0,05 estadísticamente significativo al comparar los promedios de los diferentes grupos. Resto de la leyenda igual a la Tabla 1.

La ecuación del modelo de regresión lineal para el colesterol fue $y = 67,5698 - 1,19918 * \text{dosis}$; el valor $r = -0,613$ y el valor del $R^2 = 37,58\%$. El valor del estadístico R^2 indica que el modelo explica el 37,58% de la variabilidad de los valores del colesterol al cabo de 6 semanas de tratamiento. El coeficiente de correlación (r) igual a -0,613, indica que existe una relación moderadamente fuerte e inversamente proporcional entre las

variables; en consecuencia, la disminución en los niveles séricos del colesterol a las 6 semanas de tratamiento es directamente proporcional a las dosis de cobre administradas.

La Tabla 4 muestra los niveles de fosfolípidos séricos de ratas con una dieta deficiente en cobre, una dieta con un nivel adecuado de Cu y con dietas suplementadas con diferentes concentraciones del micronutriente. El análisis estadístico (t de Student) mostró variaciones significativas en los valores de estos compuestos (0 días y 6 semanas) al comparar la dieta deficiente en cobre con las dietas suplementadas con 10, 20 y 50 ppm de Cu, respectivamente. En este caso se observa que el suplemento de cobre determina un incremento significativo (p<0,05) en los niveles de fosfolípidos séricos al finalizar el periodo experimental. Al igual que lo que sucede con las otras fracciones lipídicas, el ANOVA (F= 873; GL= 1/3; p>0,05) demostró diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores al inicio y al final del periodo experimental.

TABLA 4
Niveles de fosfolípidos séricos en ratas suplementadas
con diferentes concentraciones de cobre

Dieta	Fosfolípidos (mg/dL)		p ^a
	0 días	6 semanas	
CuD	105±20	95±9	ns
CuA	104±23	106±18	ns
Cu10	195±22	156±20	<0,05
Cu20	104±21	160±13	<0,05
Cu50	103±20	165±23	<0,05
	ns	p<0,05 ^b	

Los resultados se expresan en medias±DE.

^ap<0,05 estadísticamente significativo al comparar 0 días y 6 semanas. ^bp<0,05 estadísticamente significativo al comparar los promedios de los diferentes grupos. Resto de la leyenda igual a la Tabla 1.

La ecuación del modelo de regresión lineal para los fosfolípidos fue $y = 115,086 + 1,2306 * \text{dosis}$; el valor $r = 0,727$ y el valor del $R^2 = 52,92\%$. El valor del estadístico R^2 indica que el modelo explica el 52,92% de la variabilidad de los valores de los fosfolípidos al cabo de 6 semanas de tratamiento. El coeficiente de correlación (r) igual a 0,727 indica que existe una relación moderadamente fuerte y directamente proporcional entre las variables; en consecuencia, el incremento en los niveles séricos del colesterol a las 6 semanas de tratamiento es directamente proporcional a las dosis de cobre administradas.

Los niveles de ácidos grasos no esterificados (AGNE) séricos de ratas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre se muestran en la Tabla 5. El análisis estadístico (t de Student) mostró variaciones significativas en los valores de estos compuestos (0 días y 6 semanas) al comparar la dieta deficiente en cobre con las dietas suplementadas con 10, 20 y 50 ppm de Cu, respectivamente. En este caso se observa que el suplemento de cobre determina un incremento significativo (p<0,05) en los

niveles de AGNE séricos al finalizar el periodo experimental. Al igual que lo que sucede con la lipemia, el ANOVA ($F= 1010$; $GL= 1/3$; $p>0,05$) demostró diferencias estadísticamente significativas al comparar los promedios de los AGNE de los diferentes grupos de animales al finalizar el periodo experimental.

TABLA 5

Niveles de ácidos grasos no esterificados (AGNE) séricos de ratas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre

Dieta	AGNE (mEq/L)		p ^a
	0 días	6 semanas	
CuD	225±33	180±23	<0,05
CuA	230±30	231±25	ns
Cu10	228±27	762±21	<0,05
Cu20	228±25	780±30	<0,05
Cu50	230±30	812±22	<0,05
	ns	p<0,05 ^b	

Los resultados se expresan en medias±DE.

^ap<0,05 estadísticamente significativo al comparar 0 días y 6 semanas. ^bp<0,05 estadísticamente significativo al comparar los promedios de los diferentes grupos. Resto de la leyenda igual a la Tabla 1.

La ecuación del modelo de regresión lineal para los AGNE fue $y = 356,581 + 11,3406 * \text{dosis}$; $r = 0,698$ y $R^2 = 48,78\%$. El valor del estadístico R^2 indica que el modelo explica el 48,78% de la variabilidad de los valores de los AGNE al cabo de 6 semanas de tratamiento. El coeficiente de correlación (r) igual a 0,698 indica que existe una relación moderadamente fuerte entre las variables; por esta razón, el incremento en los niveles séricos de los AGNE a las 6 semanas de tratamiento es directamente proporcional a las dosis de cobre administradas.

Las modificaciones del contenido de cobre ($y = 2,33717 + 0,312288 * \text{dosis}$; $r = 0,996$; $R^2 = 99,12\%$) y del cinc ($y = 45,5736 - 0,391084 * \text{dosis}$; $r = -0,838$; $R^2 = 70,19\%$) se muestran en las Tablas 6 y 7, respectivamente.

TABLA 6

Contenido de cobre hepático de ratas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre

Dieta	Cobre hepático (µg/g de tejido húmedo) 6 semanas
CuD	2,03±0.30
CuA	4,40±0.40
Cu10	6,30±0.31
Cu20	8,00±0.52
Cu50	10,0±0.81
	p<0,05 ^a

Los resultados se expresan en medias±DE.

^ap<0,05 estadísticamente significativo al comparar los promedios de los diferentes grupos. Resto de la leyenda igual a la Tabla 1.

TABLA 7

Contenido de cinc hepático de ratas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre

Dieta	Cinc hepático (µg/g de tejido húmedo) 6 semanas
CuD	52±8
CuA	43±7
Cu10	38±9
Cu20	30±6
Cu50	26±6
	p<0,05 ^a

Los resultados se expresan en medias±DE.

^ap<0,05 estadísticamente significativo al comparar los promedios de los diferentes grupos. Resto de la leyenda igual a la Tabla 1.

TABLA 8

Contenido de hierro hepático de ratas suplementadas con diferentes concentraciones de cobre

Dieta	Hierro hepático (µg/g de tejido húmedo) 6 semanas
CuD	150±10
CuA	54±3
Cu10	50±2
Cu20	45±4
Cu50	39±3
	p<0,05 ^A

Los resultados se expresan en medias±DE.

^ap<0,05 estadísticamente significativo al comparar los promedios de los diferentes grupos. Resto de la leyenda igual a la Tabla 1.

El análisis de regresión simple demostró una relación estadísticamente significativa ($p<0,05$) entre el contenido de cinc hepático y los lípidos séricos ($r = -0,855$), hierro y cobre hepático ($r = -0,612$), triacilgliceroles (triglicéridos) y concentración de hierro hepático ($r = 0,917$; $R^2 = 84,03\%$), cinc hepático y colesterol sérico ($r = 0,872$), hierro hepático y colesterolemia ($r = 0,995$; $R^2 = 99,09\%$), contenido de hierro y de cinc hepático (0,837), contenido de cobre y de cinc hepático ($r = -0,612$), triacilgliceroles (triglicéridos) y cinc hepático ($r = 0,967$), colesterol sérico y contenido de cobre en hígado ($r = -0,651$).

DISCUSION

En las ratas carentes en cobre encontramos hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, que se corresponde con los hallazgos de otros investigadores (26-29). Por su parte, Milne y Nielsen (30) en mujeres postmenopáusicas sometidas a una dieta que contenía 9 mol (0,57 mg) Cu/día durante 105 días concluyeron que los ingresos bajos en este

micronutriente no inducen los cambios en el colesterol sérico que generalmente se encuentran en los modelos animales deficientes en cobre.

En los animales carentes en cobre también se encontró un incremento significativo ($p < 0,05$) en los niveles de Zn y de Fe, que coincide con los trabajos previos de Williams y cols. (16) de Fields y Lewis (31) y de Mason (32). Recientemente, Fields y Lewis (33) han sugerido que los nutrientes que tienen la capacidad de incrementar el hierro hepático tienen el potencial para incrementar el colesterol plasmático.

El mecanismo responsable para la hipercolesterolemia cuando el hierro hepático está elevado no se entiende totalmente. Ninguna de las enzimas que participan en la biosíntesis del colesterol requiere hierro. Aunque no hay información en la literatura que una al hierro con el colesterol de la sangre, hay estudios que atribuyen la anemia de la deficiencia férrica a la lipogénesis (34-37).

La administración de Cu produce hiperlipidemia, caracterizada por un incremento en los fosfolípidos y en los AGNE séricos. Aiquelel (23) ha señalado que las hiperlipidemias se caracterizan por el aumento de una, de varias o de todas las fracciones lipídicas del plasma, pudiendo acompañarse o no de manifestaciones clínicas (xantomas, xantelasmas, lipemia retinal, etc.). Con las dosis de Cu administradas se debe producir un cambio importante en ciertos lípidos que no se determinaron en este estudio, entre los cuales encontramos las lipoproteínas, la lecitina y otros derivados lipídicos presentes en cantidades menores que serán objeto de estudios futuros.

El hallazgo más característico de la presente investigación es la disminución significativa de los niveles séricos del colesterol y de los triglicéridos en los animales tratados con dosis crecientes de cobre. Estos resultados concuerdan con los de Singh y cols. (38) quienes demostraron que el consumo incrementado de cobre (promedio 5.2 mg/día) se asocia con una disminución significativa en el colesterol sérico (7.2%) y en los triglicéridos (9.1%) en comparación con los niveles iniciales del paciente y con el grupo control. Cada mg de ingreso de cobre alimentario se asocia con una disminución del colesterol sérico total en 3.3 mg y de 2.8 mg para los triglicéridos y están en contradicción con las observaciones previas de Jones y cols (39) y de Medeiros y cols. (40) quienes en dos estudios doble ciego, de dos semanas de duración, evaluaron los efectos de los suplementos de 2 ó 3 mg Cu/día sobre el colesterol sérico total y las fracciones colesterol-lipoproteínas en hombres adultos y concluyeron que los efectos de la suplementación con Cu requieren de una investigación ulterior. Sin embargo, Anke (41) ha señalado que tanto la carencia de cobre como su abundancia puede incrementar el contenido de colesterol del suero sanguíneo.

El mecanismo exacto mediante el cual el suplemento alimentario de cobre reduce el colesterol y los triglicéridos séricos se desconoce. Con 50 ppm de Cu los cambios en los lípidos séricos pueden ser causados indirectamente por la carencia documentada de cinc (Zn) y por la disminución del

contenido hepático de hierro determinadas por las dosis elevadas de Cu que pueden afectar la biodisponibilidad de los mismos. Las interacciones entre estos metales han sido reconocidas en animales y en el hombre. La competencia por los sitios de unión/deposición con las metalotioneínas parece proporcionar la mejor explicación para el proceso (42,43).

Es un hecho conocido que la hipocolesterolemia se produce en cerdos, ratas y humanos por la carencia de Zn (44). En la rata, la carencia de cinc determina un incremento en la excreción hepática de ácidos biliares (45). Una declinación lineal en el colesterol plasmático se encontró en dos hombres durante un periodo de privación de (46). En un estudio previo, Koo y cols (47) en ratas macho adultas, demostraron que la hipocolesterolemia desarrollada en la carencia de cinc se debe a una disminución selectiva en el colesterol-HDL. Este caso, la carencia de Zn en ratas, inclusive a un nivel marginal, produce alteraciones significativas en el nivel y en la composición de las HDL plasmáticas en ratas; estos cambios pueden afectar adversamente el metabolismo y el transporte del colesterol (48).

Los trabajos previos de Fields y Lewis (33), que se corresponden con los de la presente investigación, demuestran la relación inversa entre la colesterolemia y los niveles hepáticos de hierro.

En relación con los fosfolípidos, los trabajos previos de Gallagher y cols. (49) han señalado que el cobre está involucrado en la formación de los ácidos fosfatídicos, componentes muy importantes de los fosfolípidos, y que las lesiones causadas por la desmielinización descritas en las ratas carentes de cobre se deben a una alteración en la síntesis de los fosfolípidos. Cunnane y cols. (50) demostraron que la concentración total de fosfolípidos era menor en hígado y riñón de ratones deficientes en cobre en comparación con ratones control alimentados con una dieta adecuada en el metal. Por consiguiente, nuestros resultados que demuestran un incremento en los niveles séricos de los fosfolípidos séricos sugieren que la administración de cobre estimula la síntesis de estos compuestos. El mecanismo que explica este incremento deberá ser estudiado en investigaciones posteriores.

En relación a los AGNE, nuestros resultados contradicen los de Myres y Bowland (51,52). Sin embargo, niveles séricos elevados de cobre se han asociado con un incremento en el nivel de los ácidos grasos no esterificados plasmáticos en el hombre (53). Este resultado pudiera estar relacionado con una alteración en el balance entre la lipólisis y la reesterificación de los ácidos grasos. Cunnane y cols. (54) encontraron que las ratas carentes en cobre tienen perfiles plasmáticos, hepáticos y cardíacos alterados de ácidos grasos. Observaciones iniciales han demostrado que el Cu alimentario determina un incremento del contenido de los ácidos grasos insaturados de los triglicéridos y de los ácidos grasos libres (AGL) en el tejido adiposo porcino (52). El experimento realizado por Bowland y Myers (52) no proporciona ninguna prueba para un efecto del Cu sobre el nivel de los AGL plasmáticos a pesar de que

la concentración total de estos ácidos es menor en cerdos suplementados con este metal.

En conclusión, este es uno de los primeros trabajos que en nuestro medio examina los efectos de los ingresos elevados de Cu sobre los lípidos séricos. Los resultados obtenidos demuestran que la administración de cobre, a las dosis de 10 a 50 ppm/kg de dieta, disminuye significativamente la concentración hepática de Zn y de Fe, la colesterolemia y la trigliceridemia e incrementa concomitantemente los niveles séricos de fosfolípidos y de AGNE.

Bajo las condiciones experimentales presentadas, los datos muestran que el contenido de hierro y de cinc en el hígado puede jugar un papel importante para determinar la hipercolesterolemia. Debe señalarse que es necesario cierta precaución que garantice la interpretación de estos datos. Sherman (55) no observó las elevaciones en el colesterol del suero por las carencias de cobre y de hierro en las ratas hembra.

El presente estudio es importante ya que una gran parte de nuestra población usa suplementos con hierro y multivitaminas que contienen hierro, y existe el uso extendido de la fortificación con hierro. Los niveles férricos elevados en los depósitos pudiera ser de importancia en la patogénesis de la enfermedad cardíaca coronaria. Recientes estudios epidemiológicos en humanos proporcionan la evidencia de que los depósitos corporales de hierro son un factor de riesgo potencial para el infarto agudo del miocardio (56,57).

REFERENCIAS

- Linder MC, Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr* 1996;63: 797S-811S.
- Cordano A, Baert JM, Graham GG. Copper deficiency in infancy. *Pediatrics* 1964;34: 324-336.
- Heller RM, Kirchner SG, O'Neill JA Jr, Hough AJ Jr, Howard L, Kramer SS, Green HL. Skeletal changes of copper deficiency in infants receiving prolonged total parenteral nutrition. *J Pediatr* 1978;92:947-949.
- Olivares M, Uauy R. Copper as essential nutrient. *Am J Clin Nutr* 1996;63: 791S-785S.
- Shaw JCL. Copper deficiency in term and preterm infants. In: Fomon SJ, Zlotkin S. eds. *Nutritional anemias*. Nestlé Nutrition Workshop Series. Vol 30, New York: Raven Press. 1992;pp. 105-119.
- Allen KGD, Klevay LM. Copper: an antioxidant nutrient for cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol* 1994;5:22-28.
- Rayssiguier Y, Gueux E, Bussiere L, Mazur A. Copper deficiency increases the susceptibility of lipoproteins and tissues to peroxidation in rats. *J Nutr*. 1993;123:1343-1348.
- Nassir F, Mazur A, Serougne C, Gueux E, Rayssiguier Y. Hepatic apolipoprotein B synthesis in copper-deficient rats. *FEBS Lett*. 1993;322: 33-36.
- al-Othman AA, Rosenstein F, Lei-KY. Pool size and concentration of plasma cholesterol are increased and tissue copper levels are reduced during early stages of copper deficiency in rats. *J Nutr* 1994;124: 628-635.
- Medeiros DM. The copper:zinc hypothesis and cardiovascular disease. *Biochem Arch* 1985;1: 67-73.
- Klevay LM, Inman L, Johnson LK, Lawler M, Mahalko JR, Milne DB, Lukaski HC, Bolonchuk W, Sandstead HH. Increased cholesterol in plasma in a young man during experimental copper depletion. *Metabolism* 1984;33: 1112-1118.
- Reiser S, Powell A, Yang CY, Canary JJ. Effect of copper intake on blood cholesterol and its lipoprotein distribution in men. *Nutr Rep Int* 1987;36: 641-649.
- Klevay LM (2000) Dietary copper and risk of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 71: 1213-1214.
- Klevay LM. Cardiovascular disease from copper deficiency—a history. *J Nutr* 2000;130 (2S Suppl):489S-492S.
- Kelley DS, Daudu PA, Taylor PC, Mackey BE, Turlund JR. Effects of low-copper diets on human immune response. *Am J Clin Nutr* 1995;62: 412-416.
- Williams DM, Kennedy FS, Green BG. Hepatic iron accumulation in copper-deficient rats. *Br J Nutr* 1983;50: 653-660.
- Fields M, Lewis CG. Hepatic iron overload may contribute to hypertriglyceridemia and hipercolesterolemia in copper-deficient rats. *Metabolism* 1997;46: 377-381.
- Fields M, Lewis CG. Cholesterol-lowering nature of insaturated fat in rats may be due to its inability to increase hepatic iron. *Metabolismo* 1999;48: 200-204.
- American Institute of Nutrition. Report of the AIN Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 1977;107:1340-1348.
- Burguera JL, Burguera M, Matousek de Abel de La Cruz A, Añez N, Alarcón OM. Microwave-aided micro-dissolution of biological samples prior to flow injection-atomic absorption spectrometry analysis. *At Spectr* 1992;13: 67-71.
- Allain CC, Poon LS, Chan CSG. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974;2: 470-475.
- Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin Chem* 1973;19:476-482.
- Aiquel Aiquel F. *Manual de Análisis Clínicos*. 4a. Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires; 1977;pp. 154-155.
- O'Brien D, Ibbott FA, Rodgerson DD (1968) Determination of plasma inorganic phosphorus, tubular reabsorption of phosphorus, and lipid phosphorus. En: *Laboratory Manual of Pediatric Microbiochemical Techniques*. 4th. Edition. Harper & Row Publishers. New York; pp. 252-256.
- Ióvine E, Selva AA. *El Laboratorio en la Clínica*. Tercera Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires; 1985;pp. 285-286.
- Lei KY. Dietary copper: cholesterol and lipoprotein metabolism. *Annu Rev Nutr* 1991;11: 265-283.
- Lei KY. Plasma cholesterol response in copper deficiency. En: *Role of Copper in Lipid Metabolism*. (Lei, KY & Carr, TP., eds). CRC Press. Boca Raton. Fl.; 1990;pp. 1-23.
- Lei KY. Alterations in plasma lipids, lipoproteins and apolipoprotein concentrations in copper-deficient rats. *J Nutr* 1983;113: 2178-2183.
- Toth E, Remes P. Effect of increased depletion of copper, supplementary cholesterol diet and stress on the cholesterol concentration in wall of rat thoracic aorta. *Acta Physiol Hung* 1994;82: 125-130.

30. Milne DB, Nielsen FH. Effects of a diet low in copper on copper-status indicators in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1996;63: 358-364.
31. Fields M, Lewis CG. Hepatic iron overload may contribute to hypertriglyceridemia and hipercolesterolemia in copper-deficient rats. *Metabolism* 1997;46: 377-381.
32. Mason KE. A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. *J Nutr* 1979;109:1979-2066.
33. Fields M, Lewis CG. Cholesterol-lowering nature of insaturated fat in rats may be due to its inability to increase hepatic iron. *Metabolismo* 1999;48: 200-204.
34. Amine EK, Desilels EJ, Hegsted DM: Effect of dietary fats on lipogenesis in iron deficiency anemic chicks and rats. *J Nutr* 106:405-411, 1976.
35. Sherman AR. Copper and iron deficiencies: Effects on serum lipids and tissue minerals. *Nutr Res* 1981;1:363-372.
36. Bowering J, Masch GA, Lewis AR. Enhancement of iron absorption in iron depleted rats by increasing dietary fat. *J Nutr* 1977;107:1687-1693.
37. Cunnane SC, McAdoo KR. Iron intake influences essential fatty acids and lipid composition of rat plasma and erythrocytes. *J Nutr* 1987;117:1514-1519.
38. Singh RB, Sharma VK, Singh R, Rastogi SS. Does increased consumption of dietary copper decrease blood lipids?. *Trace Elem Med* 1992;9: 28-33.
39. Jones AA, DiSilvestro RA, Coleman M, Wagner T. Copper supplementation of adult men: effects on blood copper enzyme activities and indicators of cardiovascular disease risk. *Metabolism* 1997;46 :1380-1383.
40. Medeiros DM, Milton A, Brunett E, Stacy L. Copper supplementation effects on indicators of copper status and serum cholesterol in adult males. *Biol Trace Elem Res* 1991;30: 19-35.
41. Anke M. Role of trace elements in the dynamics of arteriosclerosis. *Z Gesamte Inn Med* 1986;41:105-111.
42. Mills CF. Dietary interactions involving the trace elements. *Annu Rev Nutr* 1985;5: 173-193.
43. Mills CF. Trace Elements Interactions: Effects of dietary composition on the development of imbalance and toxicity. En: *Trace Element Metabolism in Animals-2*. (Hoekstra WG, Suttie JW, Ganther HE and Mertz W. Eds.). University Park Press. Baltimore. 1974;78-90.
44. Burch RE, Williams RV, Hahn HKJ, Jetton MM, Sullivan JF. Serum and tissue enzyme activity and trace-element content in response to zinc deficiency in the pig. *Clin Chem* 1975;21: 568-577.
45. Topping DR, Hillman JE, Dreosti RP, Trimble R, Record JR. Effects of zinc deficiency on bile acid secretion in the rat. *Nutr. Rep. Int.* 1978;18: 631-637.
46. Sandstead H, Klevay L, Mahalko J, Inman W, Bolonchur H, Lukaski G, Lykken T, Kramer L, Johnson D, Wallwork, J. Marginal Zn nutriture: effects on lipid metabolism and plasma zinc. *Am J Clin Nutr* 1980;33: 994 (abstr)
47. Koo SI, Williams DA. Relationship between the nutritional status of zinc and cholesterol concentration of serum lipoproteins in adult male rats. *Am J Clin Nutr* 1981;34: 2376-2381.
48. Koo SI, Lee CC. Compositional changes in plasma high-density lipoprotein particlers in marginally zinc-deficient male rats: *Am J Clin Nutr.* 1988;47:120-127.
49. Gallagher CH, Judah ID, Rees KR. The biochemistry of copper deficiency. II. Synthetic processes. *Proc Roy Soc London B Biol* 1956;145: 195-205.
50. Cunnane SC, McAdoo KR, Prohaska JR. Lipid and fatty acid composition of organs from copper-deficient mice. *J Nutr* 1986;116: 1248-1256.
51. Myres AW, Bowland JP. Fatty acids composition and distribution of ¹⁴C-glucose activity in lipid classes of porcine subcutaneous fat. *Can J Anim Sci* 1974;54: 645-650,
52. Myres AW, Bowland JP. Influence of dietary copper on the fatty acid composition of adipose tissue and on the level and composition of plasma free fatty acids in growing pigs fed individually or in groups. *Can J Anim Sci.* 1975;55: 315-324.
53. Faelli V, Giordina F. Behaviour of serum copper in the diabetic and its possible relation with free fatty acids. *Minerva Med* 1971;62: 3186-3199.
54. Cunnane SC, Horrobin DF, Manku MS. Contrasting effects of low and high copper intake on rat tissue lipid essential fatty acid composition. *Ann Nutr Metab* 1985;29:103-110.
55. Sherman AR (1981) Copper and iron deficiencies: Effects on serum lipids and tissue minerals. *Nutr Res* 1:363-372.
56. Salonen JT, Nyyssonen K, Korpela H, Tuomilehto J, Seppanen R, Salonen R. High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in Eastern Finnish men. *Circulation* 1992;86: 803-811.
57. Van Jaarsveld H; Pool GF, Barnard HC. Influence of ferritin levels on LDL cholesterol concentration in women. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997;98:201-208.

Recibido:16-10-1999

Aceptado:26-07-2000

The influence of dietary nucleotides and long-chain polyunsaturated fatty acids on the incorporation of [³H] arachidonic acid on experimental liver cirrhosis

Lúisa H.M. Leite, Eliane Moreira-Vaz, Glorimar Rosa, Andréa C. Pereira, Christianne R. Monteiro, Fernanda J. Medeiros, Vera L.A. Chagas

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Universidade Estácio de Sá (UFRJ), Brazil

SUMMARY. The purposes of this study were to determine: a) the incorporation of labeled [³H] arachidonic acid on the intestinal mucosa, the liver and plasma, after 1, 3 and 5 hours of administration, b) preferential incorporation by different tissues, c) and the effects on experimental rats with thioacetamide-induced cirrhosis, after four weeks of a dietary supplementation with nucleotides and long-chain polyunsaturated fatty acids. 209 female Wistar rats were divided into two groups (control and TAA group). The TAA group was given 300 mg of thioacetamide/L, in their drinking water for four months. After this period, a sample of 6 rats were taken from each group and examined, to evaluate the biochemical and histological changes of the experimental model, and 36 rats were taken to determine the incorporation of radioactivity by the groups. The rest of the animals were divided into four subgroups. Each group, receiving a supplementary diet with only long-chain polyunsaturated fatty acids and/or nucleotides or neither, for 4 weeks. After four months of thioacetamide, the incorporation of the [³H] arachidonic acid showed: a) an increased within 3 h in the intestinal mucosa, b) a decreased in the liver after 3 to 5 h c) and a drastic decrease in the plasma after 3 to 5 h. With a dietary supplementation of long-chain polyunsaturated fatty acids and nucleotides combined, there was a decrease of accumulate [³H] arachidonic acid in the intestine and a increase in the liver and plasma. The simultaneous supply of dietary polyunsaturated fatty acids and nucleotides was beneficial in the reversal of abnormalities of the lipid metabolism, in this experimental model of liver cirrhosis.

Key words: Arachidonic acid, cirrhosis, liver, nucleotides, polyunsaturated fatty acids, thioacetamide.

RESUMO. Influência dos nucleotídeos dietéticos e ácidos graxos poliinsaturados na incorporação de [³H] ácido araquidônico na cirrose hepática experimental. Os objetivos deste estudo foram determinar: a) a incorporação de [³H] ácido araquidônico na mucosa intestinal, fígado e plasma, após 1, 3 e 5 horas de administração da emulsão radioativa, b) a incorporação preferencial em diferentes tecidos e c) os efeitos do tratamento dietético, por quatro semanas, com nucleotídeos e ácidos graxos poliinsaturados, em ratos com cirrose hepática induzida por tioacetamida. 209 ratas da raça Wistar, foram divididas em dois grupos (controle e TAA). O grupo TAA recebeu a tioacetamida na concentração de 300 mg/L, dissolvido na água de bebida, por quatro meses. Após este período, uma amostra de 6 animais de cada grupo foram sacrificados para confirmação das mudanças bioquímicas e histológicas, características do modelo experimental e trinta e seis animais foram utilizados para determinar a incorporação do radioisótopo. O restante dos animais foram divididos em quatro subgrupos. Cada grupo recebeu uma dieta suplementada com ácidos graxos poliinsaturados e nucleotídeos, isoladamente ou combinados. Após quatro meses de tioacetamida, a incorporação do [³H] ácido araquidônico resultou em: a) aumentada retenção na mucosa intestinal após 3 h, b) reduzida retenção no fígado após 3 e 5 horas, c) uma importante redução no plasma após 3 e 5 horas. O tratamento dietético com ácidos graxos poliinsaturados e nucleotídeos combinados promoveu uma redução do [³H] ácido araquidônico acumulado na mucosa intestinal e num aumento da incorporação no fígado e plasma. A suplementação simultânea de ácidos graxos poliinsaturados e nucleotídeos dietéticos foi benéfica para reverter anormalidades do metabolismo lipídico existentes, neste modelo experimental de cirrose hepática.

Palavras chave: Ácidos graxos poliinsaturados, ácido araquidônico, cirrose, fígado, nucleotídeos, tioacetamida.

INTRODUCTION

Protein-energy malnutrition is often found in chronic liver disease, especially in alcoholics. Recent studies on liver cirrhosis and nutrition have shown a specific nutritional deficiency of long-chain polyunsaturated fatty acids (PUFA)(1-4).

Changes in the PUFA profile of plasma in liver disease

were for the first time, described in 1966 by Caren and Corbo (5). Later on, Cabré *et al* (1) showed similar changes in human cirrhosis, where low plasma levels of saturated fatty acids and PUFA were found. The latter showing specific decreases in the linoleic and arachidonic acid.

PUFA are the major components of structural lipids of biomembranes and play a major and vital role in the maintenance of fluidity and membrane integrity (6).

There is an evidence to suggest that recognized PUFA deficiency, particularly of arachidonic acid, may contribute to the malfunction of various organs in liver cirrhosis, and as such be detrimental to patients suffering from liver cirrhosis (7).

The etiology of PUFA deficiency in liver cirrhosis is not fully understood, though there are various hypotheses such as: decrease in food intake, malnutrition, dysfunction hepatic and malabsorption (2,8,9).

The PUFA intracellular metabolism has been extensively studied. The way PUFA traverses the plasma membrane to enter the cells has been described as a dual mechanism i.e. the facilitated and simple diffusion (10,11). On the other hand little has been learned about PUFA uptake and intracellular metabolism in liver cirrhosis.

Recently, in an experimental study we have suggested that a 2 weeks diet on long-chain polyunsaturated fatty acids, could attenuate the fatty acid deficiency in liver cirrhosis (3). But we failed to show the positive effects of dietary treatment with PUFA, over a 2 weeks period, on human cirrhosis (unpublished data).

Studies have shown the beneficial effects of nucleotides as modulators on the both lipoprotein metabolism (12,14) and intestinal and hepatic synthesis of desaturases (15,16), as well as, tissue regeneration in liver cirrhosis (17,22), but the effects of PUFA intracellular metabolism on liver cirrhosis is still unclear.

Based on the above, we decided to investigate the PUFA intracellular metabolism, and its effects on an experimental model of liver cirrhosis, that assimilates human cirrhosis (2), when introduced in a diet with nucleotides.

The purposes of this study were to: a) determine the incorporation of [^3H] arachidonic acid in the intestinal mucosa, liver and plasma after a time period of 1, 3 and 5 hours, b) to examine whether there was a preferential incorporation by different tissues, c) and finally to examine what effects, after a 4 weeks period, a dietary supplementation of long-chain polyunsaturated fatty acids and nucleotides has on the incorporation of [^3H] arachidonic acid in different tissues.

MATERIALS AND METHODS

Animals

209 adult female Wistar rats (Fundação Oswaldo Cruz-Brazil), were kept in wire bottom cages, in a mean temperature of 22°C and a light dark cycle of 12 h. All animals received humane care throughout the experiment, and all protocol in accordance with institutional guidelines for animal research was followed.

Experimental design

Initially, the animals were divided in two groups: a control group and a thioacetamide-treated group (TAA-group). The

initial weight was $135,70 \pm 4,37$ vs. $137,88 \pm 3,85$ g (mean \pm SEM) to control and TAA-group, respectively. There was no significant difference in body weight between two groups.

The control group received just water, and the TAA group received, *ad libitum*, water with 300 mg of thioacetamide/L for a period of 4 months, according to the procedure set out in Moreira *et al* (2).

Both groups received a standard chow diet (A.F.GUANDU-Brazil). During 4 months, the body weight was measured twice a month.

After 4 months of treatment, and an extra 3 days without TAA (in order to reduce the acute effects of TAA), six rats from each group were taken for examination. The samples rats were anesthetized with diethyl ether and decapitated, so the biochemical parameters and histological changes could be evaluated.

Blood samples were taken from the samples rats for analysis. The samples were collected in heparinized and sodium citrate tubes, then centrifuged, to separate the plasma from the cells and determine the prothrombin time, at 1500 x g for 10 minutes.

Later 36 rats were taken (18 from each group). Each rat received 1 mL of the radioactive emulsion, applied intragastrically through a polyvinyl tube, under a light anesthetic (ether diethyl), and then 6 samples rats were chosen at 1, 3 and 5 hours intervals and decapitated after as per Hjelt *et al* (23), but with slight modifications i.e. in the time intervals of the sacrifices.

The rest of the rats in the TAA and controlled groups, were divided into 4 subgroups, each group was given a separate diet over a 4 weeks period, as follow: a semi-purified diet (SP) containing: 23% protein (calcium caseinate), 64,6% carbohydrates (cellulose 5%, sucrose 14,9%, corn starch 44,6%) and 7% fat (66% olive oil, 23% soy oil, 11% medium-chain triglycerides), plus other minerals and vitamins according the international standards (ILAR)24, or a polyunsaturated fatty acids diet (SP+PUFA) containing the SP diet plus 6% fat and extra 1% polyunsaturated fatty acids (a concentrate fish oil (Denmark) with 18% Eicosapentaenoic acid (EPA), 12% Docosahexaenoic acid (DHA) and 5% others PUFA was used as source of n-3 PUFA), or a nucleotides diet (SP+NT) containing the SP diet plus 50 mg each of (AMP, IMP, CMP, GMP and UMP) per 100 g of diet or PUFA+nucleotide diet (SP+PUFA+NT) containing a combination of SP diet plus PUFA and nucleotides. The fatty acid composition of the diets can be seen in Table 1.

Throughout the dietary treatment, food intake was measured on a daily basis. The weight, however, was monitored on a weekly basis.

After four weeks the rats were submitted to the same procedure mentioned above (23), and then a selected number were decapitated at intervals of 1, 3 and 5 hours.

TABLE 1
Fatty acid composition of dietary lipids

Fatty acid (%)	SP	SP+PUFA	SP+PUFA+NT	SP+NT
ΣSFA	32,88	25,08	23,75	32,88
ΣMUFA	46,43	54,14	55,94	46,43
C18:2 6	14,30	12,40	12,20	14,30
C18:3 n-6	0,45	0,36	0,38	0,45
C20:2 n-6	0,52	0,34	0,06	0,52
C20:3 n-6	0,24	0,27	0,15	0,24
C20:4 n-6	0,35	0,32	0,38	0,35
C22:1 n-6	0,52	0,39	0,38	0,52
C22:4 n-6	1,10	1,09	1,10	1,10
C24:1 n-6	1,57	0,36	0,06	1,57
ΣPUFA n-6	19,05	15,53	14,33	19,05
C18:3 n-3	2,72	1,61	1,51	2,72
C18:4 n-3	0,25	0,26	0,28	0,25
C20:5 n-3	0,27	2,20	2,20	0,27
C22:6 n-3	0,35	1,42	1,76	0,35
ΣPUFA n-3	3,59	5,49	5,75	3,59
ΣPUFA > 20 C n-6	4,65	2,77	2,13	4,65
ΣPUFA > 20 C n-3	0,62	3,62	3,96	0,62

Results are expressed as percentages in 100 g of dietary lipids

Preparation of radioactive emulsion

The labeled arachidonic acid (AA) {5,6,8,9,11,12,14,15-³H}(50 μCi) was obtained from DU PONT (USA). The radioactive emulsion was prepared as follows: a 10% (v/v) triolein emulsion, was obtained by mixing 0,5 mL triolein with 4,5 mL NaCl containing 1,0% (w/v) arabic gum. The mixture was subjected to ultrasonic waves for 3 minutes at 30 second intervals. The [³H] arachidonic acid was added to a chloroform solution containing 1,0 mg egg phosphatidylcholine. The solution was dried using nitrogen and then dispersed immediately in 2,0 mL NaCl (0,9%) and added to 12,5 mL of the triolein emulsion.

The radioactivity of samples was tested by using the BECKMAN liquid scintillation spectrometer, and measured in dpm. An aliquot of the radioactive substance was used as standard in these experiments. The results are expressed as percent incorporation into 0,5 g of tissue.

Lipids analysis

Plasma and dietetic lipids were extracted using the Lepage & Roy method (25). Lipids from other tissues were extracted using the Stansbie *et al* method (26). The dietetic fatty acid composition was quantified by capillary gas-liquid chromatography using a PERKIN ELMER AUTOSYSTEM chromatograph (USA) equipped with a 30-m SP-2330 column, film

thickness 0,20 μm (0,25 mm ID). The injector and detector were set at 250 and 300°C, respectively. Initial oven temperature was 170°C and raised at a rate 2°C/min to 210°C and then maintained for 30 minutes. Helium was used as carrier gas with a flow rate of 1:5 mL/min. As internal standard heptanoic acid (C17:0) was used.

Biochemical analysis

Plasma triglycerides levels were determined using the Soloni method (27) and a commercial kit from BIOCLIN (Brazil). Total cholesterol using the BOEHRINGER kit (USA). Aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were determined using the Reitman and Frankel method (28) and a commercial kit from BIOLAB (Brazil). Alkaline phosphatase was determined using the Roy method (29) and a commercial kit from ANALISA (Brazil) and prothrombin time was determined using the BIOCLIN kit (Brazil).

Histology

After the animals were killed, the livers were removed immediately. Samples were taken from the left lobe for analysis with light microscopy. The tissues were fixed in a solution of formaldehyde, acetic acid and methanol (10%, 10%, 80%) respectively, then dehydrated in ethanol, cleared in xylene and embedded in paraffin. The sections were stained with hematoxylin and eosin (HE) and Massons trichrome and examined under a Leitz Dialux microscope (Germany).

Statistical analysis

All results are expressed as a mean ± SEM. We used the Student's unpaired *t* test to compare the data from the different experimental groups, and the one way ANOVA and Ducans test to compare the mean values overall.

RESULTS

The mortality rate for the thioacetamide (TAA group), which was introduced orally in the drinking water, was 4%. The liver, after 4 months of TAA showed all the characteristics of hypertrophic nodular cirrhosis i.e. nodular surface, firm in texture and yellowish in color. There were also signs of induced fibrous septa, inflammatory cell infiltration of the portal tract and ductular proliferation. (Fig 1A and 1B).

During the 4 weeks of the supplementary dietary treatment, the average food intake was lower in the TAA-group than control group (Table 2). The TAA subgroups lost a lot of weight compared to the control subgroups, and even with the supplementary dietary treatment, none of the TAA subgroups recovered their full body weight. The final average weight was 299,27±1,67 vs. 237,69±1,39 (mean±SEM) to control and TAA-group, respectively (p < .001).

Table 3 presents the biochemical results. TAA treated rats without the supplementary dietary treatment had a higher concentration of plasma cholesterol and lower concentrations of triglycerides. There was a significant change in transaminase AST activity compared with the control group, but the transaminase ALT showed little variation. The alkaline phosphatase activity and prothrombin time were significantly higher in the TAA group.

FIGURE 1

Light microscopy after four months of thioacetamide administration. 1(A) control group (HE x 10). 1(B) Fibrous septa, inflammatory cell infiltration of the portal tract and ductular proliferation are visible in the group treated with thioacetamide (Masson x 10)

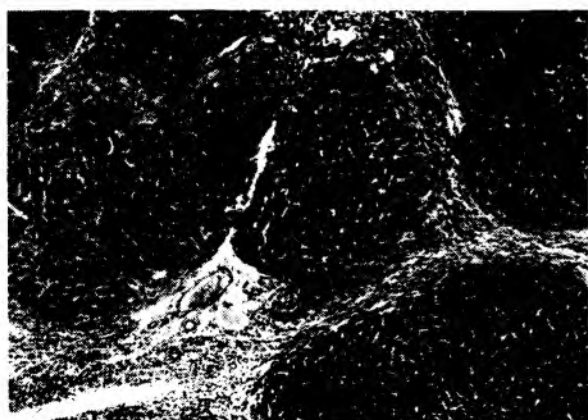
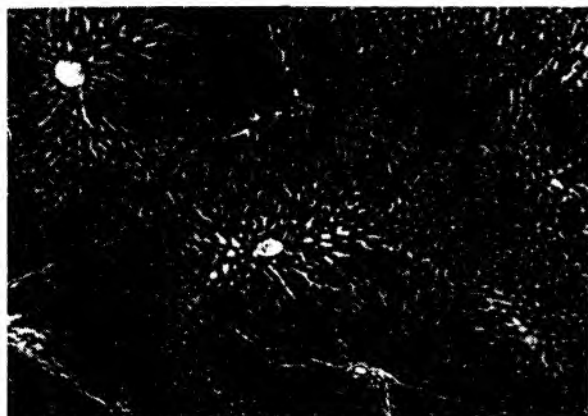


TABLE 2

Dietary intake during four weeks of supplementary treatment

Diets	CONTROL	TAA-group
SP	17,47±0,36	15,77±0,33 **
SP+PUFA	16,64±0,36	16,66±0,30 NS
SP+PUFA+NT	17,59±0,47	15,86±0,36*
SP+NT	20,03 ±0,52***	16,37±0,32 **

Results are expressed as mean ±SEM

Abbreviations: semi-purified diet (SP), semi-purified plus 1% polyunsaturated fatty acids diet (SP+PUFA), semi-purified plus polyunsaturated fatty acid and 50mg% nucleotides diet (SP+PUFA+NT), semi-purified plus 50mg% nucleotides diet (SP+NT)

Comparisons between control vs. TAA-group were made by Unpaired Student's test NS (no significant)

* $p < .05$ ** $p < .001$

Comparisons among mean values were made by one-way ANOVA and a posteriori Ducans test

*** $p < .05$

TABLE 3

Plasma parameters after four months of thioacetamide administration

Parameters	CONTROL	TAA
ChO (mg/dl)	47.77±2.25	68,59±4,77*
TG (mg/dl)	25.86±3.59	23,20±0,47 NS
AST (UI/L)	42.92±1.65	127,30±35,84*
ALT (UI/L)	5.86±2.02	9,37±1,61 NS
AP (UI/L)	31,38±0,90	48,45 ±0,91**
PT (s)	2,74±0,12	5,02±0,03**

Results are expressed as mean ±SEM. A total of 6 Control and 6 TAA animal were used of each parameter.

Abbreviations: Cholesterol (ChO), triglycerides (TG), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP), prothrombin time (PT)

NS (no significant)

* $p < .05$ ** $p < .001$

The recovery percentage of [^3H] arachidonic acid in intestinal content in the TAA group was lower than the control group after 1 and 3 h, respectively (Table 4).

TABLE 4

Percentage of recovery of [^3H] arachidonic acid in intestinal content after 1, 3 and 5 hours

Group	1 h	3 h	5 h
Control	0,469±0,06	1,13±0,44	0,395±0,05
TAA	0,137±0,02*	0,332±0,05 NS	0,350±0,15 NS

Results are expressed as mean ±SEM

Comparisons between control vs. TAA group were made by unpaired, Students *t* test.

NS (no significant)

* $p < .001$ reading in dpm

The TAA-group showed a significant difference in the incorporation of [^3H] arachidonic acid at 3 h stage with an overload in the intestinal mucosa. Though the trend continued until the 5 h, but the difference was no longer significant.

In the liver specimens of the TAA group there was a decrease in the radioactive levels. One striking feature was a significant decrease in the proportion of [^3H] arachidonic acid found in the plasma at the 3 and 5 stages (Table 5).

After four weeks on the dietary supplementation of PUFA and nucleotides, there was an apparent change: The TAA subgroups showed different levels of incorporation of [^3H] arachidonic acid in the intestinal mucosa. At the 1 h stage the incorporation was significantly higher in the TAA subgroups treated with semi-purified diet (SP) and semi-purified plus polyunsaturated fatty acids diet (SP+PUFA). After 3 h, only the polyunsaturated fatty acids and nucleotides diet

(SP+PUFA+NT) showed a significantly lower level of radioactivity retained in the intestinal mucosa when compared with other subgroups. This was confirmed in the control

subgroups as well. At the 5 h stag there was an increased level of incorporation in all TAA subgroups including the SP+PUFA+NT subgroup (Fig. 2).

TABLE 5
Percentage of incorporation of [³H] arachidonic acid in the intestinal mucosa, liver and plasma after four months of thioacetamide

Tissue	CONTROL			TAA		
	1 h	3 h	5 h	1 h	3 h	5 h
Intestinal Mucosa	6.54±1.6	3.80±1.5	2.58±0.4	5.76±0.95 NS	8.89±0.69*	3.58±1.13NS
Liver	1.04±0.5	0.08±0.01	0.16±0.06	1.66±0.39 NS	0.06±0.01NS	0.07±0.05NS
Plasma	0.48±0.07	0.91±0.007	1.15±0.004	0.23±0.05 NS	0.36±0.04*	0.51 ±0 .02*

Values are means ±SEM * *p*<.001 reading in dpm

FIGURE 2

Percentage of incorporation of [³H] arachidonic acid in the intestinal mucosa after dietary treatment for 4 weeks.

**p*<.001 ** *p*<.05

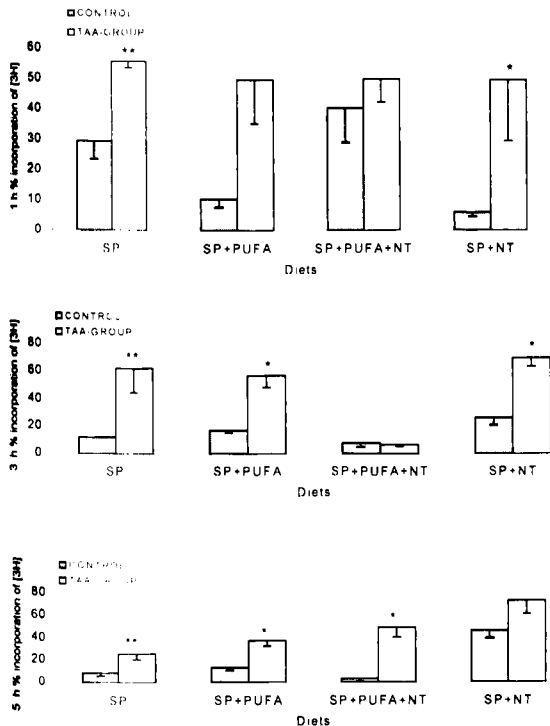
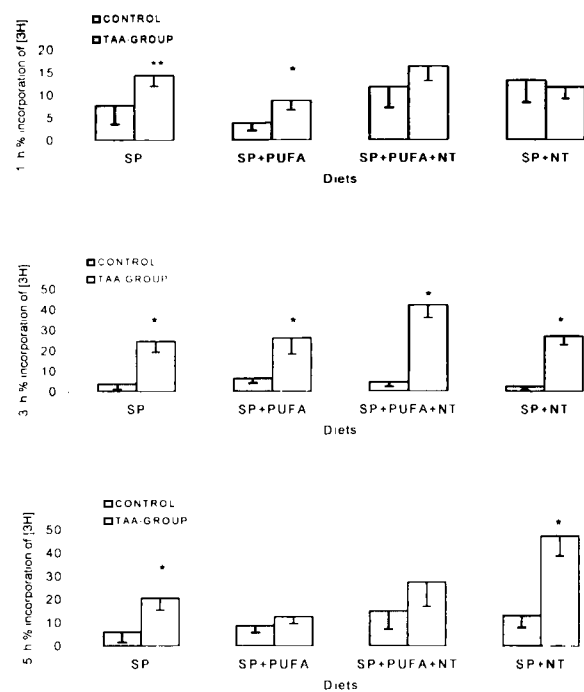


FIGURE 3

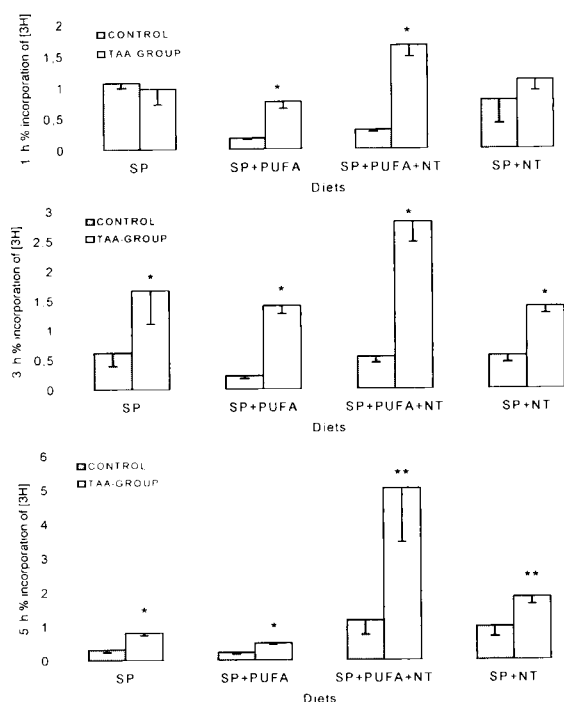
Percentage of incorporation of [³H] arachidonic acid in the liver after dietary treatment for 4 weeks. **p*<.001 ** *p*<.05



The liver showed a significantly higher incorporation of [³H] arachidonic acid occurred in the TAA subgroups treated with SP and SP+PUFA diets. After 3 h, there was a significant increase of incorporation in all TAA subgroups, especially those treated with nucleotides (SP+NT) and (SP+PUFA+NT) diets (Fig. 3).

Results from the radioactivity in the plasma showed the importance of the dietary supplementation in the TAA group. After the 3h period all diets showed a higher incorporation of [³H] arachidonic acid in the plasma of the TAA group, especially in the (SP+PUFA+NT) subgroup. Though this level was only maintained by the SP+NT and SP+PUFA+NT subgroups until the 5 h stage (Fig. 4).

FIGURE 4
Percentage of incorporation of [³H] arachidonic acid in the plasma after dietary treatment for 4 weeks. *p<.001* *
p<.05



DISCUSSION

Our results have shown that the liver damage caused in rats by chronic TAA intoxication resembles human cirrhosis, in both its biochemical and morphological form as seen in previous studies (2,30,31).

This experiment with labeled fatty acids, revealed important differences in the metabolism of [³H] arachidonic acid between the TAA-treated and control rat groups.

The proportion of radioactive material recovered from the intestinal content after 1h in the TAA group was significantly lower than the control group, and continued to be so until the 3 h stage. One reason for this, though it is by no means certain, could be the difference in the gastric emptying time between the two groups.

In addition, we noted a marked difference in the proportion of [³H] arachidonic acid in the intestinal mucosa and plasma. A pronounced accumulation of radioactivity was observed in the intestinal mucosa at the 3h stage. On the other hand, the recovery of [³H] arachidonic acid in the plasma was significant decrease after 1, 3 and 5 h stages.

Previous studies have shown an abnormal retention of orally or intravenously administered labeled fatty acid in intestine of rats with essential fatty acid deficiency (32,33).

It is well established that under normal conditions, long-chain fatty acids are absorbed as esters, mainly triacylglycerols (TG) and integrated as very low dense lipoprotein (VLDL), via the lymph (34). Fat absorption may be impaired because of defective secretion of the absorbed lipids, making them accumulate intracellularly as triacylglycerol (33).

There is evidence of the existence of subnormal intraluminal concentrations of bile salts in liver cirrhosis (34). It is now known that bile salts are important not only to lipid solubility but also, to act as an intracellular modulators of the monoacylglycerol pathway in intestinal mucosa (35). It is possible that the retention of radioactive material under our experimental conditions, was due to impaired absorptive and metabolic conditioning (36,37).

The results of our experiment on model liver cirrhosis, has confirmed previous observations that there is a preferential transitory incorporation of arachidonic acid in the intestinal mucosa, evidenced in special conditions as in the essential fatty-acid deficient rats (23) and from secondary effects of ethanol (38).

The 4 weeks dietary treatment revealed changes in the incorporation of [³H] arachidonic acid into the intestinal mucosa. The noteworthy observation was that the semi-purified plus polyunsaturated fatty acids and nucleotides diet (SP+PUFA+NT) promoted a decrease in the retention time of [³H] arachidonic acid in the intestinal mucosa of the TAA-group after 3 h but not after 5h, whereas the SP, SP+PUFA or SP+NT had no such effect.

The most striking result of this study was the significantly high recovery of [³H] arachidonic acid in the plasma after 3 and 5 h periods in the TAA-group fed with SP+PUFA+NT, even in presence of high intestinal retention of radioactive material.

Previously Jenkins *et al* (39) described in liver cirrhosis, that the abnormalities of absorption capacity via the lymph can lead to a probably additional portal absorption of unesterified PUFA.

Some authors have quantified the portal venous flow of different fatty acids and found that polyunsaturated fatty acids are partially absorbed in the portal blood, but this route is relatively minor one under normal conditions (40,41).

Based on our results, it is conceivable to suggest that under these experimental conditions there is a compensatory portal absorption, at least in part, due to the intraluminal bile salts deficiency.

In the current study, we have clearly demonstrated that the low plasma levels of PUFA in liver cirrhosis, at least in part, can be explained by disturbances in the absorption and metabolic qualities of the intestinal mucosa. These disturbances, however cannot be normalized with a nutritionally adequate diet, but can be attenuated with modulators of lipid metabolism, such as nucleotides (42).

Further investigation need be conducted to establish the

most efficient doses of dietary supplementation, and period of treatment, and whether dietary nucleotides and PUFA combined might have a therapeutic effect on human cirrhosis.

ACKNOWLEDGMENT

We are grateful to Laboratório Hélio Póvoa for the enzymatic analysis, to Instituto Militar de Engenharia (IME) for the gas chromatography (Rio de Janeiro-Brazil), to Djalma de Souza Cabral for technical assistance and Stephen John Dibley for revising the manuscript.

REFERENCES

- Cabré E, Periago JL, Abad-Lacruz A. Plasma fatty acid profile in advanced cirrhosis: unsaturation deficit of lipid fractions. *Am J Gastroenterol*, 1992; 85:1597-1564.
- Moreira E, Fontana L, Periago JL, Sanches de Medina F, Gil A. Changes in fatty acid composition of plasma, liver microsomes, and erythrocytes in liver cirrhosis induced by intake oral of thioacetamide in rats. *Hepatology*, 1995; 21:199-206.
- Moreira E, Fontana L, Torres MI, Fernandes I, Rios A, Sanches de Medina F, Gil A. Dietary long-chain polyunsaturated influence the recovery of thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats. *JPEN*, 1995; 19: 461-469.
- Cabré E, Gassul MA. Nutritional therapy in liver cirrhosis. *Acta Gastroenterol. Bel*, 1994; 57:1-12.
- Caren R and Corbo L. Plasma fatty acid in pancreatic cystic fibrosis and liver disease. *J Clin Endocrinol*, 1966; 26: 470-477.
- Lien EL. The role of fatty acid composition and positional distribution in fat absorption in infants. *J Ped*, 1994; 125:562-568.
- Cabré E, Abad-Lacruz A, Nuñez MC, González-Huix F, Fernandez-Bañares F, Gil A, Esteve-Comas M, Moreno J, Planas R, Güllera M, Gassul MA. The relationship of plasma polyunsaturated fatty acid deficiency with survival in advanced liver cirrhosis: multivariate analysis. *Am J Gastroenterol*, 1993; 88:718-722.
- Wilcox HG, Dumm GD, Schemker S. Plasma long-chain fatty acids and esterified lipids in cirrhosis and hepatic encephalopathy. *Am J Med Sci*, 1978; 276: 293-303.
- Cabré E, Periago, JL, González J, González-Huix F, Abad-Lacruz A, Gil A, Sanches de Medina F, Esteve-Comas M, Fernández-Bañares F, Planas R, Gassul MA. Plasma polyunsaturated fatty acid in liver cirrhosis with or without hepatic encephalopathy: a preliminary study. *JPEN*, 1992; 16:359-363.
- Stremmel W. Uptake of fatty acids in jejunal mucosa is mediated by a specific fatty acid binding membrane protein. *Gastroenterology (Abstracts)*, 1987; 92:1656 a.
- Goré J, Hoinard C. Linolenic transport in hamster intestinal cells is carrier-mediated. *J Nutr*, 1993; 123:66-73.
- Sánchez-Pozo A, Pita ML, Martínez A. Effects of dietetic nucleotides upon lipoprotein pattern of newborn infants. *Nutr Rev*, 1991; 6:184-191.
- Sanderson IR, He Y. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. *J Nutr*, 1994; 124:131-137.
- Carver JD. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system effects. *J Nutr*, 1994; 124:144-148.
- Uauy R, Quan R, Gil A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications of infant nutrition. *J Nutr*, 1994; 124:1435-1441.
- Carver JD, Walker A. The role of nucleotides in human nutrition. *Nutr Biochem*, 1995; 6:58-72.
- Torres-Lopes MI, Fernandes I, Fontana L, Gil A, Rios A. Influence of dietary nucleotides on liver structural recovery and hepatocyte binuclearity in cirrhosis induced by thioacetamide. *Gut*, 1996; 38:260-264.
- Torres MI, Fernandez MI, Gil A, Rios A. Effect of dietary nucleotides on degree of fibrosis and steatosis induced by oral intake of thioacetamide. *Dig Dis Sci*, 1997; 6: 1332-1328.
- Torres MI, Fernandez MI, Gil A, Rios A. Dietary nucleotides have cytoprotective properties in rat liver damage by thioacetamide. *Life Sciences*, 1998; 62:13-22.
- Fontana L, Moreira E, Torres MI, Fernandez I, Rios A, Sánchez de Medina F, Gil A. Dietary nucleotides correct plasma and liver microsomal fatty acid alterations in rats with liver cirrhosis induced by oral intake of thioacetamide. *J Hepatology*, 1998; 28: 662-669.
- Uauy R. Noimmune system responses to dietary nucleotides. *J Nutr*, 1990; 124:1575-1579.
- Novak D, Carver J, Barnes LA. Dietary nucleotides affect hepatic growth and composition in the weanling mouse. *JPEN*, 1994; 18:62-66.
- Hjelte L, Melin T, Nilsson A, Strandvik B. Absorption and metabolism of [³H] arachidonic and [¹⁴C] linoleic acid in essential fatty acid-deficient rats. *Am J Physiol*, 1990; 259:116-124.
- ILAR: Control of diets in laboratory animal experimentation. *Livestock feeds and feeding*, 1987; 49:413-419.
- Lepage G and Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipid in one-step reaction. *J Lip Res*, 1986; 27:114-120.
- Stansbie D, Browsey RW, Crettaz M, Demton RH. Acute effects *in vivo* of anti-insulin serum on rates of fatty acids synthesis and activities of acyl coenzyme A carboxylase in pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. *Biochem. J*, 1976; 169:413-416.
- Soloni FG. Simplified manual micromethod for determination of serum triglycerides. *Clin Chem*, 1971; 17:529-534.
- Reitman S and Frankel S. A colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol*, 1957; 28:56-63.
- Roy AV. Rapid method for determining alkaline phosphatases activity in serum with thimolphtalein monophosphate. *Clin Chem*, 1970; 16:431-436.
- Zimmerman J, Franke H, Dargel L. Studies on lipid metabolism in rat liver cirrhosis induced by different regimens of thioacetamide administration. *Exp Pathol*, 1986; 30: 109-117.
- Nozu F, Takeyama N, Tanaka T. Changes of hepatic fatty acid metabolism produced by chronic thioacetamide administration in rats. *Hepatology*, 1992; 15:1099-1106.
- Beker W. Distribution of ¹⁴C after oral administration of [¹-¹⁴C] linoleic acid in rats fed different levels of essential fatty acids. *J Nutr*, 1984; 114:1690-1696.
- Clark BS, Ekkers TE, Singh A, Balint JA, Holt P, Rodgers JB. Fat absorption in essential fatty acid deficiency: a model experimental approach to studies of the mechanism of fat

- malabsorption of unknown etiology. *J Lip Res*, 1973; 14:581-588.
34. Vlahcevic ZR, Buhac I, Farrar JT, Cooper BC, Sweet L. Bile acid metabolism in patients with cirrhosis. *Gastroenterology*, 1971; 60:491-497.
 35. Mathieu Y, Caselli C, Bernard A, Carlier H. Partition of oleic acid between the lymph and portal blood in rats having a diverted bile-pancreatic duct. *Brit J Nutr*, 1996; 75: 249-261.
 36. Badley BWD, Murphy GM, Bouchier IAD. Diminished micellar phase lipid in patients with chronic nonalcoholic liver disease and steatorrhea. *Gastroenterology*, 1970; 58: 781-788.
 37. Seidl D. Lipoproteins in liver cirrhosis. *J Clin Chem Biochem*, 1987; 25:541-551.
 38. Barros H, Chen Q, Floren CH, Nilsson A. Arachidonic acid absorption in human jejunum in organ culture: effects of ethanol. *Eur J Clin Inv*, 1990; 20:506-510.
 39. Jenkins DJA, Gassul MA, Leeds AR, Blendis LM. Prothrombin time and fat absorption in liver disease. *Clin Sci Mol Med*, 1976; 51:9-10.
 40. Mac Donald G, Saunders DR, Weidman M, Fisher I. Portal venous transport of long-chain fatty acids absorbed from rat intestine. *Am J Physiol*, 1980; 239:G141-G150.
 41. Bernard A, Carlier H. Absorption and intestinal catabolism of fatty acids in the rat: effect of chain length and unsaturation. *Exp Physiol*, 1991; 76:445-455.
 42. Ebehart CE, Dubois RN. Eicosanoids and tract intestinal. *Gastroenterology*, 1995; 109: 285-301.

Recibido: 17-07-1999

Aceptado: 06-06-2000

Análisis *in vitro* de la disponibilidad del hierro en el arroz fortificado

Gabriela F. Romera , Angela Zuleta , María Inés Sarchi y María Elena Sambucetti

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. Con el objeto de determinar la disponibilidad *in vitro* del hierro en el arroz blanco fortificado con este mineral y el efecto inhibitorio del ácido fítico presente en el salvado en cantidades semejantes a las que se puede encontrar en el arroz integral ,se analizaron muestras de arroz comercial blanco fortificado con hierro electrolítico (ABF) y arroz simil integral fortificado. Este se logró mediante mezclas de ABF más salvado de arroz en concentraciones de 4,76% y 9,09% en las muestras ABF2 y ABF3 respectivamente. Antes y después de ser sometidas a una hidrólisis con fitasa se determinó: Hierro total por espectrofotometría de absorción atómica, disponibilidad del hierro por el método *in vitro* de Kapsokelafou y Miller modificado por Valencia y col. , fibra dietaria y ácido fítico según AOAC. Los resultados mostraron que el agregado de salvado disminuyó la disponibilidad del hierro, 9,65%; 4,04%; y 1,82% para ABF, ABF2 y ABF3 respectivamente. Estos resultados pueden atribuirse en su mayor parte al contenido en ácido fítico, ya que después de su hidrólisis se obtuvieron valores máximos no significativamente diferentes de 28,20%; 27,95% y 25,30% para las mismas muestras. El contenido de fibra de las muestras disminuyó con el tratamiento con fitasa en las muestras ABF2 y ABF3, respectivamente. Sin embargo de acuerdo al análisis de regresión múltiple realizado, la fibra no influiría en los resultados mientras que el ácido fítico sería el responsable principal de la inhibición de la disponibilidad del hierro. Se concluye que en el arroz integral a pesar de su mayor contenido en hierro con respecto al arroz blanco, requeriría un nivel de fortificación más elevado que éste debido a su mayor contenido de ácido fítico .

Palabras clave: Arroz, ácido fítico, arroz fortificado con hierro, disponibilidad del hierro.

SUMMARY. *In vitro* assessment of iron availability on fortified rice. Cereals are rich in fiber but also in phytate which is considered the principal inhibitor of mineral availability. On this basis, iron availability of fortified rice, and the inhibitory effect of bran phytate was studied in: white rice fortified with electrolytic iron (ABF) from commercial origin; and mixtures of ABF plus 4,76% and 9,09% of rice bran (ABF2 and ABF3 respectively) to simulate brown rice. Samples were analysed before and after phytic acid hydrolysis with phytase: Dietary fiber and phytic acid were assessed according AOAC; iron availability, expressed as dialisable iron by the *in vitro* method of Kapsokelafou and Miller modified by Valencia et al.; iron content was assessed by AAS. Results showed that added bran depressed iron availability, 9,65%; 4,04% and 1,82% as expected (ABF, ABF2 and ABF3 respectively). After phytic acid hydrolysis iron availability reached 28,20%; 27,95% and 25,30% for the same samples. These values were not different. After phytic acid hydrolysis, fiber content of ABF2 and ABF3 were lower than before. However multiple regression analysis of the data showed that fiber had not influence on iron availability and that phytic acid would be the principal responsible of it. These results indicate that brown rice should have a higher level of iron fortification than in white rice or be combined with other foods that improve iron availability as meats, vegetables or fruits.

Key words: Rice, phytic acid, iron fortified rice, iron availability.

INTRODUCCION

La recomendación de aumentar la ingesta de fibra es una de las más difundidas en las dos últimas décadas y aceptadas en casi todos los países con el fin de mantener o mejorar la salud.

Una de las fuentes de fibra que ha cobrado mayor popularidad es la de los cereales. Con ese fin se dispone de granos enteros o integrales, que contienen alrededor de 3,60 a 13,50g de fibra por 100g, o sus tegumentos externos, pericarpio y aleurona, conocidos como salvados, con concentraciones de fibra de alrededor de 19 a 42g por 100g. Los productos más

pulidos y refinados contienen una menor concentración, 1,50 a 6,50g por 100g , Sin embargo, pueden aportar cantidades significativas en función de su peso en la dieta (1-3).

Se ha señalado que la fibra aparte de sus efectos beneficiosos, podría disminuir el aprovechamiento de los minerales (4-6). Sin embargo estudios más recientes llevados a cabo *in vitro* y en humanos, señalan a los fitatos como a los principales causantes de la disminución de la biodisponibilidad del hierro y cinc de los alimentos (7-13). El ácido fítico posee una fuerte capacidad quelante con cationes multivalentes, especialmente di y trivalentes como hierro, cinc, calcio y cobre con los que forma complejos insolubles a pH cercano a la neutralidad. La

disminución de la absorción de hierro que produce el consumo de dietas con elevado contenido de ácido fítico puede ser eliminada cuando la dieta contiene suficiente cantidad de componentes que estimulan la absorción contrarrestando el efecto inhibitor del ácido fítico, tales como el ácido ascórbico y la carne (14).

El arroz integral es uno de los cereales cuyo aporte de fibra es más significativo, teniendo en cuenta la fracción importante que representa en las dietas de países con gran consumo. Pero a su vez su contenido en ácido fítico es mayor que el del arroz blanco o pulido debido a que en los cereales, los fitatos se concentran en los tegumentos externos junto a la fibra.

En cuanto al contenido de hierro, el arroz blanco aporta escasamente 0,5 mg por 100g (1), lo que justifica su enriquecimiento por el agregado de hierro elemental hasta 7mg/100g, como suele realizarse en la práctica en nuestro país. El arroz integral no se fortifica, puesto que contiene más hierro de forma natural, 1,4 mg/100g (1), sin embargo la presencia de una mayor cantidad de ácido fítico reduciría su aporte efectivo de manera tal que posiblemente también merecería ser fortificado.

Este trabajo se ha realizado con el objeto de determinar la disponibilidad *in vitro* del hierro en el arroz blanco fortificado con hierro electrolítico y el efecto inhibitorio del ácido fítico presente en el salvado en cantidades similares a las que se puede encontrar en el arroz integral.

MATERIALES Y METODOS

Diseño experimental

A muestras de arroz blanco fortificado con hierro de origen comercial, y con cantidades crecientes de salvado se les determinó el hierro dializado antes y después de haber sido sometidas a una hidrólisis enzimática del ácido fítico. También se analizó el contenido de ácido fítico, fibra y hierro para relacionarlos con la disponibilidad de este último.

Materiales

Se emplearon muestras de los siguientes materiales: Arroz blanco (grano largo) fortificado con hierro electrolítico (70% de partículas < 20 μ), de origen comercial (ABF).

Arroz integral fortificado: como este producto no se encuentra en el comercio se prepararon mezclas de ABF con dos niveles de salvado de arroz del mismo origen

ABF2 : 10 g de ABF + 0,5g de salvado

ABF3 : 10 g de ABF + 1g de salvado

Al expresar como porcentaje el contenido de salvado en las mezclas, las muestras ABF, ABF2 y ABF3 contenían 0%, 4,76% y 9,09% respectivamente.

Las mezclas se prepararon para cada una de las determinaciones de modo de asegurar una distribución homogénea de los componentes.

El salvado contenía: 30,45g de fibra; 10 mg de hierro y 5,96 g de ácido fítico por 100g.

Tratamiento de las muestras: Las muestras de arroz fueron molidas en un molinillo doméstico (Moulinex) provisto de cuchilla de titanio. Las mezclas ABF, ABF2 y ABF3 fueron cocidas en agua desionizada de acuerdo a la proporción arroz:agua (1:2,5) aconsejada por la firma comercial, a 250 °C en un calentador Heindolph MR 2002, hasta consumición total del agua.

Métodos

- Hierro total, por absorción atómica previa mineralización en mezcla HNO₃-HClO₄ (60:40). Se determinó en el salvado y en las muestras ABF, ABF2 y ABF3. En las muestras con hidrólisis enzimática no se consideró necesario debido a que el aporte de hierro de la solución de fitasa es insignificante. Las determinaciones se hicieron por quintuplicado
- Fibra dietaria total, de acuerdo al método AOAC 985.29 (15). Los valores obtenidos fueron corregidos, por su contenido de almidón residual, de manera tal que representaran únicamente al material que forma parte de las paredes celulares (16). Para ello, el residuo obtenido en la determinación de fibra fue gelatinizado con agua (100°C. 20 min.), tratado con KOH 2M, e incubado con amiloglucosidasa (pH 4.75, 60°C, 30 min.), filtrado, secado y luego pesado. Los análisis se hicieron por triplicado
- Acido fítico, según el método AOAC 966.11 (15). Para ello se extrajeron las muestras (10-11g) con 200 ml de ácido clorhídrico al 2,4%.
- Hidrólisis del ácido fítico. La muestra cruda de ABF (10g), fue suspendida en 25 ml de agua desionizada e incubada (15h, pH 5,5 a 55°C) con 60 mg de fitasa de trigo (Sigma P 1259) en un baño de agua con agitación continua.

Debido al mayor contenido de ácido fítico de las muestras ABF2 y ABF3, para poder hidrolizarlo fue necesario activar la fitasa endógena además de agregar posteriormente fitasa de trigo (10), en mayor cantidad que para ABF. Para ello, las muestras se suspendieron en 25 ml de agua desionizada, se incubaron a pH 5.5, 24 horas a temperatura ambiente, con agitación constante; se agregaron 80 mg de fitasa y se aplicaron las mismas condiciones de incubación que las empleadas con la muestra ABF. Para frenar la actividad enzimática, todas las muestras una vez hidrolizadas se sometieron a un cocimiento en las condiciones señaladas anteriormente. Los análisis se hicieron por triplicado.

Disponibilidad del hierro, según el método de M. Kapsokfalou y D. Miller (17) modificado por M.E. Valencia y col. (18). A las muestras (10-11 g), se les agregó ácido clorhídrico 6N de manera tal de obtener 100 g de una suspensión homogénea de pH 2 que a continuación se incubó con 3,2 mL de una suspensión de pepsina (Sigma P-7000) en ácido clorhídrico 0,1 N (4 g: 100 mL) a 37 °C durante dos horas, con agitación.

Dos alícuotas de 15 g del digerido pepsínico se vertieron en recipientes en los cuales se había colocado previamente bolsas de diálisis (Spectrapore, cut-off de peso molecular 6000-8000) que contenían 18,75 mL de solución tampón PIPES (sal disódica del ácido piperazine-N, N-bis2 etano sulfónico; Sigma P-3768) 0,5 M pH 6.3. Las muestras se incubaron en baño de agua a 37°C con agitación hasta que el digerido alcanzó pH 5. Luego se agregaron 3,75 mL de una mezcla de 0,5g de pancreatina porcina (Sigma P-1750) y 3g de bilis (Sigma B-8631) en 250 mL de NaHCO₃ 0,1 N y se incubaron durante 90 minutos más. El pH de la solución tampón PIPES a utilizar fue establecido tras ensayos previos sobre la matriz alimentaria en estudio hasta obtener un pH final de 6,2±0,1 al final de la segunda incubación.

Se retiraron las bolsas de diálisis, y sus contenidos se llevaron a un volumen de 25 mL con agua desionizada. El hierro dializado se midió directamente por absorción atómica. El hierro total se midió sobre tres alícuotas de 5 g del digerido pepsínico mineralizados con 10 mL de una mezcla nitroperclórica (60:40). Simultáneamente se leyeron blancos de reactivos.

Como hierro disponible in vitro se considera al hierro dializado que se obtuvo de la relación:

$$\% \text{ hierro dializado} = \frac{D}{P \times F} \times 100$$

Donde

D = Hierro dializado (g)

P = Peso de la muestra digerida (g)

F = Hierro total en la muestra digerida (g)

Los análisis se realizaron por triplicado

Análisis estadístico

Los valores medios de contenido de fibra, ácido fítico y la disponibilidad del hierro se compararon mediante el análisis de varianza de un factor (ANOVA). Para los tests a posteriori se utilizó el test de comparaciones múltiples de Tukey-Cramer.

Para establecer la relación entre la disponibilidad del hierro y el contenido de fibra y de ácido fítico, se ajustó un modelo de regresión múltiple. A continuación, con los valores promedios correspondientes, se calculó la recta de regresión que relaciona al logaritmo del % de hierro dializable con el principal agente inhibitorio.

Los estudios estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS 7 (19).

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestra el contenido de hierro, fibra y ácido fítico en el arroz con distintas cantidades de salvado antes y después de haber sido sometidos a la incubación con fitasa.

TABLA 1
Contenido de hierro, fibra, ácido fítico, y disponibilidad del hierro en las muestras de arroz antes y después de la hidrólisis con fitasa.

Muestras	Hierro mg / 100g	Fibra g / 100g	Ac. fítico mg /100g	Hierro diali- zable %
ABF (Salvado: 0%)	6,81±1,761	1,50 ±0,06a	325 ±59a	9,65 ±1,62 ^a
ABF + fitasa	—————	1,52±0,04a	ND	28,20±2,60d
ABF2 (Salvado: 4,76%)	7,14±1,15	2,84±0,09b	560±46b	4,04 ±1,10b
ABF2+ remojo + fitasa	—————	2,32±0,18c	22±12c	27,95±2,70d
ABF3 (Salvado: 9,09%)	7,80±0,91	4,39±0,02d	671±27d	1,82±0,28c
ABF3 +remojo + fitasa	—————	3,78±0,03e	28±16c	25,30±7,40d

1 : Valor promedio ± DS. Los resultados se expresaron en base húmeda (11 g /100g)

ND: No detectable

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los valores (p >0,05).

La concentración de hierro en ABF, 6,81 mg/100g, comprende el contenido natural de hierro del arroz blanco pulido, 0,24 mg /100g, valor determinado en otras muestras de ese tipo de arroz, más la fortificación con hierro electrolítico realizado en el establecimiento elaborador. En las muestras ABF2 y ABF3 aumentó ligeramente en función del contenido de hierro del salvado agregado, 7,14 y 7,80 mg /100g, respectivamente.

Como era de esperar, la concentración de fibra determinada en ABF, 1,50 g/100g, aumentó significativamente por el agregado de salvado alcanzando valores de 2,84 y 4,39 g/100g en ABF2 y ABF3 respectivamente. Cuando se realizó el tratamiento enzimático para hidrolizar al ácido fítico, la concentración de fibra no varió en la muestra ABF (p>0.05). En las muestras a las que se les agregó salvado, la fibra disminuyó significativamente (p<0.001) un 18% y un 14% para las muestras ABF2 y ABF3 respectivamente.

La concentración de ácido fítico también aumentó en ABF2 y ABF3 por el aporte realizado por el salvado, llegando a valores de 560 y 671 mg/100g para las muestras ABF2 y ABF3 respectivamente.

Los resultados de la incubación con fitasa mostraron que las condiciones empleadas en la muestra ABF, que contenía 325 mg /100g, fueron óptimas ya que la hidrólisis del ácido fítico fue total. En las muestras con mayor cantidad de ácido fítico, a pesar de haber activado a la fitasa endógena con una incubación previa y de haber agregado una mayor cantidad de fitasa de trigo quedó un residuo de 22 y 28 mg /100g en las muestras ABF2 y ABF3, respectivamente. El hierro dializable disminuyó en forma significativa ($p < 0,05$) a medida que aumentó la presencia de salvado, de manera tal que los resultados obtenidos fueron 9,65 %, 4,04 % y 1,82 % del hierro total para ABF, ABF2 y ABF3 respectivamente, con concentraciones de ácido fítico que variaron entre 325 y 671 mg/100g.

La hidrólisis del ácido fítico produjo notables incrementos del hierro dializable lo que permitió comprobar su efecto inhibitorio. Se obtuvieron valores semejantes ($p > 0,05$) de hierro dializado en las muestras que fueron sometidas a hidrólisis con fitasa, 28,20%, 27,95%, y 25,30% para los arroces ABF, ABF2 y ABF3 con concentraciones de ácido fítico que oscilaron entre 0 y 28 mg/100g.

El análisis de regresión múltiple entre los valores de disponibilidad del hierro y las concentraciones de fibra y ácido fítico dio la siguiente ecuación

$$y = 1,557 - 0,045 x_1 - 0,0015 x_2 \quad r^2 = 0,90$$

donde

$$\begin{aligned} y &= \log. \text{ hierro disponible (\%)}, \\ x_1 &= \text{ Fibra (g /100g) } \text{ y} \\ x_2 &= \text{ Acido fítico (mg/100g)} \end{aligned}$$

La regresión resultó altamente significativa ($p < 0,001$). El coeficiente correspondiente a la fibra no fue significativamente diferente de 0 ($p > 0,25$), por el contrario el coeficiente que corresponde al ácido fítico fue altamente significativo ($p < 0,001$). El modelo explica que el 89% de la variación de la disponibilidad del hierro se debe al ácido fítico.

En la Figura 1 se puede observar la recta estimada que describe la relación entre el logaritmo del porcentaje de hierro dializado y la concentración de ácido fítico, que responde a la ecuación:

$$\text{Log hierro dializado (\%)} = 1,47 - 0,0017 \text{ ácido fítico (mg/ 100 g)} \\ r^2 = 0,98$$

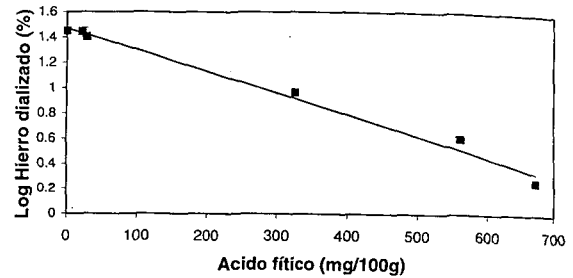
La regresión resultó altamente significativa ($p < 0,001$).

DISCUSION

Los granos de cereales son particularmente ricos en ácido fítico y éste constituye más del 80% del fósforo total. La mayor concentración se encuentra en los tegumentos externos, pericarpio y aleurona. En el arroz, el ácido fítico presente en el salvado, representa el 80% del total (20).

FIGURA 1

Variación del logaritmo del hierro dializado en función de la concentración del ácido fítico (valores promedios)



La cantidad de tegumentos que queda en el grano y que es reflejado en el valor de fibra, varía aún para el arroz blanco, de acuerdo a la tecnología y a la variedad de arroz como así también con el método utilizado para la determinación de fibra. Así es que para el arroz integral se encuentran en la Tabla de composición de alimentos del Reino Unido valores entre 1,9 y 3,8 g/100g según se hayan determinado por el método de Englyst o el de Southgate (1) y 2,27 g/100g en las Tablas de composición de alimentos de Alemania (2); mientras que para el arroz integral nacional se obtuvo un valor de 5,37 g/100g por el método de AOAC 985.29, que pasó a 4,14 g/100g cuando se corrigió por el almidón residual (16). Luego las mezclas diseñadas para simular arroz integral fortificado ABF2 y ABF3, cubrirían los posibles niveles de fibra en el arroz integral.

Paralelamente al contenido de fibra, varía la cantidad de ácido fítico encontrándose valores para arroz blanco de 84 - 120mg/100g (9) y 270mg/100g (21); para arroz integral 565mg/100g (9) y 890mg/100g (2). Los valores determinados en las muestras que simulaban arroz integral alcanzaron niveles dentro del rango previsto.

Este trabajo contribuye a demostrar el efecto depresor del ácido fítico sobre la disponibilidad del hierro en el arroz, al aumentar ésta entre 3 y 12 veces cuando se hidrolizó el ácido fítico más allá del 96% de su contenido, llegando a 22mg/100g. Estos resultados coinciden con los de otros autores (10) que trabajaron con otros cereales en los que señalan que el ácido fítico debe ser degradado hasta un nivel menor a 0,5 $\mu\text{M/g}$ (0,330 mg/g), para eliminar el efecto sobre la disponibilidad del hierro. Brune y col. obtuvieron en humanos valores altos de absorción, alrededor de 24%, con alimentos panificados que contenían entre 21 y 29 mg de ácido fítico (13).

A pesar de los numerosos trabajos realizados todavía es incierta la incidencia que tiene la fibra en la inhibición de la biodisponibilidad de los minerales debido a la diversidad que presenta su composición en los diferentes alimentos, a su

asociación con otros compuestos y a la metodología empleada en los ensayos (22). En este trabajo se observó que aunque la incubación con fitasa disminuyó el contenido de fibra en las muestras con agregado de salvado, los valores obtenidos para fibra no influyeron en la dializabilidad del hierro, Brune y col. (13) llegaron a la misma conclusión cuando analizaron el efecto de la fibra y del ácido fítico sobre la biodisponibilidad del hierro de panes con distinta cantidad y origen de fibra en humanos. Por otra parte, la disminución del contenido de fibra encontrada, respondería a la hidrólisis sufrida por los fitatos que según Frolich y Nyman (23) estarían parcialmente unidos a la fibra soluble.

Con respecto al hierro, los mismos autores señalan que el hierro endógeno del trigo se encuentra retenido en mayor proporción por la fibra insoluble, a diferencia de la avena en la que la mayor parte está unida a la fracción soluble rica en β -glucanos. Dado que por su composición la fibra del arroz se asemeja a la del trigo, se podría pensar que el hierro endógeno estaría retenido de la misma forma por la fibra insoluble. Es de señalar que el contenido de hierro endógeno de las muestras de arroz analizadas osciló entre 3% y 14,5% del total, correspondiendo el resto, 85,5-97%, al hierro electrolítico sobre el que posiblemente se observó el efecto del ácido fítico.

Finalmente, se puede concluir que en el arroz integral el incremento de hierro aportado por el salvado es muy pequeño como para contrarrestar el poder inhibitorio del ácido fítico del mismo origen. Por lo tanto para que este tipo de arroz realice un aporte de hierro a la dieta se debería fortificar con un nivel mayor al empleado en la fortificación del arroz blanco o combinarse con una cantidad adecuada de alimentos que estimulen la absorción del hierro como carnes, verduras y frutas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra. Mirta E. Valencia por su valiosa colaboración en la revisión crítica del manuscrito

REFERENCIAS

- McCance & Widdowson. The composition of foods .5th ed. Royal Society of Chemistry, Ministry of Agriculture, Fisheries and Foods, UK. 1993.
- Souci Fachmann Kraut. Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen. 5th ed. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart. 1994.
- Mazzei Puchulu Rochaix. Tabla de composición química de alimentos. 2a ed. CENEXA-FEIDEN, Argentina. 1995.
- Mod RR, Ory RL, Morris NM and Normand FL. Chemical properties and interactions of rice hemicellulose with trace minerals in vitro. *J. Agr. Food Chem.* 1981;29,449-454.
- Mod RR, Ory R, Morris NM and Normand FL. In vitro interactions of rice hemicellulose with trace minerals and their release by digestive enzymes. *Cereal Chem.* 1982;59 (6) 538-542.
- García López JS and Lee K. Iron binding by fiber is influenced by competing minerals. *J Food Sc.* 1985;50:424-428 .1985.
- Hallberg L, Rossander L, and Skanberg AB. Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. *Am J Clin Nutr.* 1987;45: 988-996.
- Hallberg L and Rossander L. Iron absorption in man: ascorbic acid and dose- dependent inhibition by phytate. *Am. J Clin Nutr.* 1989;49: 140-144.
- Tuntawiron M, Sritogkul N, Rossander L, Pleehachinda R, Suwanik R, Brune M and Hallberg L. Rice and iron absorption in man. *European J Clin Nutr.* 1990;44: 489-497.
- Sandberg AS and Svanberg U. Phytate hydrolysis by phytase in cereals; effects on in vitro estimation of iron availability. *J Food Sc* 1991;56 (5),1330-1333.
- Hurrell RF. Bioavailability of iron. *European J Clin Nutr.* 51, Suppl. 1, S4-S 8 .1997
- Davidsson L, Galan P, Cherouvrier F, Kastenmayer P, Juillerat M-A, Hercberg S and Hurrell RF. Bioavailability in infants of iron from infant cereals: effect of dephytinization. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:916-920 .
- Brune M, Rossander-Hutén L, Hallberg L, Gleeurup A and Sandberg A-S. Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereals fiber phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. *J Nutr.* 1992;122 (3) 442-449.
- Zhou JR and Erdman JW. Phytic acid in health and disease. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 1995;35 (6):495-508.
- Official Methods of Analysis. 15th. Ed, AOAC, Arlington, VA. 1990.
- Sambucetti ME and AZuleta .Resistant starch in dietary fiber values measured by the AOAC method in different cereals. *Cereal Chem.* 1996;73 (6): 759-761.
- Kapsokefalou M, Miller D. Effectes of meat and selected food components on the valence of non-heme iron during in vitro degestion. *J Food Sci.* 1991;56: 352-355.
- Valencia ME, Wolfgor R, Rodriguez V, y Pellegrino N. Evaluación de cereales fortificados como aportadores de hierro. *Revista de la Sociedad Argentina de Nutrición* 1996;7 (2): 33-37.
- SPSS.75. Paquete estadístico y Guía del Usuario. SPSS Inc. Chicago. 1997.
- Odell BL, Boland AR de and Koirtyohann SR. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J Agr Food Chem.* 1972;20 (3): 718-721.
- Harland BF and Oberleas D. Anion exchange method for determination of phytate in foods: Collaborative study. *J .Off Anal Chem.* 1986;69: 667-670.
- Torre M, Rodriguez A. R. y Saura-Calixto F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition* 1991;1(1): 1-22.
- Frolich W. and Nyman M. Minerals, phytate and dietary fiber in different fractions of oat-grain. *J Cereal Sc.* 1988;7, 73-82.

Recibido: 09-03-2000

Aceptado: 22-05-2000

Efeito da extrusão termoplástica no teor de lisina disponível da farinha desengordurada de grão-de-bico (*Cicer arietinum*, L.)

Maria Filomena Claret Fernandes de Aguiar Valim, José Paschoal Batistuti

Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Araraquara SP - Brasil

RESUMO. Amostras de farinha desengordurada de grão-de-bico (*Cicer arietinum*, L.) contendo diferentes teores de umidade inicial (13%, 18% e 27%) foram submetidas ao processo de extrusão termoplástica e, em seguida, foi realizada a avaliação de seus teores de lisina disponível. Foi verificado que o processo de extrusão provocou perda de 58% e 55% na lisina disponível nas farinhas com teores de umidade de 13% e 18%, respectivamente. Na farinha de grão-de-bico com 27% de umidade inicial, a perda de lisina disponível foi de 71%, após o processo de extrusão.

Palavras-chave: Grão-de-bico, extrusão termoplástica, lisina disponível

SUMMARY. Effect of thermoplastic extrusion on lysine availability of chickpea (*Cicer arietinum*, L.) flour. The aim of this research was to evaluate lysine availability of chickpea (*Cicer arietinum*, L.) flour submitted to thermoplastic extrusion at three feed moisture levels (13%, 18% and 27%). It was verified that extrusion treatments reduced available lysine by 58% and 55% at 13% and 18% feed moisture levels. The major lysine loss, 71%, was verified at 27% feed moisture level.

Key-words: Chickpea, thermoplastic extrusion, lysine availability

INTRODUÇÃO

A extrusão termoplástica é uma ferramenta tecnológica de múltiplas aplicações, tanto para o preparo de alimentos prontos (*snacks*, macarrão), como para a produção de novos ingredientes para a indústria de alimentos (amidos modificados, farinhas pré-cozidas para uso em panificação, proteínas vegetais texturizadas).

Ao lado de outros benefícios tecnológicos, comuns a todo processamento térmico, como a destruição de substâncias tóxicas e anti-nutricionais e o aumento da digestibilidade e a inativação de enzimas, a extrusão termoplástica oferece a possibilidade de modificar as propriedades funcionais dos alimentos (1).

No extrusor o alimento é submetido a um processo que combina cisalhamento mecânico e calor que provoca a gelatinização do amido e a desnaturação do material protéico criando novas texturas e formas (2). Outra característica do processo de extrusão é sua versatilidade que permite através de pequenas modificações em seus elementos básicos, a produção de uma ampla variedade de produtos.

Durante a extrusão, a proteína é transformada em estruturas orientadas e fibrosas, que com o movimento helicoidal do extrusor, são depositadas umas sobre as outras e no final da matriz emergem em camadas de fibras como em um músculo.

As proteínas, quando submetidas à processamento térmico, podem sofrer danos causados por diferentes tipos de reação: destruição de aminoácidos por oxidação, modificação de algumas

ligações entre aminoácidos de modo que sua liberação é retardada durante a digestão e, formação de ligações que não são hidrolisadas durante a digestão, provocando perda de disponibilidade biológica (3).

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de lisina disponível na farinha de grão-de-bico após o processo de extrusão termoplástica, com diferentes teores de umidade, pois dentre as reações que são favorecidas pelas condições de alta temperatura e cisalhamento empregadas durante a extrusão, destaca-se a reação de Maillard ou reação de escurecimento não-enzimático. Esta reação ocorre através da condensação dos grupos amino livres de aminoácidos (geralmente o grupo ϵ -NH₂ dos resíduos de lisina) e os grupos carbonila de açúcares redutores (glicose, frutose, lactose ou maltose), provocando diminuição do teor de lisina disponível no alimento extrusado (3).

O grão-de-bico ocupa a quinta posição dentre as leguminosas de maior produção no mundo e de acordo com pesquisas realizadas pela Seção de Leguminosas do Instituto Agronômico de Campinas, pode se tornar uma importante opção agrícola para o Estado de São Paulo para semeadura no período de fevereiro a abril.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum*, L.) variedade «IAC Marrocos», fornecidas pelo Instituto Agronômico de Campinas.

Métodos

Obtenção da farinha desengordurada de grão-de-bico

Após a separação manual de grãos quebrados e impróprios, as sementes de grão-de-bico foram trituradas em moinho de martelo (Máquinas Cordeiro) com peneira de 1,0 mm de abertura. A seguir, a farinha foi desengordurada com éter etílico em extrator Soxhlet.

Condicionamento da farinha para a extrusão termoplástica

Inicialmente, foi determinada a umidade inicial da farinha desengordurada, a seguir, a mesma foi dividida em 3 lotes. Para atingir a umidade desejada (13,18 e 27%, respectivamente para cada lote), foi adicionada água lentamente por aspersão direta sobre a farinha, em constante agitação, em misturador Arno.

As farinhas umidificadas tiveram seu tamanho de partícula uniformizado em peneiras com abertura de 1 mm, e foram armazenadas em sacos plásticos e estocadas em geladeira.

Extrusão termoplástica

O processo de extrusão termoplástica foi conduzido em extrusor de laboratório marca Miotto nas seguintes condições de operação estabelecidas por Batistuti et al. (4): taxa de compressão 4:1; velocidade de rotação do parafuso 200 rpm; diâmetro da matriz 4 mm; temperatura zona de alimentação: 125°C - zona de compressão: 135°C - zona de saída: 115°C e alimentação manual.

Composição da farinha

Umidade, proteína, gordura (extrato etéreo) e cinzas foram determinadas conforme método padrão da AOAC (5). O teor de carboidratos foi determinado por diferença.

Determinação de lisina disponível:

Foi utilizado o método de Kakade & Liener (6) e modificado por Ruiz (7).

Análise estatística:

Os resultados obtidos na determinação do teor de lisina disponível foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de média de Tukey utilizando-se os programas do pacote estatístico SAS (8).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos na determinação da composição centesimal da farinha de grão-de-bico. Os valores de todos os constituintes da farinha estão na mesma faixa daqueles relatados por Chavan & Salunkhe (9) e Avancini et al (10).

Determinação do teor de lisina disponível

O termo lisina disponível ou lisina potencialmente

biodisponível indica a quantidade de lisina utilizada para a manutenção ou crescimento de um novo tecido, após seu consumo por seres humanos ou animais (11,12).

TABELA 1

Composição química aproximada da farinha de grão-de-bico*.

	Farinha Integral (g / 100 g)	Farinha Desengordurada (g / 100 g)
Proteína	14,10 0,48	20,27 1,50
Umidade	16,30 0,23	5,74 0,09
Lipídeos	8,60 0,60	2,90 0,49
Cinza	2,79 0,13	3,46 0,50
Carboidratos	58,21 1,08	67,63 1,86

* Média de determinações em triplicata desvio padrão

A quantificação direta do teor de lisina disponível nos alimentos, pode ser realizada através de ensaios biológicos com animais de laboratório. Este tipo de ensaio, entretanto, é demorado e difícil de ser aplicado para monitoramento de rotina. Métodos químicos, baseados na reação dos grupos ϵ -NH₂ livres da lisina com o ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico (TNBS) em meio alcalino, com a produção do complexo ϵ -trinitrofenil (TNP)-lisina quantificado espectrofotometricamente, tem sido empregados para tornar a avaliação de lisina mais rápida e menos dispendiosa.

Dado que o TNBS pode ligar-se a outros grupos além dos ϵ -NH₂, faz-se necessário separar os ϵ -TNP derivados dos outros produtos, principalmente os α -TNP derivados. Neste sentido, deve-se hidrolisar extensamente a proteína após a reação da mesma com o TNBS e, a seguir, separar os produtos obtidos, contando com a vantagem dos ϵ -TNP derivados serem solúveis em água e os α -TNP derivados solúveis em éter etílico.

Na elaboração da curva padrão de hidrocloreto de lisina é necessário inicialmente bloquear o grupo α -NH₂ com Cu²⁺ e depois proceder-se à reação com o TNBS. Caso isto não seja realizado, ocorrerá a formação do α , ϵ -TNP di-derivado, que apresenta alta solubilidade em éter, conduzindo a falsos resultados. Neste trabalho a curva-padrão de hidrocloreto de lisina apresentou coeficiente de correlação de 0,99 e R²= 99,41%.

Os resultados obtidos na determinação dos teores de lisina disponível da farinha desengordurada de grão-de-bico e dos produtos extrusados, estão apresentados na Tabela 2. Pode-se verificar que o processo de extrusão termoplástica da farinha provocou uma perda significativa ($p < 0,0001$) de lisina disponível, entre 55% e 71% para os três produtos extrusados.

Esta perda pode ser visualizada nas Figuras 1 e 2 onde estão apresentados os espectros de absorção do complexo ϵ -trinitrofenil (TNP)-lisina da farinha desengordurada (A) e dos três produtos de extrusão (B, C e D) na faixa de 280 - 580 nm. Pode-se observar no espectro correspondente à farinha desengordurada (A), a presença do pico característico da lisina à 342 nm.

TABELA 2
Perda de lisina disponível durante extrusão termoplástica de
farinha desengordurada
de grão-de-bico.

AMOSTRA	Proteína (%)	Lisina Disponível (g/100 g proteína)	Perda (%)
Farinha Desengordurada	20,27	4,20 ^a	—
Farinha extrusada (13% umidade)	20,89	1,77 ^b	58
Farinha extrusada (18% umidade)	18,02	1,90 ^c	55
Farinha extrusada (27% umidade)	20,61	1,22 ^d	71

a, b, c, d - Números com letras diferentes numa mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes ($p < 0,0001$) entre si.

FIGURA 1
Espectros de absorção do complexo ϵ -trinitrofenil (TNP)-
lisina da farinha desengordurada de grão-de-bico (A) e da
farinha extrusada com 13% de umidade (B)

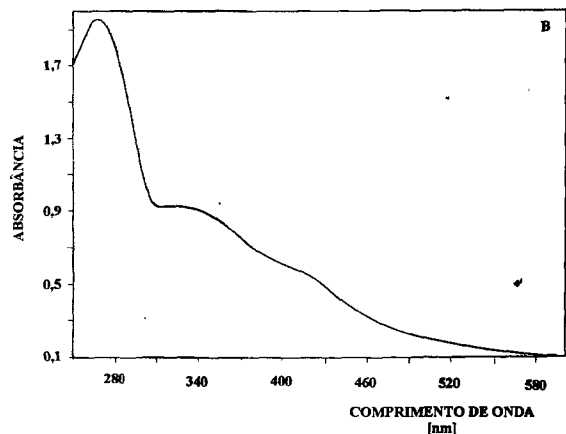
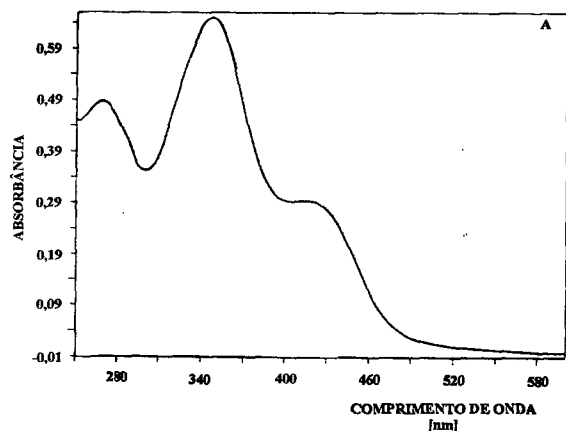
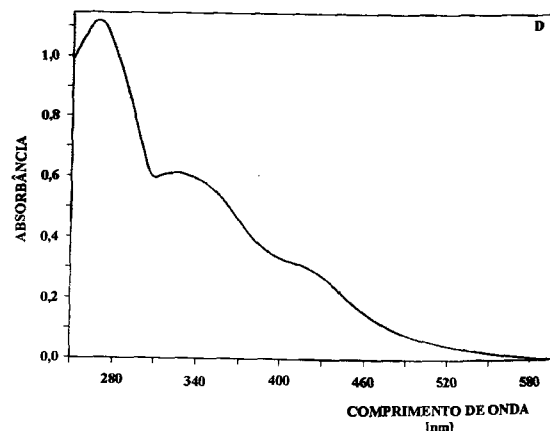
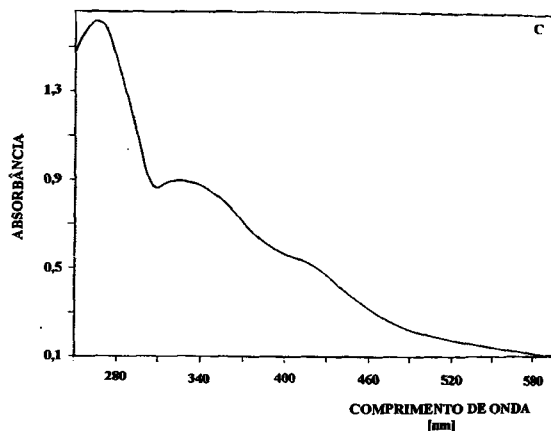


FIGURA 2
Espectros de absorção do complexo ϵ -trinitrofenil (TNP)-
lisina da farinha extrusada com 18% de umidade (C) e com
27% de umidade (D)



A diminuição no teor de lisina disponível foi também verificada por outros pesquisadores na extrusão de farinha de cereais e misturas de cereais e leguminosas (1).

De acordo com Cheftel (1) e Camire et al (3), os mecanismos envolvidos na perda de lisina disponível durante o processo de extrusão estão relacionados com as altas temperaturas empregadas no processo ($> 180^{\circ}\text{C}$) e cisalhamento (> 100 rpm) em combinação com o baixo teor de umidade do material a ser extrusado ($< 15\%$). Estes fatores são também responsáveis pela alteração das propriedades funcionais já verificadas após o processo de extrusão (13).

Uma das hipóteses apresentadas por Cheftel (1), para os mecanismos envolvidos na perda de lisina disponível durante o processo de extrusão propõe que em farinhas com teores de umidade mais baixos, os danos à lisina podem ser explicados

pelo aumento localizado da temperatura aliado às forças de cisalhamento no extrusor, que em conjunto com efeitos mecânicos provocariam a clivagem de ligações glicosídicas do amido ou de outros oligossacarídeos, favorecendo a reação de Maillard.

No presente trabalho, a extrusão da farinha com 13% de umidade provocou perda de lisina significativamente maior que no produto extrusado com 18% de umidade. Estes resultados mostram que o aumento da umidade inicial da farinha a ser extrusada, reduz a perda de lisina disponível após o processamento, pelo efeito do íon comum, uma vez que, a água é um dos produtos formados pela reação de Maillard.

Entretanto, na farinha extrusada com 27% de umidade, verificou-se perda porcentual de lisina disponível maior (71%). Este produto apresentou também coloração mais escura, evidenciando a ocorrência de reação de Maillard. Pham e Del Rosario, citados por Camire et al (3) também verificaram expressivas perdas de lisina disponível em farinhas de leguminosas submetidas ao processo de extrusão quando o teor inicial de umidade das farinhas era aumentado e a temperatura mantida constante.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que, a farinha de grão-de-bico pode ser utilizada para a obtenção de produtos extrusados, desde que as condições empregadas no processo sejam controladas evitando que a umidade da matéria-prima seja muito elevada ou muito baixa. Deve-se ressaltar, entretanto, que a expressiva perda de lisina disponível após o processo de extrusão termoplástica não invalida a proposta do processo como alternativa tecnológica para o consumo de grão-de-bico, já que produtos extrusados na forma de *snacks* são bastante apreciados e populares. Segundo Cheftel (1), os conhecimentos dos mecanismos envolvidos no processo de extrusão e a utilização de melhores equipamentos contribuirão para otimizar tanto a qualidade organoléptica como nutricional dos produtos extrusados.

AGRADECIMENTO

Este trabalho foi realizado com recursos do programa PADC/FCF - UNESP Araraquara, SP, Brasil.

REFERÊNCIAS

1. Cheftel JC. Nutritional effects of extrusion - cooking. *Food Chem.* 1986;20:263-83.
2. Harper JM. Extrusion processing of food. *Food Technol.* 1978; 32:67-72.
3. Camire ME, Camire A, Krumhar K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* 1990; 29:35-57.
4. Batistuti JP, Barros RMC, Arêas JAG. Optimization of extrusion cooking process for chickpea (*Cicer arietinum*, L.) defatted flour by response surface methodology. *J Food Sci.* 1991; 56:1695-8.
5. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis.* 15th ed. Washington, DC, 1990.
6. Kakade ML, Liener IE. Determination of available lysine in proteins. *Anal Biochem.* 1969; 27:273-80.
7. Ruiz W. *Proteólise do resíduo do extrato hidrossolúvel de soja.* Campinas, 233p. Tese (doutorado) Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola UNICAMP, 1985.
8. SAS Institute. *SAS Users Guide: statistics.* Cary, USA: SAS Inst., 1993.
9. Chavan JK, Salunkhe DK. Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum*, L.) seeds. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* 1986; 25:107-58.
10. Avancini SRP, Sales AM, Aguirre JM, Mantovani DMB. Composição química e valor nutricional de cultivares de grão-de-bico produzidos no Estado de São Paulo. *Col Ital* 1992; 22:145-53.
11. Carpenter KJ. Damage to lysine in food processing: its measurement and its significance. *Nutr Abstr Rev.* , 1973; 46:423-51.
12. Sgarbieri VC. *Alimentação e Nutrição.* Campinas: Editora da Unicamp, 1987.
13. Valim MFCFA, Batistuti JP. Functional properties of defatted chickpea (*Cicer arietinum*, L.) flour as influenced by thermoplastic extrusion. *Alim Nutr.* 1998; 9:65-75.

Recibido: 09-07-1999

Accepted: 04-05-2000

Propriedades funcionais da farinha e concentrado protéico de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp)

Ivone Yurika Mizubuti, Oswaldo Biondo Júnior, Luiz Waldemar de Oliveira Souza,
Rui Sérgio dos Santos Ferreira da Silva, Elza Louko Ida

Universidade Estadual de Londrina - UEL. Departamento de Zootecnia e Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos. Brasil.

RESUMO. O objetivo desta investigação foi estudar as propriedades funcionais da farinha e do concentrado protéico de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). A solubilidade de ambas amostras foi superior a 70% em pH acima de 6,7 e abaixo de 3,5. A capacidade de absorção de água e óleo foi de 1,2 e 1,07 ml/g de amostra e 0,87 e 1,73 ml/g de amostra de farinha e concentrado protéico, respectivamente. A concentração mínima de geleificação da farinha foi de 20% e do concentrado de 12%. A capacidade de formação e estabilidade da emulsão de farinha e de concentrado foram de 129,35 e 191,66g de óleo emulsificado/g de proteína, respectivamente, e a estabilidade da emulsão de 87,50 e 96,97%, respectivamente, após 780 minutos. A capacidade de formação e estabilidade da espuma de farinha foram de 36,0% e 18,61%, respectivamente, e do concentrado foram de 44,70% de espuma formada e 78,97% de espumas intactas aos 90 minutos. Estas propriedades indicaram possibilidades de aplicações em vários sistemas alimentares.

Palavras chave: Feijão guandu, concentrado protéico, propriedades funcionais.

SUMMARY. Functional properties of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) flour and protein concentrate. The objective of this investigation was to study the functional properties of Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) flour and protein concentrate. The solubility of both samples were superior than 70% at pH above 6.7 and below 3.5. The water and oil absorption were 1.2 and 1.07 ml/g of sample and 0.87 and 1.73ml/g of flour and protein concentrate samples, respectively. The minimum concentration of flour and protein concentrate needed for gelation was 20% and 12%, respectively. The emulsifying capacity of flour and concentrate was 129.35g and 191.66g oil/g of protein and the emulsion stability 87.50 and 96.97%, respectively, after 780 minutes. The foam capacity and stability of flour foam were 36.0% and 18.61, while of the concentrate were 44.70% and 78.97% after 90 minutes. These properties indicate that the flour as well as the concentrate could have application in various food systems.

Key words: Pigeon pea, protein concentrate, functional properties.

INTRODUÇÃO

O feijão guandu ou Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) é uma leguminosa da família Fabaceae de cultura perene, cultivada na Ásia, África e América do Sul (1,2), com produtividade média de 699 kg/ha, sendo que na República Dominicana e Trinidad, encontraram-se variedades que produziram 2.194 e 1.667 kg/ha, respectivamente (3). No Brasil, em 1990, o Instituto Agronômico do Paraná, lançou no mercado, a variedade anã e precoce de guandu denominada Iapar 43-Aratã, com boa produção de grãos/ha, com ciclo de 140 dias e facilidade de colheita. Supõe-se que a produção de feijão guandu seja razoável a nível de pequenas e médias propriedades, onde são exploradas como cultura de subsistência. Entretanto, não há descrições na literatura sobre dados atuais que indiquem a sua produção, produtividade, preço de mercado e consumo.

O feijão guandu contém de 21,1 a 28,1% de proteína bruta e apresenta boas características químicas (4,6). Porém, a sua utilização em diferentes sistemas alimentares necessita de

investigações adicionais quanto à funcionalidade das proteínas. A funcionalidade foi definida como qualquer propriedade de um ingrediente alimentar, com exceção da propriedade nutricional, que afeta a sua utilização (7).

Kinsella (8) descreveu que os ingredientes proteicos devem possuir propriedades intrínsecas (flavor, textura e cor) aceitáveis; bom valor nutricional e propriedades funcionais adequadas para uma variedade de aplicações, sendo estas últimas, importantes na determinação da qualidade do produto final, além de facilitar o processamento.

Do ponto de vista de aplicação alimentar, as propriedades como, hidratação, emulsão, formação de espuma, gelação, viscosidade, absorção de água e óleo, solubilidade, dispersibilidade, adesão, capacidade tampão, comportamento do fluxo, cor, flavor, sabor, propriedade de formação de filme, juntamente com as qualidades nutricionais, foram considerados importantes (7).

Várias investigações descreveram sobre as propriedades bioquímicas e funcionais de proteínas de leguminosas, tais como, soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (8-10); ervilha (*Pisum*

sativum L.) (11-13); great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) (14,15); winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) (16,17); grão de bico (*Cicer arietinum* L.) (18); tremoço (*Lupinus mutabilis* (19) e *Lupinus albus* (20)); cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (21,22) e feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) (23- 27).

O preparo de concentrados e/ou isolados protéicos seria uma das formas de efetivamente utilizar as proteínas de feijões secos para alimentação humana. Sathe et al. (7) postularam que quando se quer utilizar proteínas, para substituir as tradicionais em alimentos convencionais, há necessidade de investigar as propriedades funcionais de concentrados ou isolados protéicos para determinar em que sistema alimentar estes poderiam ser incorporados e efetivamente utilizados.

O objetivo desta investigação foi avaliar as propriedades funcionais das proteínas da farinha crua e do concentrado protéico de feijão guandu da variedade Iapar 43-aratã.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) da variedade Iapar 43 - aratã, cedidos pelo Instituto Agrônômico do Paraná (Londrina, Pr).

A farinha foi obtida através de moagem dos grãos integrais classificados com peneira de malha 60. O concentrado protéico foi obtido a partir da extração aquosa de proteína solúvel em pH 8,5 utilizando a relação líquido: sólido de 5:1 (v/p). O extrato protéico foi concentrado e seco por atomização em um secador marca ANHYDRO - Copenhagen, com emprego das seguintes condições: temperatura de entrada da câmara de 160°C; temperatura de saída da câmara de 90°C; bico rotativo de 25.000 rpm e pressão do produto para entrar no secador de 0,25 bar. A secagem foi feita pelo uso apenas do ar do exaustor e sem injeção de gás.

A solubilidade da proteína foi determinada conforme o método descrito por Morr et al. (28), com algumas modificações, como: ajuste do pH da dispersão de 2,0 até 9,0 e centrifugação de alíquotas dessas dispersões por 30 minutos a 10.000 xg.

A capacidade de absorção de água e óleo foram determinados, em temperatura ambiente, conforme procedimentos descritos por Lin et al. (29) e a capacidade de formação e estabilidade da espuma foram determinadas de acordo com Narayana & Narasinga Rao (16), e adaptadas para as nossas condições de laboratório.

A capacidade de formação de gel foi determinada conforme descrições de Sathe & Salunkhe (15) e Bencini (18) e a capacidade de formação e estabilidade da emulsão foram baseadas nas descrições de Sathe & Salunkhe (15).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

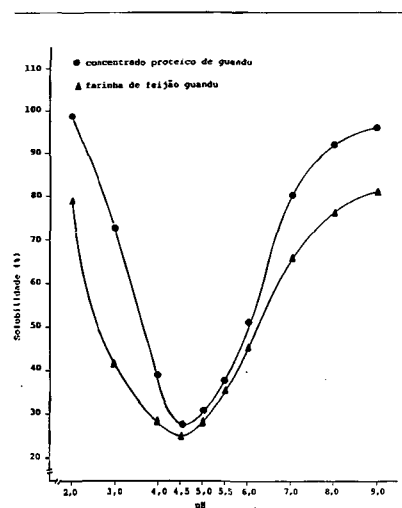
Solubilidade das proteínas

Na Figura 1, observa-se as variações na percentagem de

solubilidade das proteínas de farinha e de concentrado protéico de feijão guandu em função de diferentes pHs. A solubilidade mínima das proteínas de farinha foi de 25,62% e a de concentrado protéico foi de 27,82%, e ocorreu em pH ao redor de 4,5. A solubilidade acima de 70% foi observada em pHs superiores a 6,7 e 7,5, bem como em pHs inferiores a 3,5 e 2,5 para o concentrado protéico e farinha de feijão guandu, respectivamente.

FIGURA 1

Perfil de solubilidade de proteína da farinha e concentrado protéico de feijão guandu



A solubilidade mínima em pH ao redor de 4,5, também foi observada por Santanna Filho et al. (23) e Taha (24), em isolados protéicos e farinha de feijão guandu. Porém, Oshodi & Ekperigin (25), observaram que a solubilidade mínima da proteína da farinha de feijão guandu ocorreu em pH 5,0. Perfil similar de solubilidade de proteínas em função do pH foram descritos para diferentes tipos de leguminosas, tais como adzuki bean (*Vigna angularis* L.) (30), tremoço (*Lupinus mutabilis*) (19), Mesquite bean (*Prosopis juliflora*) (31), cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (21,22), winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) (17) e horse gram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) (32).

Proteínas de alta solubilidade são essenciais para obter ótima funcionalidade em produtos que requeiram propriedades de geleificação, emulsificação e formação de espuma (8). Assim, alta solubilidade da proteína do feijão e do concentrado protéico de guandu, em pH alcalino, indicaria sua possível aplicação na formulação de queijos, molhos, sopas, produtos de carne moída, massas e produtos de padaria e confeitaria. Entretanto, proteínas com alta solubilidade na região de pH ácido, como apresentado pela farinha e concentrado protéico do feijão guandu, poderiam ser aplicadas para formular alimentos ácidos como bebidas carbonatadas ricas em proteína (8, 25).

Capacidade de absorção de água e óleo

A propriedade funcional de absorção de água de uma proteína, segundo Naczki et al. (13), determina o seu grau de interação com água. Porém, Sathe et al. (17) e Sosulski & McCurdy (33) descreveram que a composição das frações proteicas em aminoácidos polares e apolares foram determinantes na resposta ao teste de capacidade de absorção de água e óleo. A Tabela 1 apresenta as propriedades de capacidade de absorção de água e óleo da farinha e concentrado protéico de feijão guandu.

Sathe et al. (19) consideraram a densidade da água igual a 1 g/ml e a densidade do óleo como 0,93 g/ml. Os resultados de capacidade de absorção de água e óleo deste trabalho foram transformados para g/g de amostra de acordo com Sathe et al. (19) para facilitar as comparações com os resultados encontrados na literatura. A capacidade de absorção de água da farinha de feijão guandu (tabela 1) foi similar à farinha de tremoço (*Lupinus mutabilis*) de 1,2 g (19) e maior do que a farinha de field bean (*Vicia faba* L.) de 0,78 g e farinha de faba bean (*Vicia faba* L.) de 0,72 g (33). Entretanto, este resultado foi inferior às farinhas de winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.) de 2,28 g (17), horse gram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) de 2,2 g, moth bean (*Vigna aconitifolium* (Jacq.) Marechal) de 2,2 g (32) e soja (*Glycine max* (L.) Merrill) de 2,40 a 1,75 g, citados respectivamente, por Kadam & Salunkhe (32) e Sosulski & McCurdy (33).

A farinha de feijão guandu apresentou absorção de óleo (Tabela 1) superior às farinhas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) de 0,56 a 0,8 g (33), field bean (*Vicia faba* L.) de 0,41 g e faba bean (*Vicia faba* L.) de 0,47 g (33). Porém, foi inferior às farinhas de tremoço (*Lupinus mutabilis*) de 1,67 g (19), winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.) de 2,03 g (17), cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) de 2,9 g (22), horse gram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) de 2,0 g e moth bean (*Vigna aconitifolium* (Jacq.) Marechal) de 1,6 g (32).

TABELA 1

Capacidade de absorção de água e óleo da farinha e concentrado protéico de feijão guandu, em base seca

Amostras	Absorção de líquido			
	ml/g de amostra		g/g de amostra	
	água	óleo	água	óleo
Farinha de feijão guandu	1,20	1,07	1,20	0,99
Concentrado protéico de feijão guandu	0,87	1,73	0,87	1,61

O concentrado protéico de feijão guandu apresentou absorção de água e óleo (tabela 01) menor do que o concentrado protéico de tremoço (*Lupinus mutabilis*) e de winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC), cujos valores de absorção de água foram de 1,37 g (19) e 3,52 g (17)

por grama de amostra, respectivamente, e os resultados de absorção de óleo foram, respectivamente, de 2,86 e 4,01 g/g de amostra. Sosulski & McCurdy (33) descreveram que os isolados protéicos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), field bean (*Vicia faba* L.) e faba bean (*Vicia faba* L.), apresentaram 2,65 g, 2,52 g e 2,16 g de água absorvida por grama de amostra, respectivamente, e absorção de óleo de 1,03 g, 0,98 g e 1,78 g, respectivamente.

Cheftel et al. (34) observaram que a absorção e a retenção de água pelas proteínas exercem importante papel na qualidade da textura de diversos alimentos, notadamente produtos cárneos e produtos de padaria, onde conferem propriedades adequadas de consistência, viscosidade e adesão. Da mesma forma, a capacidade de absorção de óleo, também foi requerida nas formulações de produtos cárneos, substitutos de carne e análogos, além de produtos de padaria e sopas (22). A capacidade de absorção de água e óleo do concentrado protéico de feijão guandu (Tabela 1), possivelmente poderiam ser utilizados em formulações de produtos cárneos, como salsicha e análogos de carne.

Capacidade de formação e estabilidade de espuma

A capacidade de formação de espuma da farinha e concentrado protéico de feijão guandu foram expressos em valores médios (Tabela 2) e representam a capacidade que a amostra possui em formar espuma após intervalo de 05 minutos de agitação e 30 segundos de formação de espuma.

TABELA 2

Capacidade de formação de espuma da farinha e concentrado protéico de feijão guandu

Amostra	Volume de espuma formado (ml)
Farinha de feijão guandu	36,00
Concentrado protéico de feijão guandu	44,70

A capacidade de formação de espuma está relacionada com o aumento percentual em relação ao volume inicial (17). Neste trabalho, os valores de aumento percentual de espuma são os mesmos valores de espuma formada em ml, porque o volume inicial ensaiado (antes da agitação) foi de 100 ml. As discussões são feitas considerando os aumentos percentuais de espuma para facilitar as comparações com os valores encontrados na literatura. A farinha e concentrado protéico de feijão guandu apresentaram (Tabela 2), respectivamente, 36,00 e 44,70% ou ml de espuma formado.

O pH inicial das suspensões de farinha e concentrado protéico de feijão guandu, foram de 6,05 e 6,95; respectivamente. Dessa forma, foi possível comparar os resultados com aqueles que utilizaram condições similares de ensaio e pH.

A capacidade de formação de espuma da farinha e concentrado protéico de feijão guandu indicaram que ambos

apresentaram baixa capacidade de formar espuma. Lin et al. (29), descreveram que a farinha, concentrado e isolado protéico de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) apresentaram 70, 170 e 235% de aumento de volume de espuma, respectivamente. Sosulski et al. (21) descreveram que farinha de cowpea descascada, concentrado protéico de cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), farinha de soja e concentrado protéico de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), apresentaram capacidade de formação de espuma de 155%, 258%, 248% e 98%, respectivamente. Da mesma forma, Bencini (18) observou para farinha de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) integral e desengordurada, e farinha de grão de bico (*Cicer arietinum* L.) integral e desengordurada, uma capacidade formadora de espuma, de 50%; 355% e 193%; 285%, respectivamente.

A capacidade de formação de espuma da farinha e do concentrado protéico também foi inferior, àqueles descritos para winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) de 76% e 150% em pH 4,6 e 9,8 respectivamente, para farinha (16) e 52% em pH 6,0, para concentrado (17). Entretanto, a capacidade formadora de espuma do concentrado protéico de guandu de 47% foi superior àqueles encontrados por Sathe et al. (19) para concentrado protéico de tremoço (*Lupinus mutabilis*) em pH 6,0 cujo valor foi de 40% de aumento de volume.

A baixa capacidade de formação de espuma da farinha e do concentrado protéico de feijão guandu poderia ser explicada pela descrição de Graham & Phillips citados por Sathe et al. (17) que observaram que as moléculas protéicas flexíveis tais como a -caseína reduziram rapidamente a tensão superficial conferindo uma boa capacidade espumante, enquanto que moléculas globulares (lisozimas) foram difíceis de desnaturar na superfície provocando uma baixa capacidade espumante. Além disto, Salunkhe et al. (3) descreveram que as globulinas de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) foram as maiores proteínas armazenadas, cujo teor variou de 60 a 70%. Essas proteínas globulares possivelmente tiveram dificuldades em desnaturar na superfície ocasionando baixa capacidade de formação de espuma nas amostras investigadas.

Kinsella (8), descreveu que a estabilidade da espuma dependia da concentração de proteína na interface, do seu desenrolamento e da associação hidrofóbica. Dessa forma, quando aumentava o espessamento do filme e viscosidade da espuma, ocorria redução do rompimento do ar e aumentava a sua estabilidade. As estabilidades das espumas de farinha e concentrado protéico de guandu foram determinadas através da diminuição do volume de espuma em função do tempo de 10 a 120 minutos. Os resultados (Tabela 3) estão expressos como volume em ml de espuma intacta.

Observa-se na Tabela 3, que a estabilidade da espuma de farinha de guandu diminuiu dentro de 30 minutos com uma perda de 54,72% de espuma. A partir de 30 minutos, houve redução gradual do volume de espuma sendo que aos 60 e 70 minutos os volumes mantiveram-se constantes, em 24,17% de

espuma, em relação ao total de espuma formada. Aos 120 minutos, observou-se que havia apenas 11,94% da espuma formada. A estabilidade da espuma do concentrado protéico de guandu diminuiu gradativamente sendo que aos 30, 60, 90 e 120 minutos, havia 91,05; 83,44; 78,97 e 65,55% de espumas intactas, respectivamente.

TABELA 3

Estabilidade da espuma de farinha e concentrado protéico de feijão guandu em função de diferentes tempos

Tempo (minutos)	Volume em ml de espuma intacta	
	Farinha	Concentrado
0	36,00	44,70
10	33,00	42,00
20	29,70	41,00
30	16,30	40,70
40	12,30	39,70
50	10,30	38,70
60	8,70	37,30
70	8,70	37,30
80	8,00	37,30
90	6,70	35,30
100	5,70	33,30
110	5,00	31,30
120	4,30	29,30

Capacidade de formação de gel

A concentração mínima de geleificação (CMG) da farinha e do concentrado protéico de feijão guandu foram de 20% e 12% (p/v), respectivamente. Porém, Oshodi & Ekperigin (25), determinaram a CMG em farinha de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) e encontraram valores de 12% (p/v).

A CMG de 20% na farinha de guandu foi superior àqueles apresentados por diferentes farinhas de leguminosas, tais como: 16% p/v no cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (22), 10% p/v no great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) (15), 14% p/v no tremoço (*Lupinus mutabilis*) (19), 16% p/v no grão de bico (*Cicer arietinum* L.) (18) e 18% p/v no winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) (17). Kinsella (18) relatou que a concentração de proteína foi importante na formação e na firmeza do gel. Entretanto, Sathe & Salunkhe (15), observaram que a geleificação não dependia apenas da quantidade de proteína, mas também do tipo de proteína e componentes não protéicos. Deste modo, Sathe et al. (19) constataram que géis de farinha de great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) foram mais firmes e os de farinha de tremoço (*Lupinus mutabilis*) foram relativamente fluidos e descreveram que tais variações nas propriedades geleificantes de diferentes farinhas de leguminosas poderiam ser devido a proporção relativamente diferentes dos constituintes, proteínas, carboidratos e lipídeos, sugerindo que a interação entre tais componentes poderiam exercer um papel significativo nas propriedades funcionais.

Outros fatores que contribuem para um alto valor de CMG possivelmente estão relacionados com altas proporções de proteínas globulares (17,15) e presença de casca na farinha (17).

A geleificação é frequentemente uma agregação de moléculas denaturadas e contrário à coagulação onde a agregação é casualizada, a geleificação envolve uma formação contínua de rede entrelaçada que exibe um certo grau de ordem. Aparentemente, a fração casca da semente, interfere na formação de tal rede contínua da molécula para formar gel (17).

Possivelmente os valores de 20% (p/v) encontrados para CMG da farinha de guandu foi devido à concentração e natureza das proteínas, além da presença de casca na farinha.

Por outro lado, os valores de CMG de 12% p/v, encontrado no concentrado protéico de guandu foi inferior àqueles encontrados para 14% p/v no concentrado protéico de winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) (17); 13% p/v no isolados protéicos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e 16% p/v no tremoço (*Lupinus mutabilis*) (20). Porém, foi superior ao concentrado protéico de great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) com 8% p/v (15) e tremoço (*Lupinus mutabilis*) com 8% p/v (19).

A baixa capacidade de formação de gel da farinha de feijão guandu indicou uma limitação de uso em produtos que requeiram esta propriedade. Porém, o concentrado protéico de feijão guandu apresentou boas características e perspectivas de uso em formulações cárneas, substitutos de carne e queijos.

Capacidade de formação e estabilidade da emulsão

Os resultados de capacidade emulsificante da farinha e do concentrado protéico de feijão guandu estão apresentados na Tabela 4. Esses foram determinados no pH = 6,05 da farinha crua e no pH = 6,95 do concentrado protéico.

TABELA 4

Capacidade emulsificante da farinha e concentrado protéico de feijão guandu

Amostra	óleo emulsificado		g/g amostra	Volume de emulsão formada (ml)
	g/g proteína	ml/g amostra		
Farinha de feijão guandu	129,35	31,38	29,23	237,33
Concentrado protéico de feijão guandu	191,66	105,83	98,58	285,33

Inicialmente os resultados de capacidade emulsificante foram expressos como grama de óleo emulsificado por grama de proteína, conforme descrições de Cheftef et al. (34). Entretanto, para finalidade de comparações de resultados, estes foram calculados e expressos também em ml de óleo

emulsificado/grama de amostra e grama de óleo emulsificado/grama de amostra.

O valor de capacidade de emulsificação da farinha de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp), de 129,35 g de óleo/g proteína foi inferior àqueles descritos por Batistuti & Freitas (26), em farinha de feijão guandu (*Cajanus flavus* DC) decorticado, cujo valor foi de 32,8 g óleo/100 mg de proteína. Foi também inferior aos valores descritos para farinha de outras leguminosas como: 39,6 g óleo/g amostra de great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) (15), 71,10 g óleo/g amostra de winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) (17), 55,1 g óleo/g amostra de tremoço (*Lupinus mutabilis*) (19), 115 g óleo/g amostra de cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (22), 372 ml óleo/g de amostra de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), 346 ml óleo/g amostra de field pea e 346 ml óleo/g amostra de faba bean (*Vicia faba*) (33).

O resultado de capacidade emulsificante do concentrado protéico de guandu de 191,66 g óleo/g proteína foi inferior àqueles encontrados por Batistuti & Freitas (26) para concentrado protéico de guandu (*Cajanus flavus* DC), que apresentou capacidade de 35,7 g óleo/100mg de proteína. Foi ainda, inferior ao valor de 222,20 g óleo/g amostra descrito para concentrado protéico de winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) (17). Entretanto, observa-se que o resultado do concentrado protéico de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) foi superior a 72,6 g óleo/g amostra apresentados para concentrado protéico de great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) e 88,9 g óleo/g amostra de concentrado protéico de tremoço (*Lupinus mutabilis*).

Cheftef et al. (34) descreveram que a propriedade emulsificante da proteína foi importante para vários produtos alimentares, tais como, creme de leite, glacês, manteiga, queijo fundido, maionese, carne finamente moída do tipo carne para salsichas e outros, além de que os constituintes protéicos exerciam uma função importante na estabilização do sistema coloidal. A estabilidade das emulsões da farinha e concentrado protéico de guandu estão apresentados na Tabela 5.

TABELA 5

Estabilidade das emulsões da farinha e concentrado protéico de feijão guandu a 780 minutos em temperatura ambiente

Amostra	Volume de água separada aos 780 minutos (ml)	% de estabilidade
Farinha de feijão guandu	29,67	87,50
Concentrado protéico de feijão guandu	8,63	96,97

Observa-se que a emulsão de concentrado protéico de feijão guandu apresentou maior estabilidade (96,97%) do que a farinha de feijão guandu (87,50%). O volume de água liberado aos 780 minutos ou 13 horas foi de 29,67 ml para a

emulsão de farinha e 8,63 ml para a emulsão de concentrado protéico de guandu.

As estabilidades apresentadas pelas emulsões de farinha e concentrado protéico de feijão guandu foram similares àqueles descritos para emulsões de farinhas e concentrados protéicos de tremoço (*Lupinus mutabilis*) (19) e de great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) (15), cujos volumes de água liberados, após 10 horas de repouso das emulsões de farinha foram, respectivamente, de 56 ml e 104 ml. As emulsões de concentrados, dessas leguminosas, não apresentaram liberação de água, durante esse tempo. Estes resultados de capacidade emulsificante e estabilidade das emulsões de farinha e concentrado protéico de guandu indicaram a possibilidade de utilização destes em formulações cárneas do tipo salsicha e lingüiça, substitutos de carne, molhos, sopas e bolos.

CONCLUSÃO

As propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp), tais como solubilidade da proteína em função do pH, capacidade de absorção de água e óleo, capacidade de formação de gel e capacidade de formação e estabilidade da emulsão, indicaram que há possibilidades de utilização deste produto na formulação de produtos cárneos, substitutos da carne, molhos e sopas. Por outro lado, a boa capacidade de formação e estabilidade da espuma indicou a possível utilização deste em produtos de padaria e confeitaria.

A farinha de feijão guandu não apresentou boas características funcionais indicando a necessidade de mais estudos para fins de aplicações alimentares.

REFERÊNCIAS

- Salunkhe DK, Kadam SS, Chavan JK. Postharvest biotechnology of food legumes. CRC Press, Inc. Flórida. 1985. 160p.
- Krishna TG, Bhatia CR. Vicilin from *Cajanus cajan* seeds. *Phytochem* 24(10):2201-2203, 1985.
- Salunkhe DK, Chavan JK, Kadam SS. Pigeonpea as an important food source. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr*, 23(2):103-145, 1986.
- Vilela ER, El-dash AA. Produção de farinha de guandu (*Cajanus cajan*, Millsp): moagem por via seca. *Bol SBCTA* 19(2):101-108, 1985.
- Singh U, Voraputhaporn W, Rao PV, Jambunathan R. Physicochemical characteristics of Pigeonpea and Mung bean starches and their noodle quality. *J Food Sci* 54(5):1293-1297, 1989.
- Souza PA, Souza HBA, Santos JE, Freitas O. Avaliação físico-química e nutricional de grãos de feijão-guandu (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp). *Alim Nutr* 3:51-62, 1991.
- Sathe SK, Deshpande SS, Salunkhe DK. Dry beans of phaseolus. A Review. Part 1. Chemical Composition: protein. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 20(1):1-46, 1984.
- Kinsella JE. Functional properties of soy proteins. *J AOAC* 56(3):242-258, 1979.
- Shiga K, Nakamura Y. Relation between desnaturation and some functional properties of soybean protein. *J Food Sci* 52(3):681-690, 1987.
- Amundson CM, Sebrank JG. Factors affecting emulsion capacity as a measure of protein functionality for nonmeat proteins. *J Food Sci* 55(1):267-270, 1990.
- Sumner AK, Nielsen MA, Youngs CG. Production and evaluation of Pea-protein isolate. *J Food Sci* 46(2):364-372, 1981.
- Johnson EA, Brekke CJ. Functional properties of acylated pea protein isolates. *J Food Sci* 48(3):722-725, 1983.
- Naczki M, Rubin LJ, Shahidi F. Functional properties and phytate content of pea protein preparations. *J Food Sci* 51(5):1245-1246, 1986.
- Sathe SK, Salunkhe DK. Solubilization and electrophoretic characterization of the great Northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins. *J Food Sci* 46(1):82-87, 1981.
- Sathe SK, Salunkhe DK. Functional properties of the great Northern bean proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *J Food Sci* 46(1):71-81, 1981.
- Narayana K, Narasinga Rao MS. Functional properties of raw and heat processed winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) flour. *J Food Sci* 47(5):1534-1538, 1982.
- Sathe SK, Deshpande SS, Salunkhe DK. Functional properties of Winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) proteins. *J Food Sci* 47(2):503-509, 1982.
- Bencini MC. Functional properties of drum-dried chickpea (*Cicer arietinum* L.) flours. *J Food Sci* 51(6):1518-1526, 1986.
- Sathe SK, Deshpande SS, Salunkhe DK. Functional properties of Lupin seed (*Lupinus mutabilis*) proteins and protein concentrates. *J Food Sci* 47(2):491-497, 1982.
- King J, Aguirre C, de Pablo S. Functional properties of lupin protein isolates (*Lupinus albus*, cv multolupa). *J Food Sci* 50(1):82-87, 1985.
- Sosulski FW, Kasirye-alemu EN, Sumner AK. Microscopic, nutritional and functional properties of Cowpea flours and protein concentrates during storage. *J Food Sci* 52(3):700-736, 1987.
- Abbey BW, Ibeh GO. Functional properties of raw and heat processed cowpea (*Vigna unguiculata*, Walps) flour. *J Food Sci* 53(6):1775-1791, 1988.
- Sant'anna filho R, Vilela ER, Gomes JC. Obtenção, caracterização e propriedades funcionais de isolados proteicos de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). *Cienc Tecnol Aliment* 5(2):94-110, 1985.
- Taha FS. Chemical studies on Pigeon pea protein. *Grasas y Aceites* 38(3):169-172, 1987.
- Oshodi AA, Ekperigin MM. Functional properties of Pigeon pea (*Cajanus cajan*) flour. *Food Chem* 187-191, 1989.
- Batistuti JP, Freitas SD. Propriedades de emulsão da farinha e do concentrado proteico de feijão guandu (*Cajanus flavus* DC.) cultivar fava larga. *Alim Nutr* 6:55-67, 1995.
- Canniaty-brazaca SG, Salgado JM, Mancini Filho J, Novaes NJ. Avaliação física, química, bioquímica e agrônômica de cultivares de feijão guandu (*Cajanus flavus* (Mill)). *Alim Nutr* 7:37-45, 1996.
- Morr CV, German B, Kinsella JE, Regenstein JM, Van Buren JP, Kilara A, Lewis BA, Mangino ME. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *J Food Sci* 50(6):1715-1718, 1985.

29. Lin MJY, Humbert ES, & Sosulski FW. Certain functional properties of sunflower meal products. *J Food Sci* 39(2):368-370,1974.
30. Tjahjadi C, Lin S, Breene WM: Isolation and characterization of adzuki bean (*Vigna angularis cv Takara*) proteins. *J Food Sci* 53(5):1438-1443, 1988.
31. Del Valle FR, Escobedo M, Muñoz MJ, Ortega R, Bourges H. Chemical and nutritional studies on Mesquita beans (*Prosopis juliflora*). *J Food Sci* 48(3):914-919, 1983.
32. Kadam SS, Salunkhe DK. Nutritional composition, processing, and utilization of Horse gram and moth bean. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 22(1):1-26, 1985.
33. Sosulski FW, McCurdy AR. Functionality of flours, protein fractions and isolates from Field peas and Faba beans. *J Food Sci* 52(4):1010-1014, 1987.
34. Cheftel JC, Cuq JL, Lorient D. Proteines alimentaires. Technique et documentation. *Lavoisier*, Paris, 1985. 309p.

Recibido: 23-06-1999

Aceptado: 26-06-2000

Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas

Gisell C. Alfonzo González

Facultad de Medicina. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.

RESUMEN. En la década de los setenta, se propuso que el consumo deficitario de fibra dietética contribuía tanto al sobrepeso como al padecimiento de enfermedades cerebrovasculares y del aparato digestivo. En la actualidad se ha demostrado ampliamente su efecto beneficioso, así como su acción (proporcional al tipo de fibra ingerida) sobre las patologías relacionadas. El propósito de presente trabajo fue comprobar que el tratamiento térmico modifica el contenido de Fibra Dietética Total (FDT), Fibra Dietética Soluble (FDS) y Fibra Dietética Insoluble (FDI) en las lentejas (*Lens culinaris*) y caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*), ambas especies de mayor consumo en el país y específicamente en el área metropolitana de Caracas. La determinación en el contenido de FDT y sus fracciones (FDS y FDI) se realizó mediante la aplicación del método enzimático gravimétrico (Prosky y cols. 1988). Los resultados indican diferencias significativas (Kruskal Wallis-Test 95% de confianza) en el contenido de FDT y sus fracciones entre las leguminosas crudas y las sometidas a los tratamientos térmicos. La FDI predominó en todos los casos, hecho que por los efectos positivos que la caracterizan aparentemente favorecen a los consumidores de estas leguminosas. Sobre estos hallazgos se considera importante continuar con el análisis químico de los constituyentes de la FDT generados después de la cocción de estas leguminosas.

Palabras clave: Fibra dietética, tratamiento térmico, caraotas, lentejas.

SUMMARY. Effect of thermal treatment on total dietetic fiber, soluble and insoluble contents in legumes. During the seventies it was proposed that the deficient intake of dietetic fiber contributed both to the overweight and the suffering of brainvascular and digestive diseases. At the moment, its beneficial effect (which is proportional to the type of fiber consumed) has been widely demonstrated for its action on related diseases. The purpose of this paper was to prove that thermal treatment modifies the content of Total Dietetic Fiber (TDF), Soluble Dietetic Fiber (SDF) and Insoluble Dietetic Fiber (IDF) in lentil (*Lens culinaris*) and black beans (*Phaseolus vulgaris*), both species of high intake in the country, especially in Caracas. The determination of TDF and its fractions (SDF and IDF) was performed through the application of the gravimetric enzymatic method (21). The results indicate significant differences (Kruskal-Wallis Test 95% of confidence) in the contents of TDF and its fractions, between the crude legumes and those subject to thermal treatment. The IDF was predominant in all cases and according to its positive effects apparently favors the consumers of these legumes. On the basis of these findings, it is considered important to continue the analysis of the TDFs constituents generated after the cooking of these legumes.
Key words: Dietetic fiber, thermal treatment, black beans, lentils.

INTRODUCCION

Las leguminosas constituyen una buena fuente de carbohidratos, proteínas de origen vegetal y fibra dietética, además representan una importante opción en la dieta de las familias de estratos socioeconómicos bajos. Algunos autores las han identificado como la carne del pobre (1), fundamentados en los hábitos de gran parte de la población latinoamericana, y en particular de la región central del país, donde se complementa con cereales, combinación muy usual en estos grupos sociales, que brinda un número y proporción de aminoácidos esenciales que optimizan la calidad y el valor biológico de estas preparaciones. De acuerdo a esto, los cereales y las leguminosas complementan entre sí la calidad de sus proteínas (2,3).

Hipsley (4), fue el primero en emplear el término fibra dietética, al referirse a la pared divisoria de las células de los vegetales consumidos por los humanos, mientras que Burkitt (5), le da un carácter más científico al responsabilizarlas de

efectos fisiológicos positivos, relacionados con la menor prevalencia de enfermedades intestinales en la población africana, hasta que Trowell (6), se refiere a este componente celular desde el punto de vista químico. Cuatro años más tarde, Jenkis (7), sostiene que los polisacáridos ingeridos con las comidas reducen la glucosa posprandial y supone que su efecto fundamental es incrementar la viscosidad de las preparaciones ingeridas, disminuyendo la tasa inicial de transporte y como consecuencia la disponibilidad de nutrientes en el intestino.

Actualmente se aceptan términos como almidones resistentes y polisacáridos no almidones para identificar los componentes de la fibra dietética (8-10). Las propiedades físico-químicas que caracterizan a la fibra dietética están asociados con la variedad de sus componentes, condición que les confiere diferencias desde el punto de vista fisiológico a las fracciones que la constituyen, de manera muy particular la fracción

insoluble es capaz de captar agua hacia la luz intestinal, lo que mejora el proceso de fermentación por acción de la flora bacteriana en el colon, incrementa la velocidad del tránsito intestinal y actúa como antioxidante. Estos efectos resultan útiles tanto en la prevención como en el tratamiento de la diabetes mellitus, trastornos cardiovasculares, constipación, diverticulitis y cáncer de colon entre otros. El efecto protector de la fibra en el cáncer de colon está estrechamente relacionado con el bajo consumo de calorías y el incremento del consumo de vitaminas A, C, Y E que se logra con una dieta rica en vegetales (11,12).

La flatulencia, producto del efecto de los elementos antinutricionales presentes en la dieta, es el factor que disminuye el consumo de leguminosas a mayor escala, sin embargo, las amas de casa atenúan este inconveniente sometiendo a los granos a una serie de procedimientos caseros que merman esta condición negativa, entre varios podemos citar el remojo previo a la cocción (13,14). Otra característica de las leguminosas es la capacidad que tienen de incrementar su volumen y peso unas dos o tres veces del original, durante el proceso de cocción, debido al debilitamiento y lisis de las membranas celulares que recubren aproximadamente el 60 % de las células de almidón que las estructuran, variando de esta manera su composición.

Carnovale y Lintas (15), refirieron que un mismo tipo de tratamiento térmico puede tener efectos diferentes en el contenido de fibra dietética de los alimentos y señalaron que la cocción promueve el rompimiento de sus componentes (celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina, gomas), además de propiciar la interacción y enlace de estas sustancias con proteínas y lípidos, así como la generación de cambios cualitativos y/o cuantitativos sustanciales que varían la composición total de la fibra dietética al comparar el alimento crudo con el cocido. Asimismo, puede observarse contradicción entre autores, al reportar unos el incremento y otros la disminución de la fibra dietética posterior a la cocción (16).

Los cambios ejercidos por el tratamiento térmico en los componentes de la fibra de las leguminosas favorecen la acción de la fibra dietética per se, lo que sumado al consumo masivo que tienen las leguminosas por la población de escasos recursos del área metropolitana de Caracas, Venezuela, revisten de gran importancia a este rubro dentro de los hábitos alimentarios, por contribuir al mantenimiento de un estatus nutricional menos precario de la población en general (17,18). Las caraotas y lentejas aportan el 7% del consumo proteico y el 2.7 % de carbohidratos del venezolano, de acuerdo a la disponibilidad de alimentos para la población (19).

El objetivo del presente trabajo fue demostrar que el tratamiento térmico afecta el contenido de las fracciones de la fibra dietética de las leguminosas de mayor consumo en el área metropolitana de Caracas (caraotas y lentejas), no descartando la posibilidad de que se estén obviando aspectos relevantes del verdadero efecto fisiológico que pudiera tener el consumo de estas leguminosas.

MATERIALES Y METODOS

Selección de la muestra

Se seleccionaron caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*) y lentejas (*Lens culinaris*), basados en los siguientes criterios:

- Adquirirlas en el expendio de leguminosas que ofreciera la mayor variedad en el área metropolitana de Caracas.
- Que constituyera el mayor centro de acopio en lo referente a ubicación geográfica (centro del área metropolitana) y precios más bajos.
- Que funcionará como el mayor centro surtidor de leguminosas para los detallistas de las diferentes zonas de la ciudad.
- Que presentaran óptimas condiciones organolépticas y sin daño por parte de insectos.

Tratamiento

La cocción de las leguminosas sin remojo previo se realizó por:

Hervor prolongado: Se sometieron a cocción por separado, 500 g de caraotas negras y 500 g de lentejas (cantidad considerada como promedio para una comida en el núcleo familiar del venezolano), la textura requerida para el consumo se logró después de repetir tres veces la cocción de cada leguminosa, correspondiendo en promedio 125 minutos para las caraotas y 30 minutos para las lentejas.

Olla de presión: Se sometieron a cocción por separado, 500 g de caraotas negras y 500 g de lentejas (cantidad considerada como promedio para una comida en el núcleo familiar del venezolano) la textura requerida para el consumo se logró después de repetir tres veces la cocción de cada leguminosa, correspondiendo en promedio 10 minutos para las caraotas y 7 minutos para las lentejas.

Determinación de humedad: Se aplicó por cuadruplicado, el método descrito por AOAC (20) a cada una de las muestras, y se procedió a valorar el porcentaje de humedad.

Determinación de la fibra dietética: Para determinar la fibra dietética total y sus fracciones se usó el método recomendado por Prosky y cols. (21), utilizando para la hidrólisis enzimática amilasa termolábil, proteasa y amilogucosidasa (Kit TDFAB-2; Sigma Chemical Co. St. Louis), siguiendo el esquema establecido en el protocolo que se presenta en la Figura 1 y evaluando previamente la actividad de las enzimas en una muestra de avena en hojuelas: la filtración se realizó en crisoles pirex tipo C de porosidad N° 2 (astm40-60), utilizando celite libre de ceniza, como facilitador para una mejor filtración. La FDT se estimó sumando sus fracciones FDS y FDI.

FIGURA 1

Procedimiento para el análisis de la fibra dietética y sus fracciones recomendado por Prosky y cols. (21)

1g de las leguminosas crudas y 0.5g sometidas a tratamiento térmico deshidratadas, pulverizadas y homogeneizadas colocadas en beakers de cuello largo.

Incubación con α amilasa termoestable a pH 6.0, 15 minutos agitando suavemente cada 5 minutos hasta alcanzar una temperatura interna de 95°C.

Enfriar la solución hasta temperatura ambiente.

Ajustar pH a 7.5 ± 0.2 con 10 ml de NaOH 0.275 N. Ajustándolo con NaOH o HCl 0.325 M.

Agregar a cada beakers 50 mg/ml de proteasa en buffer fosfato 0.08 M, pH 6.0.

Incubación con agitación continua por 30 minutos hasta alcanzar una temperatura interna de 60°C.

Enfriar las soluciones hasta temperatura ambiente

Ajustar pH entre 4.0 y 4.6 con 10 ml de HCl 0.325 M, ajustando con NaOH o HCl.

Agregar 0.3 ml de Amiloglucosidasa a cada beaker, incubarlos con agitación continua por 30 minutos hasta que alcancen una temperatura interna de 60°C.

Precipitación por una noche con etanol 95%.

DETERMINACION

Fracción Insoluble

Fracción Soluble

Se analizó el residuo de los filtrados de dos muestras y dos blancos determinando cenizas (5 horas 525°C) y proteínas (Kjeldahl) usando los métodos descritos por AOAC (22,23).

Análisis estadístico

El contenido de FDT, FDS y FDI, de las leguminosas crudas y sometidas a tratamiento térmico (hervor prolongado y olla de presión), se comparó utilizando el test estadístico de Kruskal Wallis (24), apropiado para comparar y/o establecer

reducidos, como es el caso de este estudio (se replicaron cuatro veces los resultados para cada muestra). Los límites de significación estadística para estos análisis se establecieron en 5% ($p \leq 0.05$). En todo los casos se utilizó el paquete estadístico SPSS/PC (Statistics Package of Social Science for Personal Computer, estándar version).

RESULTADOS Y DISCUSION

Este estudio confirma los resultados reportados en investigaciones previas, que señalan a las leguminosas como una excelente fuente de fibra dietética (25). Los valores reportados en el análisis de la fibra dietética para las lentejas (*Lens culinaris*) se muestran en la Tabla 1.

TABLA 1

Promedio y variabilidad en el contenido de fibra dietética total (FDT), insoluble (FDI) y soluble (FDS), en lentejas (*Lens culinaris*) crudas y sometidas a tratamiento térmico

Fracción fibra	Tratamiento	g($X \pm SD$)
FDT	Cruda	25.73 \pm 0.79 a
	Hervor prolongado	30.07 \pm 0.26 b
	Olla presión	27.47 \pm 2.37 c
FDI	Cruda	23.65 \pm 0.85 d
	Hervor prolongado	25.56 \pm 0.95 d
	Olla presión	25.80 \pm 2.21 d
FDS	Cruda	2.08 \pm 0.09 e
	Hervor Prolongado	4.51 \pm 0.76 f
	Olla presión	1.67 \pm 0.21 g

Los valores representan las medias \pm la desviación estándar de 4 análisis. Para las lentejas crudas y sometidas a tratamiento térmico, los resultados se expresan en 100 g de la leguminosa en base seca. Valores con letras distinta indican diferencias estadísticas significativas entre las fracciones en los distintos tratamientos.

La materia seca en 100g de lentejas crudas fue de 88.27g (11.73% de humedad, materia seca en 100g de lentejas tratadas con hervor prolongado fue de 37.21g (62.79 % de humedad), materia seca en 100g de lentejas tratadas en olla de presión fue de 34.41g (65.59% de humedad). Al comparar la cantidad de fibra dietética total y sus fracciones en las lentejas crudas y las tratadas con hervor prolongado, se observó un aumento casi al doble de la fracción soluble en estas, mientras que las cocidas en olla de presión mostraron un valor disminuido en la FDS, lo cual podría deberse a la pérdida de algunos componentes de esta fracción de la fibra en el agua de cocción, a la cual habría también que analizarle el contenido de fibra (16). Estos resultados tuvieron diferencias significativas cuando se comparó el contenido de FDT y FDS en las muestras

de lentejas crudas y las sometidas a los tratamientos térmicos.

Para las caraotas negras la materia seca en 100g crudas fue de 88.16g (11.84% de humedad), en las tratadas con hervor prolongado fue de 40.72g (59.28% de humedad) y en las tratadas en olla de presión fue de 36.9g (63.10% de humedad).

En la Tabla 2 se observa un predominio de las fracciones insoluble y soluble en las caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*) cocidas en olla de presión, este comportamiento fue diferente al observado en las fracciones de la FDT de las lentejas, las cuales mostraron un predominio de la fracción soluble, pero cuando se cocieron a hervor prolongado, con un aumento preciso de 2.43g en esta fracción después de cocidas.

TABLA 2

Promedio y variabilidad en el contenido de fibra dietética total (FDT), insoluble (FDI) y soluble (FDS) en caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*), crudas y sometidas a tratamiento térmico.

Fracción fibra	Tratamiento	g(X ± SD)
FDT	Cruda	24.31 ± 0,31 h
	Hervor prolongado	21.24 ± 0,65 i
	Olla presión	25.63 ± 1.91 j
FDI	Cruda	23.07 ± 0,03 k
	Hervor prolongado	20.10 ± 0,54 l
	Olla presión	23.48 ± 2.12 m
FDSS	Cruda	1.38 ± 0,29 n
	Hervor Prolongado	1.13 ± 0,11 ñ
	Olla presión	2.14 ± 0,21 o

Los valores representan las medias ± la desviación estándar de 4 análisis. Para las caraotas negras crudas y sometidas a tratamiento térmico, los resultados se expresan en 100 g de la leguminosa en base seca. Valores con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre las fracciones en los distintos tratamientos.

Llama la atención que las caraotas negras tratadas en olla de presión aumentaron su contenido de FDS en 0.76g en comparación a su valor equivalente en 100g de la leguminosa cruda. De acuerdo a esto y por lo observado también en el caso de las lentejas que aumentaron 2.43g cuando se trataron con hervor prolongado (Tabla 1), pareciera que la cocción tanto en olla de presión como a hervor prolongado favoreció el incremento de la fracción soluble en las leguminosas estudiadas. En este caso los resultados (comparación entre fracciones en las caraotas negras), indican diferencias significativas.

Por otra parte, la relación entre el valor promedio de las fracciones insoluble/soluble demostró que prevaleció el componente insoluble de la fibra, el cual representó el 90% de la FDT para las lentejas y el 96% para las caraotas negras. Estos resultados nos permiten apuntar dos aspectos importantes; el primero de ellos es que las lentejas y caraotas negras sometidas

a estos tratamientos térmicos, constituyen una importante fuente de FDI lo que podría beneficiar a los consumidores de esta leguminosa así cocidas por sus bondades per se, y el segundo es que se podrían estar evidenciando algunos errores del método enzimático-gravimétrico (21) utilizado en este ensayo, específicamente en lo referente a la escasa gelatinización de los almidones, que ocasiona una pobre hidrólisis enzimática y en consecuencia una remoción deficiente del almidón granulado, mucho más cuando este es utilizado para analizar el contenido de FDT y sus fracciones en alimentos tratados térmicamente (26).

El incremento en el contenido de la FDT en alimentos de origen vegetal procesados térmicamente, fue descrito desde hace más de una década. Ranhonra y cols (27), observaron este aumento en el proceso de elaboración del pan, reportaron un incremento en más del 20% en el contenido de FDT, en comparación con la harina cruda. Lintas y Cappelloni (28), reconocieron un fenómeno similar cuando sometieron a cocción los vegetales de consumo más frecuente en Italia. Asimismo, Phillips y Palmer (29) señalaron lo mismo cuando al cocer zanahorias en agua encontraron un aumento sustancial en la fracción soluble y una disminución en la fracción insoluble.

En este estudio el incremento de la FDT en las lentejas sometidas a los tratamientos térmicos descritos fue a expensas del incremento de la FDI y la FDS, pero con un predominio de la fracción soluble cuando las lentejas se cocieron a hervor prolongado en el orden del 216% o lo que es lo mismo a decir que la FDS aumentó en esta leguminosa 2.16 veces con relación al valor original obtenido en las lentejas crudas. En las caraotas negras predominó también la FDS pero cuando se cocieron en olla de presión, en este caso el aumento fue de 1.55 veces con relación al valor original obtenido en las caraotas negras crudas. En este sentido, F-Saura-Calixto y cols (30), propusieron que la retrogradación de los almidones se debe a las bandas de hidrógeno que se establecen entre las cadenas de amilosa y que las proteínas, los taninos y almidones también interactúan con los carbohidratos. Proponen que la asociación entre los almidones y proteínas, taninos y proteínas y taninos y almidones que se establecen en diferentes alimentos de origen vegetal después de su cocción causan un aumento en la FDT. Esto podría explicar el aumento observado en las 02 leguminosas estudiadas. Sin embargo, para emitir una opinión concluyente en este sentido, habría que estudiar la composición química de la FDT y de sus fracciones constituyentes generadas después de la cocción.

Sumado a lo antes expuesto, Lintas y Capelloni (28) han propuesto que debido al bajo contenido de lípidos presentes en estas leguminosas (alrededor del 15%), el aumento de la FDT no puede explicarse solo por la interacción entre lípidos y carbohidratos, sino que el tratamiento casero y/o comercial promueven otro tipo de interacciones que aumentan el contenido de polisacáridos no almidones y/o propicia la formación de almidones modificados, capaces de resistir la acción enzimática y en consecuencia aumentar el contenido de FDI y

por ende de la FDT, enmascarándose así el verdadero valor o contenido de fibra dietética del alimento en cuestión.

La comparación de los resultados obtenidos en el presente ensayo con los antes señalados permiten concluir que el tratamiento térmico cualquiera que sea, ocasiona un aumento considerable en el contenido de FDT, a expensas naturalmente de sus fracciones, faltaría por determinar que transformaciones, y/o aleaciones químicas específicas ocurren entre los nutrientes componentes de estos alimentos capaces de aumentar la fibra dietética total en estas leguminosas.

En todo caso, el aumento en el contenido de FDI observado después de la cocción de las leguminosas estudiadas, nos sugiere que el consumo de estas podría constituir una ventaja por los efectos fisiológicos favorables que proporciona esta fracción de la FDT. Asimismo, habría también que estudiar como se afecta la calidad de las proteínas de estas leguminosas después de la cocción con las modalidades de tratamiento térmico aplicadas en este ensayo.

AGRADECIMIENTO

Se agradece el financiamiento otorgado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de los Andes, proyecto m-514-95-03-3. Así como la colaboración de los Licenciados en Estadística Janeth Mora y Juan L. Marques pertenecientes a la Unidad de Estadística de la Escuela de Nutrición de la Universidad de los Andes por la asesoría estadística prestada. Asimismo se agradece al Profesor Angel Brito Villaroel por la colaboración prestada en la revisión del manuscrito final.

REFERENCIAS

- Jaffé WG. Nuestros Alimentos Ayer Hoy y Mañana. Fondo Editorial. Acta Científica Venezolana. 1987, P. 83-87.
- Bressani R, Gómez Brevez RA y Elial L. Calidad nutricional de la proteína de gandul tierno y maduro, y su valor suplementario a cereales. Arch Latinoam Nutr, 1986; 36:1:108-116.
- Cid JA, Petenatti E, Arellano Muzaber J y De Mucciarelli L. Valor biológico de la proteína foliar de *artiplex suberecta*. Arch Latinoam Nutr, 1991;41;2:421-427.
- Hipsley EH. Dietary fibre and pregnancy toxemia. Brit Med J, 1953;2: 420-4232.
- Burkitt DP. Epidemiology of cancer of the colon and rectum. Cancer: Diagnostic, Treatment and Research, 1971;28:2-13.
- Trowell HC. Definitions of fibre. Lancet, 1974;1:503.
- Jenkis DJA, Wolever JMS, Leeds AR, Gassull MA, Haisman P, Dilawori J, y cols. Dietary fibre, fibres analogues tolerance: importance of viscosity. Brit Med J. 1978;1:1392-1394.
- Robi F. Dietary fibre: importance of function as well as amount. Lancet, 1992; Nov 7:340.
- Schell M. Aspectos fisiológicos y nutricionales de la fibra dietética. Arch Latinoam Nutr, 1995;45;1:280s-283s.
- Kaaks R y Riboli E. Colorectal cancer and intake of dietary fibre. A summary of the epidemiological evidence. Eur J Clin Nutr, 1995;3:10s-16s.
- Thibault JF, Lahaye M y Guillon F. Physico-Chemical properties of food plant cell walls. In : ILSI Europe, Human Reviews, Ian Macdonald editor. Dietary fibre a component of food. Nutritional function in health and disease. Germany, 1992; Chapter 2:21-55.
- Park D Nelly. Aspectos conceptuales y analíticos de la fibra de los alimentos. Arch Latinoam Nutr, 1995;45;1:274s-279.
- Carmona A. Aislamiento, cuantificación, purificación y caracterización parcial de los taninos de caraoas negras (*Phaseolus vulgaris*) variedad cubagua (disertación). Universidad Central de Venezuela. Facultad de ciencias. Escuela de Biología, 1981.
- Birch G, Cameron A y Spencer M. Ciencia de los Alimentos. Editorial hemisferio sur S.A. Buenos Aires argentina, 1982;117-129.
- Carnovale E y Lintas C. Dietary fibre: effect of processing and nutrient interactions. Eur J Clin Nutr, 1995;53:307-311.
- Lintas C, Cappelloni M, Montalbano S y Gambelli L. Dietary fibre in legumes: effects of processing. Eur J Clin Nutr, 1995;49;53:299-302.
- Dehollain P. El consumo de alimentos en Venezuela (1940-1987). Fundación Polar. Area economía agroalimentaria. 1ª Edición. Caracas, Venezuela. 1993.
- (OCEI) Oficina central de estadística e informática. Consumo mensual per cápita del total de hogares por producto (kg/persona/mes). Area metropolitana de Caracas. 1993.
- Instituto Nacional de Nutrición, Universidad de los Andes. Hoja de balance de alimentos, versión preliminar. 1995.
- Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of the Analysis 14ª ED. Washintong, D. C. P. 152, 1984.
- Prosky L, Geor Asp N, Schweizer T, Devries J y Furda I. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods product; interlaboratory study. J Assoc of Anal Chem. 1988;71;5:1017-1023.
- Association of Analytical Chemist Official Methods of the Analysis 15ª ed. Arlinton, VA, vol I, Sec.985.29, 1105.1990.
- Association of Analytical Chemist Official Methods of the Analysis 15ª ed. Arlinton, VA, vol I, sec.960.52.324.1990.
- Siegel S. Estadística no paramétrica aplicadas a las ciencias de la conducta. México. Editorial trillas. 1993.p.215-225.
- Herrera B I, González G E, Romero JG. Fibra dietética soluble, insoluble y total en las leguminosas crudas y cocidas. Arch Latinoam Nutr. 1988;48;2:179-182.
- Englyns NH, Quigley ME, y Hudson GJ. Definition and measurement of dietary fiber. Eur J Clin Nutr. 1995;49;3:46s-62s.
- Ranjontra G y Gelroth J. Soluble and total dietary fiber in White bread. Am Assoc Cereal Chem. 1988;65;2:155-156.
- Lintas C y Cappeloni M. Content and composition of dietary fiber in raw cooked vegetables. Food Sci Nutr. 1988;42:117-124.
- Phillips KM y Palmer JK. Effect of freeze-drying and heating during analysis on dietary fiber in cooking and raw carrots. J Agri Food Chem. 1991;39:1216-1221.
- F-Saura-Calixto, Goñi I, Bravo L y Mañas E. Formation of resistant starch in deproteinized and no deproteinized beans. Eur J Clin Nutr. 1992;46;2:109s-111s.

Recibido: 10-11-1998

Aceptado:07-01-2000

Evaluación del posible uso tecnológico de algunos tubérculos de las dioscoreas: ñame congo (*Dioscorea bulbifera*) y mapuey (*Dioscorea trifida*)

Alicia Mariela Rincón, Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny Carrillo de Padilla y Eduardo Martín

Unidad de Análisis de Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela

RESUMEN. Se realizó una comparación entre las características físicas y la composición química de los tubérculos de ñame congo (*Dioscorea bulbifera*) y mapuey (*Dioscorea trifida*) y una evaluación de los índices de absorción y solubilidad en agua así como de las propiedades reológicas de las harinas obtenidas. Los tubérculos fueron estudiados por sus atributos físicos (forma, tamaño y peso), el análisis químico se realizó siguiendo la metodología oficial de la AOAC y la evaluación reológica de las harinas se hizo en un amilógrafo Brabender. La harina de mapuey variedad blanco contiene más proteína ($p \leq 0,05$) que las harinas de mapuey variedad morado y ñame congo. La comparación realizada entre el índice de absorción en agua (IAA) y el índice de solubilidad en agua (ISS) a diferentes temperaturas en las muestras revela que hay similitudes y diferencias entre los tubérculos de la familia *Dioscoreaceae*. La viscosidad total determinada a la misma concentración, fue más elevada para la harina de mapuey, variedad blanco. Los rangos de temperatura de gelatinización fueron similares para todas las harinas. Los valores negativos de estabilidad indican que la viscosidad de las harinas aumenta durante el proceso de gelatinización. Ninguna de las suspensiones tuvo un pico de viscosidad bien definido. El asentamiento y la consistencia fueron más bajos en la harina de ñame congo. La ausencia de un pico de viscosidad y la estabilidad de la suspensión de la harina de ñame congo a elevadas temperaturas permiten predecir que podría ser un ingrediente idóneo para elaborar sopas tipo "instantáneas", por otra parte, los elevados valores de viscosidad desarrollados en las suspensiones de harinas de mapuey variedad blanco y morado sugieren su empleo como espesantes.

Palabras clave: *Dioscoreaceae*, tubérculo, harina, reología.

SUMMARY. Evaluation of the possible technological uses of some dioscoreas tubers: ñame congo (*Dioscorea bulbifera*) and mapuey (*Dioscorea trifida*). A comparison between the chemical composition and physical characteristics of ñame congo (*Dioscorea bulbifera*) and mapuey (*Dioscorea trifida*) white and purple varieties, was made. The tubers were evaluated for their physical attributes (morphology, size and weight). The chemical analysis was done according to AOAC methods (1990) and the pasting properties of the flours were evaluated using the Brabender Viscoamlograph. The mapuey tubers have an elongated shape, with one end wider while ñame congo presents a rounded shape. The results of the chemical analysis show that mapuey tubers have more proteins content ($p \leq 0.05$) than either purple mapuey tubers or ñame congo tubers. The flours overall viscosity, measured at the same concentration, was higher for white mapuey varieties. The gelatinization temperature range was similar among the flours. The negative breakdown data suggest that the flours viscosity increases during the gelatinization process of all flours. Neither suspensions showed a viscosity peak. Set-back and consistency were lower in the ñame congo flour. The absence of a viscosity peak and the high temperature stability of the ñame congo flour make it an ideal ingredient for instant soup mixes. The flours high viscosity level developed by white and purple mapuey varieties should make it a suitable sauces thickener.

Key words: Tubers, flours, composition, rheological.

INTRODUCCION

Dioscorea bulbifera, conocido como ñame congo y *Dioscorea trifida*, denominado mapuey son tubérculos pertenecientes a la familia de las *Dioscoreaceae* que han sido utilizados en la alimentación humana en Asia, Africa, Australia y América Central (1,2). En Venezuela, esos cultivos no han sido suficientemente explotados o han sido sub-utilizados a pesar de poseer ciertas características agronómicas interesantes tales como su adaptabilidad. El ñame congo es una planta de origen indomalayo, que desarrolla en las axilas de las hojas unos bulbos comestibles. En nuestro país, han sido

cultivados en Turmero, estado Aragua y se tiene el conocimiento que en ciertas partes de Caracas se produce bien. Su cultivo no exige tantos cuidados como el de la papa o la yuca. Los bulbos crecen del tamaño de una papa, pueden pesar hasta 1 kg. Al someterlos a cocción toman un color amarillo parecido al del apio (1). Recientes estudios han mostrado la factibilidad de utilizar el ñame congo como materia prima en la elaboración de hojuelas fritas debido a que la evaluación organoléptica no muestra diferencias con relación a productos similares elaborados con papa (2). El mapuey es una planta nativa de América tropical, sus tubérculos subterráneos son comestibles y muy apreciados por su sabor y fina textura. Los

tubérculos son de mediano tamaño, por fuera son de color oscuro y por dentro, según la variedad, van del blanco hasta el morado intenso; prefiere suelos sueltos y la época de mayor producción es a principio de año (alrededor de marzo). Su cultivo es relativamente frecuente en Venezuela (1). Tales cultivos se podrían constituir en insumos para la preparación de alimentos manufacturados y en fuentes de almidones no convencionales que podrían tener utilidad como materia prima en la elaboración de productos que tradicionalmente son fabricados con otros ingredientes tales como trigo, maíz y arroz. Esta investigación está dirigida a evaluar y comparar la apariencia externa y la composición química de los tubérculos de ñame congo y mapuey, así como de las características reológicas de las harinas obtenidas de esos tubérculos con el fin de poder predecir su comportamiento funcional y por tanto su posible utilización desde el punto de vista tecnológico.

MATERIALES Y METODOS

Ñame congo (*Dioscorea bulbifera*) y mapuey (*Dioscorea trifida*), variedad morado, se cultivaron experimentalmente en San Diego de los Altos, Estado Miranda, a una altura de 1.320 metros sobre el nivel del mar. Los tubérculos de mapuey (*Dioscorea trifida*), variedad blanco se obtuvieron en el mercado de Quinta Crespo, Caracas.

Todos los reactivos fueron grado analítico.

Todos los análisis se realizaron por triplicado con excepción de la evaluación amilográfica la cual se hizo por duplicado.

El análisis de las diferencias se realizó utilizando la prueba de *t*-student, utilizando el paquete estadístico computarizado Statgraphics Plus, versión 1.4; 1995 (3).

Análisis de los atributos físicos, morfología y composición química de las muestras de ñame congo y mapuey

Los tubérculos de ñame congo y mapuey se analizaron por sus atributos físicos: morfología, tamaño y peso. La morfología se evaluó describiendo su apariencia externa y el color. El tamaño se evaluó en una muestra representativa (63) midiendo la longitud y el ancho con un vernier. Los tubérculos se pelaron manualmente y se pesó la porción comestible. El rendimiento se calculó de la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = (\text{peso de la porción comestible} / \text{peso del tubérculo completo}) \times 100$$

La diferencia entre 100 y el rendimiento representa la fracción de desecho.

Obtención de la harina

La obtención de la harina se realizó según metodología descrita por (4), ligeramente modificada. Los tubérculos se pelaron, cuidando que los restos de piel no quedaran adheridos a la pulpa, se lavaron bien para eliminar buena parte del mucílago, se cortaron en rodajas finas y se deshidrataron en

una estufa Labline Imperial a la temperatura de 45°C por 24 horas. Las rodajas secas se molieron en un procesador de alimentos Braun hasta obtener harina, la cual se pasó a través de un tamiz de malla 60 (250 µm). Las muestras de harina se transfirieron a bolsas plásticas y se almacenaron a temperatura ambiente.

La composición química de las muestras de harina se determinó por los métodos oficiales de la AOAC (5) incluyendo los minerales calcio, magnesio y zinc, así como sodio y potasio.

La fibra cruda se determinó en un Tecator Fibertec M system (Sweden). Los carbohidratos totales se calcularon en base seca por sustracción del contenido de proteína, grasa, fibra y ceniza de 100 g de muestra.

A las harinas en estudio se les determinó el índice de absorción en agua (IAA) y el índice de solubilidad en agua (ISS) a las temperaturas de 30, 50 y 95°C, según metodología descrita en (6) con las siguientes modificaciones: Se pesaron 1,25 g de muestra (b.s) en tubos de centrifuga de 200 ml. previamente tarados. Se añadieron a cada uno de los tubos 20 ml. de agua destilada. Los tubos se colocaron en baño de agua a la temperatura de 30, 50 y 95°C con agitación durante 30 minutos y luego se centrifugaron a 3.000 r.p.m. por 10 min. (Centrifuga IEC Centra MP4R). El líquido sobrenadante se colocó en una cápsula de porcelana previamente tarada y se evaporó. Las cápsulas se colocaron en una estufa al vacío por 16 horas, a 60°C. El índice de absorción en agua y el índice de solubilidad en agua se calcularon del peso del precipitado obtenido en el tubo de centrifuga y del sólido seco obtenido de la evaporación.

La evaluación amilográfica de las muestras de harina en suspensión al 8,6% (b.s) se realizó en un viscoamilógrafo Brabender, Modelo 800221 (7,8). La estabilidad, el asentamiento y la consistencia de las suspensiones de las harinas, expresadas en Unidades Brabender, se calcularon a partir de las curvas amilográficas según (9,10)

RESULTADOS Y DISCUSION

Morfología y tamaño de los tubérculos

Los tubérculos de ñame congo son externamente de color marrón claro (piel) y amarillos en la parte interna (pulpa); de forma redondeada, predominando la presencia de 3 o 4 caras (Figuras 1a y 1b). El peso está comprendido entre 9,7-281 g y el largo y el ancho de los mismos está entre 26-93,5 mm y 26,5-77,5 mm respectivamente. En promedio, la porción comestible fue de 84,94 g/100 g con 15,06 g/100 g de piel. En cuanto a los tubérculos de mapuey, variedades morado y blanco, la piel es de color marrón oscuro y claro, siendo la pulpa morada y blanca respectivamente. Los tubérculos de mapuey, variedades morado y blanco presentan una forma alargada, más ancha y redondeada hacia uno de los extremos, forma que recuerda a una pera (Figura 2). La porción comestible en promedio para el mapuey variedad morado fue de

76,99 g/100 con 23,01 g/100 de piel; en el mapuey variedad blanco, la porción comestible fue de 77,01 g/100 con 22,99 g/100 de piel.

FIGURA 1

Fotografía que muestra un cultivo experimental y los tubérculos de ñame congo (*Dioscorea bulbifera*)

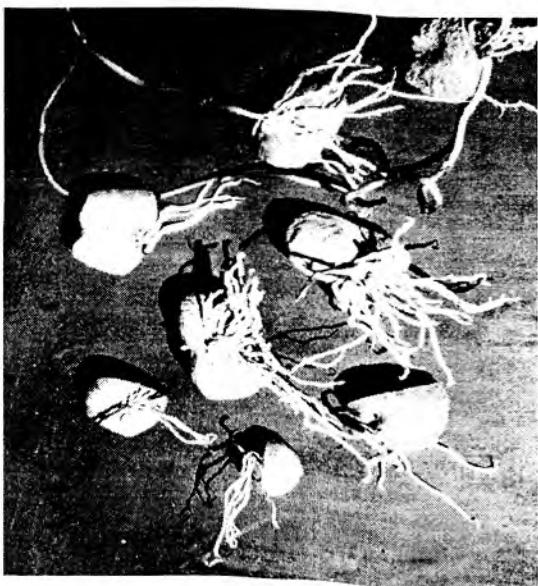


FIGURA 2

Fotografía de los tubérculos de *Dioscorea trifida* (mapuey, variedad morado)



Composición química de los tubérculos

La Tabla 1 muestra el rendimiento en harina y la composición química de los tubérculos en estudio. Se encontró un rendimiento en harina cruda de 29,84 g/100 para el ñame congo y de 23 g/100 para el mapuey, variedades blanco y morado. Estos valores son bastante aceptables, si tomamos en consideración el peso que pueden alcanzar los tubérculos así como las pérdidas por el factor de desecho. Es importante indicar que se haría necesario realizar estudios de rendimiento del cultivo por hectárea.

TABLA 1

Contenido de humedad¹, composición química (g/100 g en base seca) y rendimiento en harinas de tubérculos de la familia de las *Dioscoreaceae*

	<i>D. trifida</i> (mapuey morado)	<i>D. Bulbifera</i> (ñame congo)	<i>D. trifida</i> (mapuey blanco)
Humedad ¹	76,99 ^b	70,16 ^a	77,00 ^b
Grasa	0,26±0,03 ^a	0,47±0,01 ^b	0,29±0,03 ^a
Proteína ²	5,32±0,01 ^c	4,55±0,04 ^a	7,40±0,03 ^b
Fibra cruda	1,95±0,05 ^a	2,21±0,09 ^b	2,01±0,05 ^a
Ceniza	4,14±0,01 ^c	2,54±0,05 ^a	3,38±0,23 ^b
Carbohidratos ³	88,33	90,23	86,93
Rendimiento (%)	23,01	29,84	23,0

1 Humedad de los tubérculos frescos.

2. N x 6,25

3. Calculados por diferencia

n= 3

Letras diferentes en una misma fila denotan diferencias estadísticamente significativas (p<0,05)

Los valores de grasa, proteína, fibra y ceniza para *D. bulbifera* son algo inferiores a los reportados en la literatura, a excepción del contenido de carbohidratos (2). Tales diferencias podrían ser atribuidas a tipo de suelo, época de cosecha, entre otras. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el contenido de grasa y fibra en las muestras de *D. trifida*, variedades morado y blanco, encontrándose diferencias significativas en los porcentajes de proteína y ceniza. Es importante resaltar que los contenidos de proteína encontrados en *D. trifida*, variedades blanco y morado, son más elevados que los reportados en (11). El contenido relativamente alto de proteína podría ser tomado en cuenta para ser utilizado en la formulación de algunos alimentos. En general, existen diferencias en el contenido de grasa, proteína, fibra y ceniza ($p \leq 0,05$) entre las especies de *D. bulbifera* y *D.*

trifida. Por otra parte, el elevado contenido de carbohidratos que presentan estos tubérculos permiten establecer que los mismos podrían ser una excelente fuente de este macronutriente.

En relación a los minerales estudiados se encontró que los tubérculos de *D. bulbifera* y *D. trifida* no presentan diferencias ($p \leq 0,05$) en el contenido de calcio, zinc y magnesio, pero si se encontraron diferencias en el contenido de sodio y potasio (Tabla 2). En este estudio resalta el contenido relativamente elevado de sodio que muestran estos tubérculos, valores que son comparables a los reportados para tubérculos de la misma familia (12). Sin embargo, los valores obtenidos en este estudio para los minerales potasio, calcio, magnesio y zinc son muy bajos si se les compara con los valores reportados para *D. trifida* en (11) y *D. alata* y *D. esculenta* en (12).

TABLA 2
Minerales (mg/100 g.) en tubérculos de la familia de las *Dioscoreaceae*

	Calcio	Sodio	Potasio	Zinc	Magnesio
<i>D. bulbifera</i>	4,95±0,46 ^a	33,58±0,98 ^a	104,55±0,93 ^a	1,03±0,015 ^a	7,36±0,80 ^a
<i>D. trifida</i> (variedad morado)	5,57±0,30 ^a	70,38±1,55 ^b	180,74±1,68 ^b	1,05±0,011 ^a	7,32±0,19 ^a

n= 3 letras diferentes en una misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$)

Índice de absorción en agua e índice de solubilidad en agua

En las Figuras 3 y 4 se muestran, a las temperaturas de 30, 50 y 95°C, los resultados de los índices de absorción en agua (IAA) y solubilidad en agua (ISS) para las muestras de harinas de la familia de las *Dioscoreaceae*. Como era de esperarse, en general todas las muestras presentan un aumento en los valores de ISS y de IAA con el aumento de la temperatura. A las temperaturas de 30 y 50°C no hay diferencias en los valores de IAA e ISS para todas las harinas, mientras que a la temperatura de 95°C si se presentan diferencias. Las muestras de mapuey morado y de ñame congo presentan los valores más bajos de IAA y de ISS. Tales resultados podrían ser explicados, en el caso del IAA, a fuerzas asociativas tales como enlaces de hidrógeno y covalentes, los cuales son los responsables del grado de asociación intermolecular entre los polímeros amiláceos. En el caso del ISS, probablemente se deba a fuerzas asociativas dentro de los gránulos en esos tubérculos (4).

Estudio de las características reológicas

Las propiedades reológicas de las harinas de ñame congo y mapuey, variedades blanco y morado se resumen en la Tabla 3. La viscosidad total, fue más elevada para la harina de mapuey variedad blanca (Figura 5). Los rangos de temperatura de gelatinización fueron similares en las harinas de *D. bulbifera* y *D. trifida*, variedad blanco, siendo un poco más elevada en la harina de *D. trifida*, variedad morada. Los valores negativos de estabilidad indican que la viscosidad de las harinas aumenta durante el proceso de gelatinización.

Ninguna de las suspensiones tuvo un pico de viscosidad bien definido. El asentamiento y la consistencia fueron más bajos en la harina de ñame congo. La ausencia de un pico de viscosidad y la estabilidad de la suspensión de la harina de ñame congo a elevadas temperaturas permiten predecir que podría ser un ingrediente idóneo para elaborar sopas tipo instantáneas, por otra parte, los elevados valores de viscosidad desarrollados en las suspensiones de ambas harinas de mapuey sugieren que éstas serían adecuadas como espesantes.

FIGURA 3
Índice de absorción de agua en harinas de la familia *Dioscoreaceae*

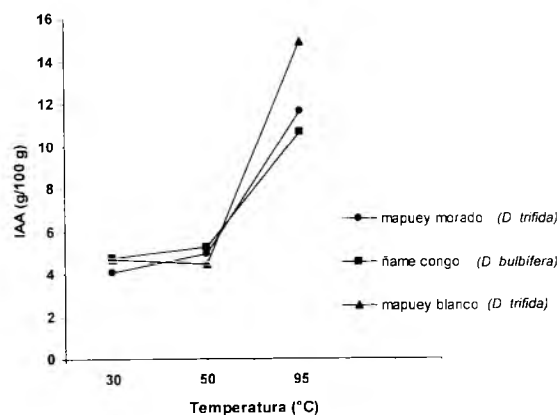


FIGURA 4
Indice de solubilidad en agua en harinas de la familia
Dioscoreaceae

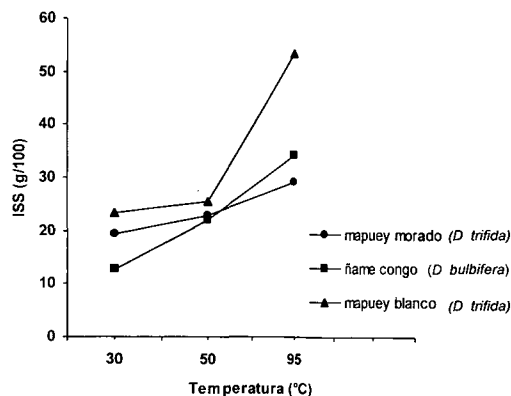


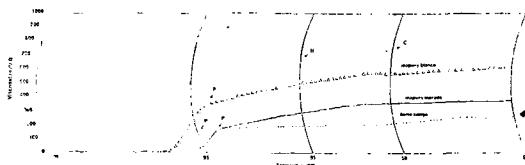
TABLA 3
Propiedades reológicas, en Unidades Brabender (UB)
de las harinas de tubérculos de las *Dioscoreaceae*¹

Parámetros reológicos (UB)	Harina de <i>D. bulbifera</i> (ñame congo)	Har. de <i>D. trifida</i> (mapuey blanco)	Harina de <i>D. trifida</i> (mapuey morado)
Temperatura de gelatinización (°C)	73,5-78	75-78	76,5-84
Pico de máxima viscosidad : P	160	360	180
Viscosidad al final del período de calentamiento (95°C) : H	200	480	290
Viscosidad a 50 °C: C	220	560	360
Estabilidad (P-H)	-40	-120	-110
Consistencia (C-H)	20	80	70
Asentamiento (C-P)	60	200	180

¹ La concentración de la suspensión de cada una de las harinas fue de 8,6% en base seca.

n= 2

FIGURA 5
Curvas amilográficas de las muestras de harinas pertenecientes a la familia de las *Dioscoreaceae*



AGRADECIMIENTOS

Se aprecia la valiosa colaboración del Dr. Stephen Tillett, del Herbario Victor Ovalles, Facultad de Farmacia, UCV, por haber suministrado algunos de los tubérculos para la realización de este estudio. Asimismo estimamos la cooperación del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, UCV por haber permitido el uso del Amilógrafo Brabender.

REFERENCIAS

- Vélez BF & Vélez G. Plantas Alimenticias de Venezuela. Fundación Bigott. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. 1990; Monografía N° 37.
- Rodriguez SM. Procesamiento de cará-de rama (*Dioscorea bulbifera*, L) frito. Arch. Latinoamer Nutr. 1995; 45 (2): 128-133.
- Programa Estadístico Statgraphics Plus, versión 1.4; 1994-1995.
- Rincón AM, Padilla FC, Tillett S. *Myrosma cannifolia*, chemical composition and physicochemical properties of the extracted starch. J Sci Food Agric. 1999; 79 (4): 532-536.
- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Methods 2.127; 944.02; 944.03; 948.09; The Association of Official Analytical Chemists, Inc, Arlington, Virginia. 1990.
- Anderson RA. Water absorption and solubility and amilograph characteristics of roll-cooked small grain products. Cereal Chem. 1982; 59:265.
- American Association of Cereal Chemists Approved Methods of the AACC. Method Vol. I, II. The American Association St. Paul, Mn. 1993.
- Rasper V. Theoretical Aspects of Amilography. In the Amylograph Handbook; Shuey, W.C., Tipples, K.H., Eds.; AACC: St. Paul, MN, 1982; Chapter 1.
- Merca FE, Juliano BO. Physicochemical properties of starch of intermediate amylose and waxy rice. Starch/Starke 1981; 33 (8):253-260.
- Mazurs EG, Schooch TJ, Kite F. Graphical analysis of the Brabender viscosity curves of various starches. Cereal Chem. 1957; 34:141.
- Tabla de Composición de Alimentos para uso práctico. MSAS. Instituto Nacional de Nutrición. Publicación N° 52. Serie Cuadernos Azules. Caracas-Venezuela. Revisión 1999
- Wanasundera JPD & Ravindran G. Effects of cooking on the nutrient and antinutrient contents of yam tubers (*Dioscorea alata* and *Dioscorea esculenta*). Food Chem. 1992,45:247-250.

Recibido: 05-03-1999

Aceptado: 29-06-2000

Evaluación fisicoquímica y microbiológica de tres mermeladas comerciales de guayaba (*Psidium guajava* L.)

Ricardo López G., Alejandra O. Ramírez M. y Lucía Graziani de Fariñas

Facultad de Agronomía, U.C.V. Maracay, Venezuela

RESUMEN. De cada marca comercial se tomaron cuatro lotes distintos de producción, las muestras se adquirieron en los mercados de Maracay, Cagua y Turmero (Venezuela). Los valores promedio de las determinaciones físicas y químicas fueron: vacío=38,81 cm Hg; pH=3,28; acidez (expresada como % de ácido cítrico)=0,59; °Brix=67,24; azúcares reductores=55,28%; azúcares totales=62,28%, y los valores de color a=+14,44, b=+8,77 y L= 17,09. Las poblaciones de mohos, levaduras y mesófilos aerobios fueron inferiores a 10 UFC/g, las cuales se encuentran por debajo del límite mínimo establecido por la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (1). Las mermeladas analizadas también cumplen con los requisitos exigidos por la norma COVENIN (1) en cuanto a °Brix y acidez, pero no así con los límites establecidos para pH. De acuerdo al análisis de varianza, existen diferencias altamente significativas entre las marcas y entre los lotes de cada marca para todas las características fisicoquímicas evaluadas, lo que quizás revela falta de control en la elaboración de estas mermeladas bajo estudio.

Palabras clave: Mermelada, guayaba, composición química.

INTRODUCCION

La elaboración de mermeladas representa una alternativa para la agroindustria venezolana, debido a que es un producto de larga vida útil que no necesita refrigeración, lo cual facilita su comercialización y almacenamiento; además su elaboración no es compleja, y requiere de poca inversión; por lo tanto, es una opción válida para los pequeños empresarios. Las condiciones agroclimáticas del país permiten la producción de frutas ideales para el procesamiento, y si bien, según los fabricantes, en Venezuela se producen 3.840 toneladas al año de mermelada, este volumen podría incrementarse si aumentara la demanda interna o se atendieran mercados exteriores en donde el país posea ventajas competitivas.

Las mermeladas se elaboran con pulpa de fruta, que se mezcla en cierta proporción con azúcar y se cuece hasta alcanzar un punto final de 65 a 68% de sólidos solubles. Su textura debe ser viscosa, lo cual se debe a la presencia de

SUMMARY. Physicochemical and microbiological evaluation of three commercial guava jams (*Psidium guajava* L.). Four different production batches were taken from each brand. Samples were purchased from retail markets in Maracay, Cagua and Turmero. (Venezuela). The average physical and chemical values were: vacuum=38,81cm Hg; pH=3,28; titrable acidity (%citric acid)=0,59%; °Brix=67,24; reducing sugars= 55,28%; total sugars=62,28, and the color parameters a= +14,44, b= +8,77 and L= 17,09. Molds, yeast and aerobic plate counts were lower than 10 UFC/g; it reveals an excellent microbiological quality of the product. The studied jams °Brix and acidity fulfil COVENIN (1) requirements for jam products, but not pH range. In agreement with variance analysis, there were highly significance differences between the samples and among the shares of each sample for all physical and chemical properties evaluated.

Key words: Jam, guava, chemical composition.

sustancias pécticas y su aspecto debe ser semitransparente o no transparente (2). La norma COVENIN (1) define a la mermelada como el producto de consistencia semisólida o de gel obtenido por la cocción de frutas, concentrado de frutas, pulpa de frutas, jugos de frutas o sus mezclas, con la adición de azúcar y otros edulcorantes naturales, pectina y con el agregado o no de ácidos orgánicos.

Diversos autores (3-6) establecen que en la elaboración de mermeladas hay que tener presente cierta relación entre el dulzor y el contenido de sustancias pécticas para obtener el grado deseable de gelificación. La acidez en la mezcla ya sea la propia o por la adición de un ácido reduce el tiempo de elaboración y mejora la calidad del producto final (2).

Los ingredientes principales de las mermeladas son: frutas u hortalizas, azúcar, agua, agente gelificante y ácido (6), aunque a veces se utilizan preservativos como sulfito y benzoato de sodio, y aditivos como colorantes y aromatizantes, estando su uso condicionado por la normativa de cada país (7). Las

frutas ideales en la fabricación de mermeladas deben contener suficiente pectina y ácido, a fin de darle una consistencia sólida o semisólida al producto final (3). La sacarosa es el azúcar más utilizado en la elaboración de mermeladas, pudiéndose sustituir por otros azúcares, tales como glucosa, fructosa (4-6).

La pectina es el agente gelificante más comúnmente empleada en la elaboración de mermeladas, para darle consistencia y textura de gel al producto (8). La rigidez del gel depende de la relación de azúcar y ácido: una alta concentración de azúcar hace que sea menor la cantidad de agua soportada por la estructura, una alta concentración de ácido aumenta la dureza del gel, pero un exceso puede generar hidrólisis de la pectina; bajas concentraciones de ácido producen fibras tan blandas que la estructura del gel será incapaz de soportar el líquido y se formarán grumos indeseables (3).

Lo anteriormente expuesto conllevó a realizar un estudio que permitiera conocer las características físicas, químicas y microbiológicas de las mermeladas manufacturadas en Venezuela; específicamente se seleccionó a la mermelada de guayaba, debido a que es el sabor de mayor producción por la agroindustria venezolana, además es una fruta tropical que se produce en el país, Serpa (9) reportó para el año 1988 una producción de 3.527 tn; que tiene aceptación en algunos mercados internacionales como el de Aruba, Curazao y Bonaire, tal como lo indica la Oficina Central de Información (O.C.I) (10), para el año 1993, al señalar volúmenes de exportación del orden de 22.653 kg de frutas a estos países; aunado a esto sus características fisicoquímicas la hacen una materia prima ideal y perfectamente adaptable al procesamiento de mermeladas.

MATERIALES Y METODOS

Se evaluaron las tres marcas comerciales de mermeladas de guayaba de mayor presencia en el mercado, previa información suministrada por los comerciantes. Se utilizó un diseño de bloques al azar jerarquizado, debido a que los lotes entre las marcas no tenían la misma fecha de vencimiento, coincidencia que no fue posible lograr en el muestreo (Tabla 1).

TABLA 1
Fechas de vencimiento correspondientes a los lotes analizados de cada marca

Lotes	Marcas		
	A	B	C
1	Diciembre 96	Marzo 97	Diciembre 96
2	Febrero 97	Mayo 97	Mayo 97
3	Mayo 97	Junio 97	Julio 98
4	Junio 97	Septiembre 97	Septiembre 98

Caracterización física y química

A las mermeladas se les realizaron las siguientes determinaciones: vacío, pH, acidez (expresada como ácido cítrico), sólidos solubles (°Brix), según los métodos descritos en las normas COVENIN (11-14) para tal fin. Los azúcares reductores y totales fueron estimados por el método de Lane y Eynon descrito en el A.O.A.C. (15). El color se evaluó mediante un colorímetro Hunter, obteniéndose valores de a, b y L. La firmeza se analizó con un penetrómetro universal marca Humboldt, con un cono de metal de 6,5 cm de diámetro y 35 g de peso.

Caracterización microbiológica

Se analizó una unidad por lote, y se realizaron los siguientes análisis: aerobios mesófilos y mohos y levaduras, según métodos descritos en la norma COVENIN (16,17), los resultados se expresan como unidades formadoras de colonias por gramo del producto (UFC/g).

Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos en las determinaciones fisicoquímicas se sometieron a un análisis de varianza a un nivel de significación del 5%, complementado con una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización física y química

En la Tabla 2 se muestran los resultados de las determinaciones físicas y químicas realizadas a las mermeladas en estudio. El vacío varió entre 34,37 y 41,99 cm Hg, valores que concuerdan con los informados por Vilchez (18) y Parra (19) en mermeladas de mango y mora respectivamente. Se observa que entre las marcas A y B no existen diferencias significativas entre si y además tienen un vacío superior al de la marca C, aunque entre los lotes de estas muestras A y B hay mayor variabilidad (Tabla 3); por lo cual es probable que exista una falta en el control de la temperatura de sellado de estas últimas, factor indispensable para el logro del vacío de este tipo de productos. El pH promedio fue de 3,28, observándose que el 41,6% de las muestras tuvo un pH por encima de 3,30, este valor es el límite superior establecido por COVENIN (1). Sin embargo los valores de pH coinciden con los informados por Czyhrinciw (2) (3,2), Woodrof (20) (3,5), Formoso (3) (3,2) y López (4) (3,3-3,5), cabe destacar que ninguna de las mermeladas presentó un pH por debajo del límite inferior establecido por COVENIN (1) (3,0). El análisis de varianza reveló que existen diferencias altamente significativas entre las marcas; la marca A presentó el valor más alto de pH 3,32, ligeramente superior al límite máximo de la norma COVENIN (1) que es de 3,3; también se observaron diferencias altamente significativas entre los lotes de las distintas marcas (Tabla 3), notándose que el lote 1 de la marca A presentó el mayor pH (3,4), mientras que el lote 3 de la marca C presentó el menor

(3,15). La acidez (expresada como ácido cítrico) mostró un valor promedio de 0,59%, todas las muestras cumplieron con la norma COVENIN (1), que establece una acidez máxima de 1% para este producto, los resultados obtenidos son superiores a los informados por Czyhrinciw (2) (0,50%) y Rauch (5) (< 0,20%) e inferiores a los determinados por Vilchez (18) (0,86%) y Parra (19) (1,22-1,42%). A través del análisis de varianza (Tabla 2) se detectaron diferencias altamente significativas entre las marcas; la marca A presentó una acidez superior a las otras; entre los lotes de todas las marcas (Tabla 3) también se encontraron diferencias altamente significativas, observándose que todos ellos fueron estadísticamente diferentes. Los °Brix tuvieron un valor promedio de 67,24, y solo una de las cuarenta y ocho muestras analizadas, tuvo menos de 65 °Brix; este valor corresponde al porcentaje mínimo de sólidos solubles normado por COVENIN (1).

TABLA 2
Caracterización física y química de 3 marcas comerciales de mermeladas de guayaba

Característica	Marcas			\bar{X}	σ
	A	B	C		
Vacío (cm Hg)	41,99 a	40,08 a	34,37 b	38,81	5,76
PH	3,32 a	3,28 b	3,23 c	3,28	2,10
Acidez (% ac. cítrico)	0,65 a	0,57 b	0,55 b	0,59	15,41
°Brix	68,02 a	66,50 c	67,18 b	67,24	1,80
Firmeza (mm)	26,27 a	28,66 c	26,57 b	27,16	10,00
Color : a	+15,08 a	+14,77 a	+13,52 b	+14,44	10,22
b	+8,74 b	+9,18 a	+8,60 b	+8,77	10,43
L	16,54 a	17,99 a	16,69 a	17,07	10,63
%Azúcares totales	53,62 c	54,34 b	57,87 a	55,28	6,28
%Azúcares reductores	63,61 a	60,99 c	62,25 b	62,28	5,52

Los promedios que presentan letras comunes en filas no alcanzan diferencias estadísticamente significativas entre sí al 5%.

TABLA 3
Comparación de medias de las variables físicas y químicas entre lotes de las tres marcas analizadas.

Lote	Vacío (cm Hg)	pH	Acidez (%ac. cítrico)	°Brix	Firmeza (mm)	%Azúcares Reductores	%Azúcares Totales	a	Color b	L
MARCA A										
1	36,83 b	3,40 a	0,69 b	66,72 c	32,74 d	51,97 c	59,53 c	14,78 ab	8,87 ab	16,50 a
2	47,63 a	3,27 d	0,81 a	70,31 a	30,64 c	57,06 a	69,84 a	14,10 b	8,28 b	15,81 a
3	42,23 ab	3,30 c	0,60 c	68,11 b	24,52 a	50,24 d	65,96 b	15,84 a	8,86 a	16,98 a
4	41,28 ab	3,33 b	0,50 d	66,98 c	26,73 b	55,22 b	59,16 c	15,61 a	9,03 a	16,88 a
MARCA B										
1	42,55 ab	3,32 a	0,52 c	67,57 a	26,93 b	56,28 a	65,13 a	16,23 a	9,38 ab	18,83 ab
2	47,63 a	3,28 b	0,58 b	65,98 c	25,34 a	56,10 ab	57,64 d	14,89ab	8,22 c	16,08 c
3	42,23 ab	3,32 a	0,48 d	66,75 b	26,69 b	55,05 b	62,26 b	14,62 b	8,87 bc	17,10 bc
4	41,28 b	3,19 c	0,60 a	65,73 c	26,13 ab	49,94 c	58,92 c	13,17 c	10,24 a	19,98 a
MARCA C										
1	31,12 a	3,32 a	0,50 d	66,92 bc	24,73 a	58,82 b	61,87 b	12,12 c	8,07 bc	15,81 b
2	33,66 a	3,24 b	0,54 c	67,73 a	26,56 b	61,19 a	63,39 a	13,60 b	8,69 b	16,12 b
3	34,61 a	3,15 c	0,64 a	66,73 c	30,58 c	60,04 a	62,42 ab	12,19 c	7,40 c	14,60 b
4	38,10 a	3,22 b	0,59 b	67,36 ab	24,41 a	51,44 c	61,33 b	16,16 a	10,24 a	20,25 a

Los promedios que presentan letras comunes en columna no alcanzan diferencias estadísticamente significativas entre sí al 5%.

De acuerdo al análisis de varianza los °Brix presentaron diferencias altamente significativas tanto en la marca como en el lote evaluado, observándose que la marca A tuvo el mayor valor (68,02) y la B el menor valor (66,51); en relación con los lotes (Tabla 3) el lote 2 de la marca A presentó el mayor valor de °Brix evaluado (70,31), la marca C presentó mayor homogeneidad entre las medias de sus lotes, ya que el lote 1 puede agruparse tanto con el lote 3 como con el lote 4 y este último puede agruparse a su vez con el lote 2, difirieren entre sí los lotes 2 y 3. En cuanto a la firmeza el promedio general fue de 27,17 mm y al igual que las otras variables el análisis de

varianza reveló diferencias altamente significativas entre marcas y lotes, apreciándose que la marca B fue la de menor firmeza, en la comparación de medias entre los lotes (Tabla 3) se notó que los lotes 1 y 2 de la marca A mostraron los menores valores de esta variable, en la marca B los lotes 1,3 y 4 conformaron un grupo homogéneo, con respecto a la marca C el lote 3 presentó la menor firmeza seguido del lote 2 y de los lotes 1 y 4 los cuales conforman un grupo homogéneo. El promedio del contenido de azúcares reductores fue de 55,28% mientras que el promedio de azúcares totales fue de 62,28%, se observó en nueve de los doce lotes estudiados mayor

variabilidad en los azúcares reductores que en los azúcares totales, lo cual puede deberse a que la temperatura de cocción durante la fabricación no se mantiene constante; el contenido de azúcares reductores encontrado es superior a los valores informados por Vilchez (18)(19,78%) y Parra (19)(35,25%), no obstante el contenido de azúcares totales se encuentra dentro de los valores informados por Czyhrnciw (2) (65%), Formoso (3) (64-71%), Meyer y Paltrinieri (7) (50-65%) y Rauch (5) (65-68,5%); tanto en los azúcares reductores como en los azúcares totales el análisis de varianza indicó diferencias altamente significativas entre las marcas y entre los lotes de una misma marca. Se aprecia que la marca A presentó el mayor contenido de azúcares reductores pero a la vez el menor contenido de azúcares totales; al comparar las medias entre los lotes (Tabla 3) se observó para los azúcares reductores que en la marca A todos los lotes difieren entre sí, en la marca B son diferentes los lotes 1,3 y 4, siendo el lote 2 igual estadísticamente al 1 y 3, mientras en la marca C los lotes 2 y 3 difieren del 1 y 4, y estos a su vez entre sí. En relación a los azúcares totales todos los lotes de las marcas A y B son diferentes en tanto que en la marca C se observó una mayor homogeneidad, los lotes 1,3 y 4 presentan contenidos similares de esta variable, diferenciándose a su vez el lote 2 del 1 y 4. El color se evaluó por los valores a, b y L obteniéndose los siguientes promedios +14,44, + 8,77 y 17,09 respectivamente, los valores positivos de a y b indican una tendencia de las muestras hacia los colores rojo y amarillo respectivamente; el análisis de varianza reveló que hubo diferencias significativas entre las marcas y que estas diferencias se ven afectadas por el lote analizado así como la interacción marca x lote; se apreció que la marca A presentó una mayor homogeneidad que las otras marcas en cuanto a los valores de a, b y L (Tabla 3), lo que indica un color más homogéneo en sus lotes, de acuerdo a la comparación de medias entre las marcas, las marcas A y B no presentaron diferencias significativas entre sí con respecto al parámetro a, mientras que la marca C tuvo un valor a significativamente menor, por otro lado la marca B tuvo un valor de b significativamente superior a las otras, no existiendo diferencias significativas entre las marcas para el parámetro L.

Caracterización microbiológica

En todas las mermeladas analizadas la población de mohos, levaduras y aerobios mesófilos fue menor a 10 UFC/g (Tabla 4), por lo que cumplen con la norma Covenin (1). Esta baja población de microorganismos sugieren que el tratamiento térmico que se les aplica a las mermeladas comerciales es eficiente, demostrándose que tanto la cocción como los factores inhibitorios de los microorganismos (acidez y alta concentración de azúcar) son primordiales para la conservación del producto y garantizan su estabilidad en el tiempo, aproximadamente 2 años y medio, como se establece en las fechas de vencimiento de dicho producto.

TABLA 4
Caracterización microbiológica de mermeladas comerciales de guayaba

Microorganismo	Marcas		
	A	B	C
Mohos (UFC/g)	≤10	≤10	≤10
Levaduras(UFC/g)	≤10	≤10	≤10
Aerobios			
Mesófilos (UCF/g)	≤10	≤10	≤10

CONCLUSIONES

Las mermeladas comerciales venezolanas estudiadas cumplieron con los requisitos exigidos por COVENIN en cuanto a °Brix y acidez, en tanto que para el pH se observó que el 75% de los lotes evaluados de la marca C presentaron valores dentro del rango establecido por las especificaciones, a diferencia de las marcas A y B donde solo el 50% de los lotes cumplen con la normas. Aunque la calidad microbiológica fue excelente en todas las marcas evaluadas; se apreciaron diferencias significativas entre las marcas con respecto a la mayoría de las características físicas y químicas evaluadas, a excepción de la luminosidad (L); en este sentido la marca A fue la más resaltante debido a que presentó valores de pH, acidez, °Brix, azúcares totales y parámetro a de color, superiores a las marcas B y C, aunque al mismo tiempo presentó los menores valores de azúcares reductores, parámetro b de color y firmeza, estas diferencias entre las marcas estuvieron afectadas por la variabilidad entre sus lotes, lo cual revela que probablemente existe una falta de control en la elaboración de la mermelada en las tres marcas bajo estudio. Las mermeladas comerciales venezolanas estudiadas poseen potencial para la exportación, por lo que es necesario disminuir la variabilidad entre los lotes y ajustar las especificaciones del producto a las exigencias del mercado internacional.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Fundación para el Desarrollo de la Ciencia y Tecnología del Estado Aragua (Fundacite - Aragua) por el financiamiento de esta investigación.

REFERENCIAS

1. COVENIN. Mermeladas y jaleas de frutas. Norma 2592. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas. Venezuela. 1989.
2. Czyhrnciw N. Análisis industrial en la fabricación de alimentos. Facultad de Ciencias UCV. Caracas 1966.
3. Formoso A. 2000 procedimientos industriales al alcance de todos. 13 Edic. Madrid. 1975

4. López A. A complete course in canning. Book II. Processing procedures for canned food products. 11 Edic. Baltimore, E.U.A.1981.
5. Rauch G. Fabricación de mermeladas. Zaragoza. Ediciones Acibia.1987.
6. Carball B y Gaytan L. Elaboración de mermeladas. Alimentaria N° 195:19-24. 1988.
78. Meyer M y Paltrinieri G. Elaboración de frutas y hortalizas. México, D.F. Editorial Trillas.1981
8. Guichard E, Issanchou S, Descourvieres A, Etievant P. Pectin concentration, molecular weight and degree of esterification: influence on volatile composition and sensory characteristics of strawberry jam. J Food Sci. 1991;56(6):1621-1627.
9. Serpa D. Avance de la fruticultura en el país. Maturín.Edo. Monagas. En I Jornada sobre producción y exportación de frutas.1989.
10. Oficina Central de Información(O.C.I.).Anuario de comercio exterior de Venezuela. Tomo I. Exportaciones. Caracas.1993.
11. COVENIN. Alimentos. Determinación del vacío. Norma 1411. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas. Venezuela. 1979.
12. COVENIN. Alimentos. Determinación del pH. Norma 1315. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas. Venezuela. 1979.
13. COVENIN. Frutas y productos derivados. Determinación de la acidez. Norma 1151. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas. Venezuela. 1979.
14. COVENIN. Frutas y productos derivados. Determinación de sólidos solubles. Norma 924. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas. Venezuela. 1983.
15. Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C). Official Methods of Analysis. 13th Ed. Washington D.C. The Association, 1990.
16. COVENIN. Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placa de petri. Norma 902. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas. Venezuela. 1987.
17. COVENIN. Alimentos. Método para el recuento de mohos y levaduras. Norma 1337. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas. Venezuela. 1990.
18. Vilchez N. Elaboración de productos terminados a partir del mango Keitt. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía. UCV.1986.
19. Parra C. Algunos aportes sobre el aprovechamiento industrial de la mora (*Rubus glaucus. Benth*). Trabajo de grado. Facultad de Agronomía. UCV. 1989.
20. Woodrof J. Commercial fruit processing. 2Ed. Westport. EUA. Editorial AVI.1986.

Recibido: 24-04-1999

Aceptado: 28-06-2000

Alimentos de humedad intermedia para ancianos en base a extrusado de maíz: soja, adicionado con calcio

Valeria Cristina Del Castillo, Margarita Armada de Roman, Juan Carlos Gotiffredi

INIQUI (Instituto de Investigaciones para la Industria Química), Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires. Salta. Argentina

RESUMEN. Se describe un alimento de humedad intermedia desarrollado en nuestro laboratorio y destinado a personas mayores de 60 años. Esta formulación esta basada en una mezcla cereal:leguminosa, con adición de calcio y saborizantes, aporta proteínas, hidratos de carbono y aceites vegetales, puede consumirse como un alimento muy blando, con actividad de agua (a_w) de 0,80 por, lo que puede almacenarse en condiciones ambientales, provee alta densidad energética (3,22 cal/g) y cubre el 51% de las necesidades de calcio recomendadas para este grupo etáreo. De esta investigación, se concluye que los alimentos de humedad intermedia podrían constituir una buena alternativa para mejorar y diversificar la dieta de los ancianos.

Palabras clave: Mezclas cereal:leguminosa, alimentos de humedad intermedia, ancianos.

SUMMARY. Intermediate moisture food for elder people based on a legume: cereal mixture with calcium. An intermediate moisture food (IMF), has been developed in our laboratory for elder people, over 60 years. The IMF is based on a cereal:legume mixture with calcium and flavour, it supplies proteins, carbohydrates and vegetable oils; as well as, high energetic density (3,22 cal/g) and covers up to 51% of calcium needed. It can be easily consumed as a tasty and soft food. It has a water activity of 0,80, for it can be stored at room conditions. It is very likely that IMF becomes a good alternative to improve and vary elder peoples diet.

Key words: Cereal:legume mixtures, intermediate moisture foods, elder people.

INTRODUCCION

En la Argentina entre 1980-1985, el porcentaje de ancianos de más de 60 años correspondió al 12,7% de la población total, tasas comparables a las que se observan en Europa (1) y según el Ministerio de Salud Pública la cantidad de personas mayores de 70 años crecerá progresivamente en los próximos años en nuestro país de acuerdo a tendencias demográficas definidas. Estas proyecciones nos colocan en el segundo lugar en Latinoamérica, después del Uruguay (1).

Según la definición de las Naciones Unidas, se consideran ancianos a las personas de 60 años y más (2-4). Cualquiera sea la definición que se emplee, lo cierto es que a partir de una determinada edad, entre los 60 y 70 años, comienza la senescencia, que es una situación catabólica desde el punto de vista nutricional, con balances negativos de materia y energía.

Una amplia gama de factores influyen en la calidad de la alimentación de los ancianos, tales como: creencias y prácticas culturales, edad, estado de integración social, grado de movilidad física, situación económica y estado de salud (2-5). Las ingestas dietéticas recomendadas (IDR) tienen muchas limitaciones cuando se aplican a las personas mayores. Los factores que contribuyen a esto son:

1) Heterogeneidad entre las personas en proceso de envejecimiento

- 2) Cambios fisiológicos asociados con el proceso de envejecimiento
- 3) Cambios degenerativos relacionados con la enfermedad crónica
- 4) Uso de fármacos recetados.

Las necesidades de alimentación de las personas de edad son difíciles de cuantificar. El descenso de la actividad física justifica una reducción del 15% del valor energético total (VET) a partir de los 70 años (5-7) así por ejemplo el aporte energético recomendado para un hombre de 50-70 años es de 2400 Kcal (10080 Kj) y para una mujer de la misma edad es de 1800 Kcal (7560 Kj) y para el hombre y la mujer de más de 70 años es de 2050 (8610 Kj) y 1600 Kcal/día (6720 Kj), respectivamente (7,8).

Con respecto a la proteínas, la reducción de la masa corporal observada durante el envejecimiento se asocia a una disminución progresiva de la cantidad total de proteínas del organismo (9). Se necesita 1 g de proteína/ kg de peso corporal/día para mantenimiento físico. Para una persona anciana, del 10-12% del VET debería proceder de las proteínas (2). Con respecto a la albúmina no se ha demostrado la existencia de una relación coherente entre la ingestión de proteínas y los niveles séricos de albúmina, por lo cual tampoco hay evidencia satisfactoria que señale como ventaja

clara la adopción de dietas hiperprotéicas en los individuos con hipoalbuminemia, con excepción de la mala nutrición protéico-energética (9).

Los hidratos de carbono se deben aportar con alimentos cuya preparación sea sencilla, e incluso, que ni siquiera requieran cocción. Los estudios realizados sugieren que estas sustancias representan el elemento principal en la dieta de los ancianos, sobre todo los carbohidratos que provienen de cereales, frutas y vegetales (8).

Un nutrimento muy significativo en las dietas de las personas de edad es el calcio. Hay una relación directa entre osteoporosis y el bajo aporte de este nutrimento. Los requerimientos varían de 800 a 1000 mg por día, sobrepasar estas cantidades no se justifica ya que en primer lugar no se absorberían y luego, el exceso de calcio puede acelerar la aparición de cálculos cálcicos (10). Además cabe destacar que la capacidad de absorción de calcio disminuye con la edad (7,8).

La desnutrición es un estado de equilibrio negativo entre el aporte de nutrimentos a los tejidos y sus necesidades, debido a una ingestión inapropiada en la dieta o bien a una utilización inadecuada de ésta por el organismo (8).

Diversos son los factores que influyen en el estado de nutrición del anciano entre los que podemos mencionar:

- Factores relacionados con la enfermedad
- Factores socioeconómicos
- Factores psicológicos o neuropsiquiátricos
- Factores fisiológicos relacionados al envejecimiento: Las alteraciones fisiológicas relacionadas con la edad que pueden ocasionar mala nutrición se dividen en dos grupos: las que afectan la función alimentaria y las que alteran el metabolismo. Entre las primeras se incluyen los problemas de dentición, pérdida de gusto y olfato que influyen en la selección de alimentos a ingerir, y reducción de la absorción intestinal. Entre las alteraciones metabólicas se destacan la disminución de la síntesis de proteínas y el aumento de su catabolismo, la incapacidad para facilitar la síntesis protéica en respuesta al aumento de la ingestión de aminoácidos y la reducción del gasto energético (7,8).
- Factores alimentarios: Los hábitos alimentarios constituyen uno de los grandes obstáculos para el establecimiento de dietas adecuadas entre la mayoría de las personas de edad avanzada (5).

Diversos alimentos han sido desarrollados experimentalmente para responder a las necesidades de los adultos mayores, con características físico-químicas y sensoriales aceptables (11-13).

Los AHI incluyen un grupo heterogéneo de productos los cuales son parecidos a los alimentos desecados por su resistencia al deterioro microbiano, pero contienen más humedad que estos (entre 20 y 50%), se consumen como tal y no necesitan ser hidratados para consumirlos, tienen una a_w suficientemente baja (entre 0.60 y 0.90) y pueden ser considerados concentrados desde el punto de vista del peso y contenido

energético (14). Los AHI han recibido gran aceptación en años recientes puesto que son almacenados a temperatura ambiente, su vida útil es más prolongada con respecto al alimento fresco, y no requieren de mayor preparación antes de consumirse.

El uso de mezclas cereal:soja extruida, ha sido demostrada como opción práctica y satisfactoria en fórmulas para infantes, (15) escolares, etc. Estas mezclas tienen proteínas de mayor calidad que las materias primas originales por separado. Además la funcionalidad de la fracción amilácea se mejora por el proceso de extrusión (16,17) y por el tratamiento enzimático lo que permite reducir la a_w en el producto final, confiriéndole al producto así formulado, características de alimento de humedad intermedia, es decir húmedo y más estable al almacenamiento (18). Fue objetivo de este trabajo elaborar un alimento de humedad intermedia, para ancianos, en base a mezclas extrusadas de maíz:soja adicionado con calcio y convenientemente saborizada, acorde a las necesidades nutricias y funcionales de la tercera edad.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó en la preparación una mezcla de maíz: soja (70:30) extrusada. Los porcentajes de maíz y soja se seleccionaron considerando la complementación aminoacídica adecuada, la que se determinó con un programa computacional (19) (Tabla 1). Como patrón, se utilizaron las tablas de aminoácidos de FAO/WHO (20).

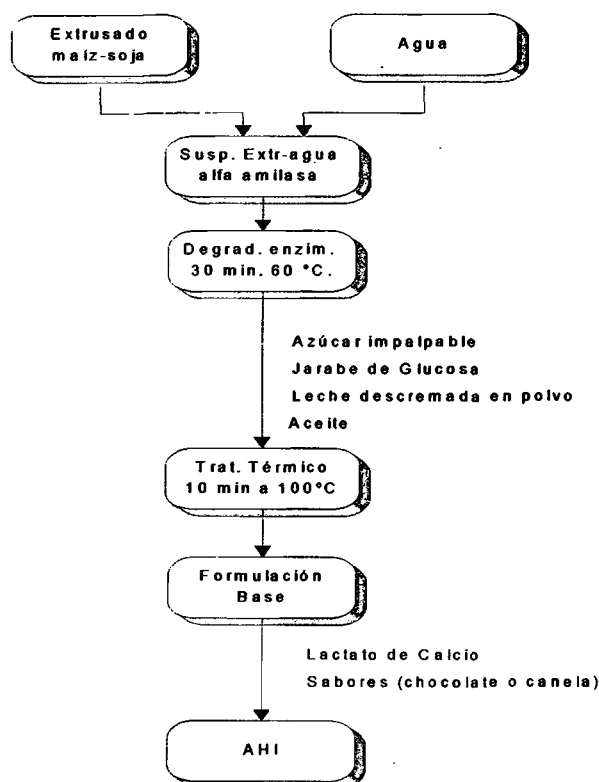
TABLA 1
Contenido de aminoácidos¹ y Cómputo Químico en la mezcla maíz:soja (70:30).

Aminoácidos	Mezcla	AA Patrón ¹	Cómputo Qco.
Isoleucina	311	250	125
Leucina	524	440	119
Lisina	401	340	118
Azufrados	318	220	145
Aromáticos	579	380	152
Treonina	278	250	111
Triptófano	87	60	146
Valina	304	310	98
Histidina	155	119	131

¹ (mg de AA/g N según FAO/WHO, 1973) (20).

En la Figura 1 se presenta el diagrama de flujo del procedimiento utilizado en la elaboración del alimento. Se partió de un alimento base que tuvo como ingrediente principal una mezcla de maíz-soja (70:30) precocida por extrusión en planta piloto de alimentos de la UNSa, leche descremada en polvo, jarabe de glucosa, azúcar impalpable y aceite de maíz comerciales. Todos los ingredientes secos se tamizaron (malla 100 ASTM).

FIGURA 1
Diagrama de flujo para la obtención del AHI.
(Formulación definitiva)



El extrusado se humectó con agua (50/40, p/v), se hidrolizó con alfa-amilasa (de Bacillus, Sigma Chem. Co.) incubando a 60°C en baño de agua durante 30 minutos. La enzima se inactivó por ebullición durante 10 minutos. Se agregaron los demás ingredientes y el producto se homogeneizó en una multiprocesadora Phillips modelo HL 3285 durante 2 minutos. Se propusieron alternativas para la elaboración del producto; en todas ellas se utilizaron los mismos ingredientes aunque en distintas proporciones y siguiendo los mismos pasos de elaboración. Se variaron también los saborizantes empleados (de naranja, banana, vainilla, que luego de evaluaciones sensoriales de aceptabilidad con una escala edónica de 5 puntos y 10 panelistas no entrenados, fueron descartados dado que realizaban mucho el sabor a frijol de la soja. Se optó entonces por ensayar con saborizantes de chocolate y canela. Otro criterio de selección usado para obtener una formulación definitiva fue la a_w . En función de la mayor aceptabilidad y de la a_w que definiera al producto como alimento de humedad intermedia; se seleccionó la formulación definitiva que sirvió de base para la adición de lactato de calcio y los sabores elegidos (Tabla 2).

TABLA 2
Fórmula final del AHI. (en 100 g de alimento)

Ingredientes	
Extrusado maíz:soja	30 g
Agua	24 ml
Alfa-amilasa	0.02 g
Azúcar	22,5 g
Jarabe de glucosa	7,5 g
Leche en polvo	9 g
Aceite	6 g
Lactato de calcio	190 mg
Cacao o canela en polvo	c. s. p.

En el alimento obtenido se realizaron las siguientes evaluaciones: Color (por reflexión) en colorímetro Hunter Lab Model D-25-2- en escala L, Índice de Absorción de agua (WAI) y de Solubilidad en agua (WSI) por el método de Anderson (21), pH, en pHmetro Orion modelo 701 A, suspensión 1:1 a 25°C, viscosidad en Viscosímetro Brookfield suspensión 1:1 (AHI: agua) a 25°C, a_w por el método de Mc. Cune y col. (22). La composición química proximal e índice de peróxidos se determinaron según técnicas oficiales de la AOAC (23), los hidratos de carbono por diferencia a 100, Actividad Antitriptica según el método de Bouzas y Bertoni (24), calcio por espectrofotometría de absorción atómica (equipo Shimadzu modelo AA-6500). Los productos se evaluaron sensorialmente en el Instituto de Evaluaciones Sensoriales dependiente de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Salta. Se realizaron: prueba de aceptabilidad (25) usando una escala edónica de 9 puntos y prueba de preferencia entre los dos sabores del AHI, participaron de la misma 35 jueces no entrenados.

Se calculó: densidad energética (calorías/gramo); relación Energía/Nitrógeno y % de la Ingestión Diaria Recomendada (IDR) de cada componente. Los resultados se analizaron estadísticamente por T de Student (26).

RESULTADOS Y DISCUSION

El Cómputo Químico de Aminoácidos de la mezcla utilizada en la formulación de este alimento (Tabla 1) presenta como limitante a la valina con un valor de 98. Los resultados de los análisis físicos del AHI se presentan en la Tabla 3. Con respecto al color, se observa que se aleja del blanco (visualmente presentaba un tono marrón). Los valores de WSI y WAI del producto revelan buenas características de absorción de agua y solubilidad, obtenidas a partir de las modificaciones químicas y enzimáticas del almidón y de la desnaturalización de las proteínas por extrusión.

TABLA 3
Características físicas del alimento

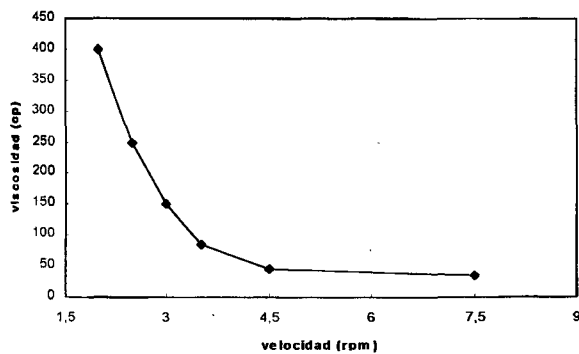
Determinaciones	AHI
Color	35,6
WAI	1,23±0,02
WSI	45,46±2,26
a _w	0,80
pH	6,30

Resultados expresados como media ± desviación estándar

La actividad acuosa del producto formulado de 0,80 lo determina como un alimento de humedad intermedia, asegurando una buena estabilidad al almacenamiento a temperatura ambiente (25 °C).

En cuanto a su comportamiento de flujo (Figura 2) puede observarse como la viscosidad disminuye a medida que aumenta la velocidad de deformación, revelando un comportamiento pseudoplástico, incluso a bajas velocidades de deformación con lo que asegura menor gomosidad y por lo tanto, mayor aceptabilidad del mismo (27).

FIGURA 2
Viscosidad Brookfield del AHI.



La composición química se observa en la Tabla 4. El alimento formulado como alimento de humedad intermedia proporciona proteínas, hidratos de carbono y grasas de origen vegetal. Parte de los hidratos de carbono son aportados por la sacarosa y el jarabe de glucosa, mientras que el resto está aportado por el extrusado maíz:soja, especialmente almidones modificados, lo que aumenta la digestibilidad del mismo.

El valor de inhibidores de tripsina (6,32 UTI/mg de muestra) indica la inactivación de los mismos por el proceso de extrusión, mientras que el índice de peróxidos (5,04 meq/kg de muestra), sugiere una baja alteración de los lípidos por procesamiento.

La densidad energética del AHI (3,22 cal/g) lo presenta como particularmente útil para los ancianos puesto que estos no toleran grandes volúmenes de ingestión, de esta manera pueden consumir mayor cantidad de calorías en poco volumen

TABLA 4
Análisis químicos del AHI (g/100g)

	g/100 g
Proteínas (N x 6,25)	8,87±0,62
Extracto etéreo	6,41±0,14
Humedad	24,6±1,56
Cenizas	1,48±0,24
Fibras totales	2,33±0,04
Hidrato de carbono*	56,31

*calculado por diferencia

Resultados expresados como media ± desviación estándar

Una manera de evaluar la adecuación de los componentes es la relación energía/nitrógeno, la que para un sujeto normal activo de 70 kg se debe aproximar a 300, coeficientes bajos (cerca de 100) indican que la proteínas se utilizarán como fuentes de energía. Así la relación obtenida para el AHI (relación energía/nitrógeno= 230) se considera dentro de lo normal.

Como se puede apreciar, la adición de calcio (como Lactato) resultó en un mayor contenido de este elemento, encontrándose diferencias significativas en los contenidos de este nutrimento para los productos fortificados y sin fortificar (518 ± 0,04 mg/100 g contra 292 ± 1,06 mg/100 g respectivamente), luego, el consumo de 100 g del producto cubre el 51% de la recomendación del adulto (Tabla 5). Con respecto al porcentaje de la IDR (Ingestión Diaria Recomendada) para los componentes del AHI, se puede observar en la Tabla 5, que 100 g del mismo cubren un buen porcentaje de los requerimientos, teniendo en cuenta que se trata de un alimento suplementario.

Los resultados de las evaluaciones sensoriales presentados en la Tabla 6, muestran que ambos productos son aceptables, pero hay mayor preferencia del producto saborizado con chocolate.

TABLA 5
Porcentaje de la IDR aportados por 100 g de AHI

Componentes	IDR	AHI (100g)
Energía	1775 cal(1)	18%
Hid. de carbono	887 cal(2)	25%
Proteínas	52,5 g(3)	17%
Grasas	532 cal(4)	11%
Ca	1012,5 mg(5)	51%

1 y 5: promedio de la recomendación para hombre y mujer de más de 65 años

2: 50 % de 1(Valor Energético Total)(VET)

3: H. de 70 Kg (0,75g/kg)

4: 30 % de 1(VET)

TABLA 6
Evaluaciones de aceptabilidad del AHI

Muestra	Gusta	Indiferente	Disgusta
Chocolate	66	20	14
Canela	54	9	37

CONCLUSIONES

El producto desarrollado como alimento de humedad intermedia (AHI), proporciona proteínas bien complementadas, hidratos de carbono y grasas de origen vegetal. Por su contenido de humedad (24%), se consume como alimento húmedo (tipo papilla), en tanto que por su aw (0,80) no requiere condiciones especiales de envasado y almacenamiento, presenta alta densidad energética (3,22 cal/g) y una adecuada relación energía/nitrógeno. Los inhibidores de tripsina han sido inactivados mientras que los lípidos no han sido alterados por el procesamiento, presenta comportamiento pseudoplástico, cubre el 51% de la recomendación de calcio de una persona de más de 65 años de edad. El producto presenta una aceptabilidad mayor al 50% para ambos sabores aunque el preferido es el de chocolate.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos la colaboración de la Lic. M.I. Margalef en la realización de las evaluaciones sensoriales, al Ing. G.R. Lescano por el apoyo informático, al CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas), a la Universidad Nacional de Salta (UNSa), y a todas aquellas personas que de una u otra manera han colaborado en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- OPS Perfil del anciano en la Argentina. Doc. técnico N° 29. 1990.
- Horwit, A. Guías alimentarias y nutricionales en el envejecimiento. Arch Lat Nut. 1988,38(3):723-749.
- OPS/OMS La salud de los ancianos. Una preocupación de todos. Comunicación para la salud N° 3. Washington D.C. 1992; 1-12.
- OPS. Hacia el bienestar de los ancianos. Publicación científica N° 492. Washington D.C. 1985
- Shlenker, ED. Nutrición en el envejecimiento. 2ª ed. Mosby/Doyma libros. Madrid. España. 1994; 100-119 y 288-311.
- Thoulon- Page. Cuadernos de dietética N°2. Alimentación de las personas sanas. Ed. Masson S.A. Barcelona. España. 1991; 92-95.
- OPS- ILSI. Conocimientos actuales sobre nutrición. 6ª ed. Washington D.C. Publicación científica N° 532. 1991; 385-393.
- Carol M y Brue L.J. Cuidados de enfermería individualizados en el anciano. Ed. Doyma. Barcelona. España. 1989; 145-149.
- Abrams WB y Berkow R. Manual Merk de Geriátría. Merk & Co. Inc. USA. Ediciones Doyma. 1992;4-14.
- Pupi RE. Nutrición. López libreros S.R.L. editores. Bs. As. 1985; 115-121.
- Vera MS, Wittig de Penna E, Bunger A, Soto D, Cariega L, Fuenzalida R, Cornejo E y López L. Desarrollo de productos para el adulto mayor: Budín enriquecido con vitaminas. Arch Latinoamer Nut 1995;41(1):63-66.
- Morales de León J, Salomón, PC, Crail Chávez ML. Desarrollo de un picadillo de humedad intermedia para ancianos con base en soya texturizada. Arch Lat Nut. 1995;45(4):329-335.
- Morales de León J, Mercado Godínez, M. del P y Salomón PC. Desarrollo de una pasta para sopa diseñada de acuerdo a los gustos y recomendaciones nutricias para los ancianos Arch Latinoamer Nut. 1997;47(2):152-156.
- Gómez MH. Desarrollo de un alimento de humedad intermedia a partir de extruidos de maíz y soja. Arch Latinoamer Nut. 1985;35(2):306-314.
- Del Valle RF. Development, evaluation and industrial products of a powdered soy-oat infant formula using a low-cost extruder. J Food Sci. 1981; 46(1):192-197.
- Gómez MH and Aguilera JM. A physicochemical model for extrusion of corn starch. J Food Sci. 1984;49(1):40-43.
- Gómez MH and Aguilera JM. Changes in the starch fraction during extrusion cooking of corn. J Food Sci. 1983;48:378.
- Scorza OC, Chirife J, Cattaneo P, Vigo MS, Bertoni MH y Sarraih P. Factores que condicionan el crecimiento microbiano en alimentos de humedad intermedia. Alim Lat. 1981;127:62-67.
- Lescano G. «MaxAmi». Programa computacional para el cálculo de mezclas óptimas de proteínas. Programa utilizado en el Curso de Post-Grado de Capacitación «Formulación de mezclas protéicas óptimas». Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Salta. Septiembre de 1995.
- Necesidades de proteínas y energía. Informe de la reunión consultiva FAO/OMS de expertos. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. 1973.
- Anderson RA. Water Absorption and Solubility and amilographs characteristics of roll-cooked small grain products. Cereal Chem. 1982;59(4):10-56.
- Mc Cune TD, Lang KW and Steinberg MP. Water activity determination with the proximate equilibration cell. J Food Sci. 1981;46:1978-1979.
- Association of Official Agricultural Chemist. Official Methods of Analysis of the AOAC. 16ª ed. Washington D.C. 1995.
- Bouzas JO & Bertoni MH. Evaluación de la actividad antitriptica en proteínas de soja. Ajuste del método con sustrato sintético. Anales Asoc Quím. Argentina, 1980;68:81-93.
- ASTM. Manual on sensory testing methods. STP 434. Committee E-18 on sensory evaluation of materials and products. Am. Soc. for Testing and Materials. Philadelphia. 1968;32:33.
- Norman GR y Streiner DL. Bioestadística. Mosby/Doyma Libros. Madrid. España. 1996;58-62.
- Kanterewics RJ. Reología de bebidas modelo formuladas con proteína de soja para la suplementación o sustitución de leche. Dpto. de Industrias. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires (UBA). Trabajo presentado en el V Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Salta. Argentina. Octubre de 1987.

Recibido: 08-11-1997

Aceptado: 10-02-2000

Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San Jose, Costa Rica

Pal Windrantz, María Laura Arias

Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

SUMMARY. The presence of total and fecal coliforms, *E. coli*, *Listeria sp* and *Salmonella sp.* was evaluated in 65 samples of both commercial and homemade ice cream. 37,1% of homemade ice cream and 20% of commercial ice cream did not fulfill the international standard for total coliforms. At the same time 82,9% of home made samples and 56,7% of commercial ones presented fecal coliforms. *E. coli* was found in 51,4% of home made samples and 26,7% of commercial ones. Sixteen *Listeria sp.* isolates were obtained, 50% corresponded to *Listeria monocytogenes* and 50% to *L. innocua*. The overall presence of *L. monocytogenes* in ice cream samples was of 12,3% and it was isolated in all cases, from homemade ice cream samples. *Salmonella* was not isolated from the samples analyzed. Although the results obtained show an important improvement in the quality of ice cream, compared with a previous work done also in Costa Rica, further efforts shall be done, in order to offer safe products to consumers.

Key words: Ice cream, *Listeria sp*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, coliforms.

RESUMEN. Evaluación de la calidad bacteriológica de helados expendidos en San José, Costa Rica. Se evaluó la presencia de coliformes totales y fecales, *E. coli*, *Listeria sp* y *Salmonella sp* en 65 muestras de helados caseros o de origen comercial. 37,1% de los helados caseros y 20% de los comerciales no cumplieron la norma internacional para coliformes totales. A la vez 82,9% de los helados caseros y 56,7% de los comerciales presentaron coliformes fecales. *E. coli* fue aislada a partir del 51,4% de los helados caseros y el 26,7% de los comerciales. Se realizaron 16 aislamientos de *Listeria sp.*, 50% correspondió a *L. monocytogenes* y 50% a *L. innocua*. La presencia total de *L. monocytogenes* en las muestras de helado fue de 12,3%, y en todos los casos fue aislada a partir de helados caseros. No se aisló *Salmonella* de las muestras analizadas. Aun cuando los resultados obtenidos demuestran una importante mejoría en la calidad bacteriológica de los helados, comparado con un trabajo previo también de Costa Rica, se necesita un mayor esfuerzo para poder ofrecer un producto seguro a los consumidores.

Palabras claves: Helados, *Listeria sp*, *monocytogenes*, *Escherichia coli*, coliformes.

INTRODUCTION

Ice cream is a product both loved and feared by tourists in a tropical country like Costa Rica. Although there is no growth in frozen dairy products, many types of bacteria, including pathogens, may survive. Different authors report the isolation of *Listeria monocytogenes* from ice cream (1) as well as outbreaks associated to *Salmonella* or Staphylococcal intoxication (2,3).

Tourism is one of the most important and complex industries created by human beings. In the last years, it has grown to huge proportions and spreaded worldwide, including important economic, cultural and social repercussions over the visited country as well as the tourists themselves (4).

In Costa Rica, and other Latin-American countries, the tourist industry has grown to important levels, constituting one of the most important foreign currency for the countries (4).

Tourists are basically exposed to different sanitary risks in their journeys, including the exposition to non-common infectious diseases, and food may represent an important source of infectious microorganisms for them. Different authors have related about 200 different diseases to food. The causing

agents include bacteria, virus, parasites, fungi, toxins and chemical products (3,5).

The aim of this work was to determine the bacteriological quality of commercial and homemade ice creams distributed in San José, Costa Rica in order to determine the risk they represent to public health.

MATERIAL AND METHODS

A total of 65 samples of both, commercial and homemade ice cream were analyzed during the months of May and June, 1999 at the Food Microbiology Laboratory, University of Costa Rica. Samples were randomly acquired at 13 ice cream shops distributed in the metropolitan area of San José, Costa Rica.

Total and fecal coliforms and *Escherichia coli* enumeration were done by the Most Probable Number (MPN) technique using three tube series (5). *Salmonella* spp. was isolated according to the methodology described by the Association of Official Analytical Chemists (6) and the presence of *Listeria* was determined according to the methodology recommended by International Dairy Federation (IDF) (7). For the identification of *Listeria* species, Api *Listeria* (BioMérieux®) was used.

RESULTS

Table 1 presents the results obtained for the bacteriological analysis of commercial and homemade ice cream.

From the samples analyzed, 37,1% of homemade ice cream and 20% of commercial ice cream did not fulfill the international standard for total coliforms in this product (8). For fecal coliforms, 17,1% of homemade ice creams and 43,3% of commercial based ice creams were negative (<3NMP/g) for their presence. 48,6% of homemade ice creams and 73,3% of commercial based ones accomplish the standard for absence of *E. coli*/g.

Sixteen *Listeria* sp. isolates were done from both homemade and commercial type ice cream. *Listeria* sp. was isolated at least once from 66,7% of commercial ice cream samples and from 57,1% of homemade ice cream samples. Of the overall locals analyzed, 38,4% (5/13) never presented *Listeria* sp. in their samples, being two distributors of commercial type ice cream and three of homemade ice creams.

From the 16 *Listeria* sp isolates obtained, 50% corresponded to *Listeria monocytogenes* and 50% to *L.innocua*. The overall presence of *L. monocytogenes* in ice cream samples was of 12,3% and it was isolated, in all cases, from homemade ice cream samples.

Salmonella ssp. was not isolated from samples analyzed.

DISCUSSION

The results obtained in this study show important fecal contamination and hygiene lacks in commercial and homemade ice cream. Due to the pasteurization of ice creams, the presence of total coliforms indicates post-treatment contamination, which may come either from flavoring additives, handling or industrial and distribution environment.

The presence of fecal coliforms represents a public health risk due to the possible presence and transmission of pathogens including bacteria, virus or other enteric agents (5).

Comparing the indicator results obtained with a previous work done in 1990 in Costa Rica also in ice cream, there is an important improvement in the quality of these, although it is still not completely satisfactory.

Previous work shows that 90% of ice cream analyzed did not fulfill the international standard for total coliforms, compared with 29,2% of actual work. Also, 100% of samples presented fecal coliforms and 50% *E. coli*, compared with 70,8% and 40% positivity in the present analysis (9). This improvement has still to be greater, in order to offer safe products to consumers, which include risk populations such as children, elderly and tourists.

Traditionally, total coliforms have been the preferred hygiene indicator but actually, the European Community is using genus *Listeria* as a hygiene indicator in food processing plants, especially dairy ones, instead of total coliforms (10). Considering this parameter, 24,6% of samples would be

classified as having a deficient hygiene, similar to 29,2% defined through the use of total coliforms.

Acute foodborne disease infections and intoxications are much more of concern to governments and food industry today than a few decades ago. *Salmonella* spp. is still the most important acute agent causing foodborne disease (3). In the present analysis, although there is an important fecal contamination in the samples analyzed, *Salmonella* spp. was not isolated. Isolation of this bacteria is one of the most difficult ones, due to different factors that inhibit bacterial growth such as acidity of the product, high sugar concentration, presence of volatile acids, storage temperature and competence (11, 12).

L. monocytogenes has emerged, together with other bacteria, as a significant threat for public health. The actual increase in the number of outbreaks due to this agent has special impact over public health and food industries. This is a psychophilic microorganism, capable of growing at temperatures that range between -0,4 and 45°C, (13, 14) so ice cream represents an ideal media for its growth, especially because of the lack of competition it represents.

TABLE 1
Bacteriological analysis of commercial and homemade ice creams in San José, Costa Rica.

Type	Most Probable Number (MPN/g)			Standard*
	<3	3-999	>1000	
Homemade (n=35)	n (%)	n (%)	n (%)	
MPN**total coliforms	—	22(62,9%)	13(37,1%)	100-1000
MNP fecal coliforms	6(17,1%)	24(68,6%)	5(14,3%)	Negative
MPN <i>E.coli</i>	17(48,6%)	18(51,4%)	—	Negative
Commercial type (n=30)				
MPN total coliforms	4(13,3%)	20(66,7%)	6(20%)	100-1000
MNP fecal coliforms	13(43,3%)	16(53,3%)	1(3,3%)	Negative
MPN <i>E.coli</i>	22(73,3%)	8(26,7%)	—	Negative

* ICMSF Microorganisms in foods 2, 1987

** MPN Most probable number, three tube series

Previous work done in Costa Rica in ice creams reports a 2% of prevalence for *L. monocytogenes*, compared with 12,3% found in the present work (15). It is known that the prevalence of this bacteria in raw milk is low (16-18), so the presence of it in homemade ice cream is alarming. Possible sources of this bacteria include the processing area, freezers, raw ingredients used as flavors in ice cream production, omission of adequate manipulation techniques by vendors, hygiene of serving spoons, and even worker hands, as has been

described by Kerr et al (19).

We did not quantify the level of *L. monocytogenes* present in the samples, but the results obtained allow us to call the attention about the risk that homemade ice cream may represent in the transmission of this microorganism.

The results obtained show significant differences between the hygiene and bacteriological quality of commercial and home made ice cream. The implementation of Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) programs in ice cream industries is essential for addressing food safety for resident and tourist population of Costa Rica, as well as the intervention and education of people involved in the production of house made ice creams.

REFERENCES

- Gabis DAA, Flowers RS, Evanson D & Faust RES. A survey of 28 dry dairy product processing plant environments for *Salmonella*, *Listeria* and *Yersinia*. J Food Prot 1989;52:122.
- Bryan FL. Epidemiology of milk-borne diseases. J Food Prot 1983;46:637.
- Tood EC. Epidemiology of foodborne diseases: a worldwide review. World Health Stat Q 1997;50:1-2, 30-50.
- Ruíz A. El turismo y la protección de los alimentos. Boletín de la Oficina Panamericana de la Salud 1991;111(1): 88-91.
- APHA. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Vanderzant C & Splittstoesser D (eds). 3 ed Washington D.C. APHA, 1992.
- US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 6th edition, 1984;702-718.
- Anonymous. Standard methods for the examination of dairy products. International Dairy Federation. Annual Session in the Hague, Netherlands: Report of Group E47, 3-166, 1986.
- International Commission on Microbiological Specification for Food (ICMSF/FAO). Microorganisms in foods. 2nd ed, University of Toronto Press, Canadá, 1987;3-151.
- Arias ML, Antillón F, Montoya A. Análisis bacteriológico de helados, queso y empanadas de venta ambulante. Rev Cost Cienc Med 1990;11: 7-11.
- Nicolaides L. Relación entre *Listeria* sp. e higiene. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, San José, Costa Rica, 1998.
- Flowers RSS. Scientific Status Summary: *Salmonella*. Food Tech. 1988;42(4):182-185.
- Erickson J. Fate of *Salmonella* spp. *Listeria monocytogenes* and indigenous spoilage microorganisms in home style salads prepared with commercial real mayonnaise or reduced calorie mayonnaise dressings. J Food Prot 1993;56(12):1015-1021.
- Farber JM, Sanders GW & Johnston MA. A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. J Food Prot 1989;52:456-58.
- Fenlon DR & Wilson J. The incidence of *Listeria monocytogenes* in raw milk from farm bulk tanks in North East Scotland. J Appl Bacteriol 1989;66:191-196.
- Arias ML, Monge R, Antillón F & Glen E. Occurrence of the bacteria *Listeria* spp in raw milk in Costa Rica. Rev Biol Trop 1994;42(3), 711-713, 1994.
- Marriot N. Principles of food sanitation. 2ed New York, AVI, 1989.
- Brackett RE. Overview: presence and persistence of *L. monocytogenes* in food and water. Food Technology. 1998;42:162-164.
- Doyle M. Effect of environmental and processing conditions on *Listeria monocytogenes*. Food Technology 58:105-107, 1988.
- Kerr KG. Prevalence of *Listeria* spp. on the hands of food workers. J. Food Prot 1993;56:525-527.

Recibido: 09-03-2000

Aceptado: 28-06-2000

Composicion en acidos grasos y proximal de siete especies de pescado de Isla de Pascua

Nalda Romero P., Paz Robert C., Lilia Masson S., Rafael Pineda L.

Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.
Universidad de Chile

RESUMEN. En el último tiempo se ha puesto un gran énfasis en el estudio de la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de la familia omega-3 en alimentos de origen marino, debido a sus efectos beneficiosos descritos en relación con las enfermedades cardiovasculares, las cuales son la principal causa de muerte en países occidentales. Para obtener una mayor información, acerca de la composición de la materia grasa presente en las principales especies marinas, consumidas habitualmente por la población de Isla de Pascua, se analizó siete especies de pescados: Maito (*Acanthurus leucopareius*), Matuko (*Bodianus vulpinus*), Marau (*Myripristis tiki*), Nanue (*Kiphusus bigibus*), Moki (Mori y Marari, *Anampses caeruleopunctatus*), Puia (*Girellops nebulosus*) y Raea (*Cheilodactilus plessisi*). Se determinó el perfil en ácidos grasos por cromatografía Gas-líquido y la composición proximal para cada especie. De acuerdo al contenido graso: Nanue y Marari presentaron el mayor porcentaje en lípidos, con valores de 2.8 y 3.6% respectivamente. El perfil en ácidos grasos, expresado como porcentaje de ésteres metílicos, mostró que el grupo más importante fue el de los ácidos grasos saturados (SFA, 35.1-54%), seguido por los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, 22-42.5%). El ácido palmítico fue el principal componente entre los ácidos grasos saturados, mientras que el ácido oleico fue el principal entre los monoinsaturados. Entre los ácidos grasos de la familia omega-3 se destacaron el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20: 5 w3) y ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6 w3) con un rango entre 2.0-12%) y 1.8-18.3% respectivamente. De la familia omega-6 se destacó el ácido araquidónico (AA, C20: 4 w6) con un rango entre 1.9-10%. Considerando la composición en ácidos grasos y el contenido lipídico, marari fue la especie con el mayor aporte de ácidos grasos w-3 y w-6, con valores de 850 y 240 mg por cien gramos de parte comestible respectivamente.

Palabras clave: Peces de Isla de Pascua, ácidos grasos, análisis proximal.

SUMMARY. Fatty acid composition and proximate of seven fish species of Eastern Island During the last years the study of fatty acids belonging to omega3 family in marine foods has been emphasized due to their beneficial effects on cardiovascular diseases, which are the main cause of death in occidental countries, as described by literature. In order to obtain more information about the fatty acid composition of the main marine species fat constituent, usually consumed by Eastern Island population, seven fish species were analyzed: Maito (*Acanthurus leucopareius*), Matuko (*Bodianus vulpinus*), Marau (*Myripristis tiki*), Nanue (*Kiphusus bigibus*), Moki (Mori and Marari, *Anampses caeruleopunctatus*), Puia (*Girellops nebulosus*) and Raea (*Cheilodactilus plessisi*). Fatty acid profile and proximate analysis were determined for each species. According to its fat content, Nanue and Marari showed the highest lipid percentage, with values of 2.8 and 3.6% respectively. Fatty acid profile expressed as methyl esters percentage indicated that the most important group was that of the saturated fatty acids (SFA 35,1-54%), followed by the polyunsaturated fatty acids group (PUFA, 22-42,5%). Palmitic acid was the most important between saturated fatty acids, while oleic acid was the main fatty acid between the monounsaturated group. In omega-3 family fatty acids, eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5w3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6w3) were the most important, with values in a range between 2.0-12% and 1.8-18.3%, respectively. Omega-6 family showed a higher content in arachidonic acid (AA, C20:4w6) with values between 1.9 and 10%. Considering the fatty acid composition and the fat content, Marari was the highest in w-3 and w-6 fatty acid contribution, with values of 850 and 240 mg per one hundred grams of edible portion respectively.

Key words: Eastern Island fish, fatty acids, proximate analysis.

INTRODUCCION

Te Pito o Te Hénua, Rapa Nui, Eastern Island o Isla de Pascua, está ubicada en el Océano Pacífico a 27° 07' latitud sur y a 109° 22' longitud oeste, a 3.800 kilómetros de la costa Chilena y fue descubierta en 1722 por el holandés Jacob Roggeveen.

La costa que baña la isla cuenta con una variedad de especies de peces que se destacan por sus formas atípicas y

vistosos colores, los cuales constituyen la base de la dieta tradicional del pueblo rapanui.

El conocimiento del aporte nutricional y valor calórico de las especies marinas ha sido motivo de extensos estudios en varios países. La Monografía Proximate Composition of New Zealand Marine Finfish and Shellfish (1), contiene los datos de 62 especies, señalando que tal información es fundamental cuando se inicia la exportación de productos pesqueros a otros países, ya que se trata de especies propias no conocidas y cuya

información nutricional se requiere para ser incorporada en el etiquetado como lo exigen algunas reglamentaciones extranjeras.

El catálogo de Corfo «Chile y sus recursos pesqueros» (2), incluye 23 especies de Isla de Pascua, pero los antecedentes aportados son escasos para la mayoría de ellos. Entre las especies más relevantes se pueden citar Nanue (*Girellops Nebulosus*), Waho o Peto (*Acanthocybium Solandri*), Mahi Maki o Dorado (*Coryphaena Hippurus*), Auhopu o Cachurreta (*Katsuwonus Pelamis*), Atún Aleta Larga o Kahi (*Thunnus Alulunga*) que se exporta congelado a USA y Puerto Rico, Atún de ojo grande o Kahi Mata (*Thunnus Obesus*), entre otros.

La literatura cuenta con algunas investigaciones hechas en Australia, Nueva Zelandia y Estados Unidos, que informan la composición proximal y perfil lipídico de algunas especies marinas del Océano Pacífico (1, 3-7). Sin embargo, no se dispone de información nutricional respecto de las especies incluidas en el presente estudio.

En los últimos años se ha generado un mayor conocimiento sobre la función nutricional de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga w-3. Estos ácidos grasos son esenciales en muchas funciones bioquímicas, y aunque se requieren en pequeñas cantidades, los seres humanos tienen muchas limitaciones para formarlos a partir de precursores más simples, por lo que deben obtenerse de la dieta (8). Los recién nacidos y los adultos con predisposición al desarrollo de enfermedades cardiovasculares constituyen los grupos más vulnerables a la deficiencia de estos ácidos grasos (8).

Los aceites de origen marino son una fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados de la familia omega-3, como son el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), y se considera que presentan un efecto beneficioso en la prevención de los accidentes cardiovasculares (9-11).

Los aceites de pescado proceden fundamentalmente de peces que habitan en las profundidades oceánicas (12). Los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 constituyen alrededor del 25 % de los ácidos grasos presentes en los aceites de pescado (12).

La acción principal de los ácidos grasos w-3 sobre las lipoproteínas plasmáticas consiste en reducir los niveles de triglicéridos. Esta acción se ejecuta en el hígado donde interfieren en la incorporación de los triglicéridos a las partículas de VLDL, lo que produce una disminución de la cantidad de triglicéridos secretados a la circulación (12).

El EPA es precursor de eicosanoides de la serie 3 y posee entre otras funciones, actividades reguladoras de la homeostasis cardiovascular, ejerciendo una acción antitrombótica (13). Por otro lado el DHA es un ácido graso esencial en la formación de membranas y en la función del tejido nervioso y visual. Además cumple funciones regulatorias en el sistema inmunológico (14).

Por los antecedentes ya señalados en el presente trabajo se consideró importante conocer la composición en ácidos grasos y el análisis proximal de siete especies marinas de consumo habitual para la población de Isla de Pascua.

Este estudio se realizó gracias a la colaboración de la Armada de Chile y del Instituto Oceanográfico Nacional, que organizaron una expedición científica a Isla de Pascua desde el continente.

MATERIALES Y METODOS

En este estudio se analizaron siete especies de pescado de consumo habitual en Isla de Pascua conocidas como: MAITO o pez cirujano (*Acanthurus leucopareius*), Matuku o motuku (*Bodianus vulpinus*), Marauo bohemio (*Myripristis tiki*), Nanue (*Kiphosus bigibus*), Moki (Mori o Marari, *Anampses caeruleopunctatus*, dependiendo si la especie es hembra o macho respectivamente), Puia (*Girellops nebulosus*), Raea (*Cheilodactylus plessisi*).

La identificación de las muestras se realizó consignando sus nombres comunes o populares al momento de su captura, posteriormente se identificaron científicamente con ayuda bibliográfica (15,16) y en colaboración con un profesional del museo de Historia Natural.

Las muestras de las diferentes especies se capturaron en las costas de Isla de Pascua, en el mes de Septiembre y se guardaron congeladas a -20°C hasta el momento de su análisis. Los ejemplares se filetearon, se desechó todo el material no comestible (cabeza, cola, piel, espinazo), y el material comestible se homogeneizó en un procesador de alimentos. A cada muestra se le realizaron las siguientes determinaciones:

Humedad: Por desecación a 105°C hasta peso constante (17)

Materia Grasa: Según el método Bligh y Dyer (18)

Proteínas: Se utilizó el método de Kjeldahl (17).

Cenizas: Por calcinación en mufla a 525°C, hasta la obtención de cenizas blancas y peso constante (17).

Composición en ácidos grasos de la materia grasa extraída

Se realizó por cromatografía Gas-Líquido, previa preparación de ésteres metílicos, según Metcalfe (19). Se empleó un cromatógrafo Konic 2000-C con columna SP 2330 (10% Chromosorb WaW 100/120 mesh) de 30 m de largo, 0.32 mm de diámetro interno. Detector de ionización de llama. Temperaturas: inyector 240°C, detector 240°C, horno 160-225°C a 5°C/min.

Para la identificación de los ácidos grasos se empleó una mezcla de estándares de ácidos grasos marca Supelco y se compararon los tiempos de retención de los ácidos grasos de los patrones con los de las muestras.

El cálculo del contenido de ácidos grasos en el alimento se llevó a cabo utilizando la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{g de ácido graso}}{100 \text{ g de parte comestible}} = \frac{\% \text{ de ácido graso} \times \% \text{ de lípidos totales} \times Fc}{100}$$

donde Fc es un factor de corrección que representa la relación entre el contenido de ácidos grasos y los lípidos totales de la muestra. Para especies marinas magras la literatura recomienda un Fc de 0,7 y para especies marinas grasas un Fc de 0,9 (20).

RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 muestra la composición proximal de las siete especies de pescado analizadas. En este estudio se encontraron valores promedio de humedad en un rango entre 74.4-81.7%, la literatura (21,22) describe para especies continentales humedades que varían entre 65% (Sierra) y 81% (Congrio, Merluza), en cambio en otras zonas del pacífico, los valores fluctúan entre 73.4% (Gray mullet) y 82% (Red cod-bacalao) (5,1,6).

TABLA 1
Análisis proximal de siete especies de pescado
de Isla de Pascua

Especie	n	Humedad	Cenizas	Lípidos	Proteínas	E.N.N.
		g/100 g de parte comestible				
MARAU	3	77.2 ± 0.3	0.9 ± 0.1	0.3 ± 0.0	20.3 ± 0.2	1.3 ± 0.1
MATUKU	2	78.3 ± 0.2	1.2 ± 0.2	0.5 ± 0.0	18.7 ± 0.0	1.4 ± 0.0
MAITO	2	81.7 ± 0.0	1.3 ± 0.0	0.7 ± 0.0	14.3 ± 0.1	2.1 ± 0.0
MORI	2	78.7 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1	18.6 ± 0.1	0.2 ± 0.1
PUIA	2	77.9 ± 0.3	1.4 ± 0.0	1.7 ± 0.0	18.4 ± 0.0	0.7 ± 0.2
RAEA	2	77.1 ± 0.0	1.3 ± 0.0	1.7 ± 0.0	18.1 ± 0.1	1.9 ± 0.0
NANUE	3	74.4 ± 0.1	1.4 ± 0.0	2.8 ± 0.0	20.8 ± 0.0	0.5 ± 0.2
MARARI	2	75.5 ± 0.0	1.4 ± 0.0	3.6 ± 0.1	18.7 ± 0.0	0.9 ± 0.0

Proteínas N x 6.25 ; E.N.N: extracto no nitrogenado (calculado por diferencia)

n: número de muestras

En cuanto al contenido de lípidos, Nanue y Marari correspondieron a la categoría de peces grasos (23), con valores de 2.8% y 3.6% respectivamente, mientras que, las otras especies se consideraron como peces magros, con un contenido lipídico en un rango entre 0.3% y 1.7%. Aunque en este trabajo no se realizó un estudio de variación estacional del contenido graso, debido a que el proyecto contempló sólo una visita a la isla, se esperaba que el contenido en lípidos de estas especies fuera mayor durante los meses más fríos, ya que principalmente en las especies de tipo graso el contenido lipídico tiende a aumentar desde los meses cálidos hacia estaciones más frías.

Se puede observar además, que existe una relación inversa entre el contenido de humedad y de materia grasa en las

distintas especies, lo cual está descrito en la literatura (24,25).

Los valores obtenidos para el contenido proteico fluctuaron entre 14.3% y 20.8%. En la literatura se encuentran valores entre 16% (Congrio) y 22% (Sierra) para especies continentales (21,22). En otras zonas del pacífico se han descrito valores entre 13% (Orange Roughy) y 22% (Gray Mullet) (5,1,6). Estos valores muestran que estas especies de pescado son una muy buena alternativa, en cuanto al aporte proteico, respecto de otras fuentes como vacuno, cordero, cerdo y otras similares.

En la Tabla 2 se presenta la composición en ácidos grasos del aceite extraído de las siete especies de pescado analizadas, expresado en porcentaje de ésteres metílicos. Se observó en todas las muestras analizadas un predominio en ácidos grasos saturados, en un rango que fluctuó entre 35.1% y 54.0%. Entre los ácidos grasos saturados se destacaron el ácido palmítico (C16:0), con valores promedio entre 21.3% y 44.3% y el ácido estéarico (C18:0), con valores promedio entre 5.7% y 10.2%. El segundo grupo en importancia en las especies analizadas fueron los ácidos grasos poliinsaturados, con porcentajes que variaron entre 22.0% y 42.5%, se destacaron en este grupo el ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6w3), ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5w3) y ácido araquidónico (AA, C20:4w6) presentes en un rango entre 1.8-18.3%, 2.0-12.0% y 1.9-10.0% respectivamente. Finalmente, los ácidos grasos monoinsaturados fluctuaron entre 20.6% y 31.0%, y fue el ácido oleico (C18:1w9) el predominante en este grupo, con valores comprendidos entre 14.1% y 27.7%. Se destacó también la presencia de ácido palmitoleico característico de las materias grasas de origen marino.

En cuanto a los ácidos grasos esenciales, el ácido linoleico (C18:2 w6) y ácido linolénico (C18:3 w3) se encontraron en un rango entre 0.3-2.4% y 0.9-3.8% respectivamente.

El índice de poliinsaturación alcanzó valores entre 0.4 y 1.2. En otras especies del pacífico (5,1,6) los índices de poliinsaturación varían entre 0.2 y 5.4.

Los peces de Isla de Pascua presentaron una tendencia de equilibrio entre los tres grupos de ácidos grasos analizados, esta tendencia concuerda con datos de otras publicaciones realizadas para especies chilenas continentales (26,23) y para especies de otras latitudes (3,5,7)

En la Tabla 3 se presenta el contenido de EPA, DHA y AA, para las muestras analizadas, expresadas por 100 g de parte comestible. El contenido en EPA fluctuó entre 6.9-343 mg/100g, mientras que el DHA fluctuó entre 5-230 mg/100g. Resultados similares se han descrito en la literatura para EPA (3-220 mg/100g), DHA (3-360 mg/100g), en otras especies del pacífico. Las especies Nanue y Marari aportaron los mayores contenidos de ácidos grasos omega-3, con valores superiores a los 500 mg por 100 g de parte comestible.

TABLA 2
Composición porcentual promedio de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de los aceites extraídos de siete especies de pescado de Isla de Pascua (porcentaje de ésteres metílicos)

Acidos Grasos		MARAU X ± D.S	MATUKU X ± D.S	MAITO X ± D.S	MORI X ± D.S	PUIA X ± D.S	RAEA X ± D.S	NANUE X ± D.S	MARARI X ± D.S
C12:0	Ac. láurico	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0
C14:0	Ac. mirístico	3.5 ± 0.1	3.3 ± 0.2	1.9 ± 0.2	2.9 ± 0.1	4.8 ± 0.3	3.7 ± 0.4	5.4 ± 0.5	6.0 ± 0.1
C15:0	Ac. decapentanoico	0.8 ± 0.2	0.3 ± 0.0	0.6 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.0 ± 0.0
C16:0	Ac. palmítico	30.1 ± 0.3	44.3 ± 0.6	22.9 ± 0.1	21.3 ± 0.1	21.8 ± 0.4	27.6 ± 0.4	35.6 ± 0.7	24.9 ± 0.7
C17:0	Ac. decaheptanoico	1.2 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.7 ± 0.0	0.8 ± 0.2	2.0 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.6 ± 0.0
C18:0	Ac. esteárico	9.8 ± 0.6	5.7 ± 0.4	9.6 ± 0.4	9.2 ± 0.1	6.8 ± 0.5	10.2 ± 0.5	7.1 ± 0.5	7.4 ± 0.1
C20:0	Ac. eicosanoico	0.3 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.9 ± 0.4	0.4 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.0 ± 0.0
C22:0	Ac. docosanoico	1.3 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Total saturados		46.9 ± 0.6	54.0 ± 0.9	37.4 ± 0.3	35.1 ± 0.4	37.0 ± 0.3	42.7 ± 0.1	49.6 ± 0.7	39.2 ± 0.6
C14:1	Ac. miristoleico	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.4
C16:1	Ac. palmitoleico	3.5 ± 0.1	7.7 ± 0.4	3.4 ± 0.1	4.3 ± 0.0	5.9 ± 0.4	4.4 ± 0.3	5.1 ± 0.1	5.2 ± 0.4
C18:1w9	Ac. oleico	18.0 ± 0.3	16.4 ± 0.5	27.7 ± 0.2	16.7 ± 1.1	14.1 ± 0.5	25.3 ± 0.8	15.1 ± 0.4	17.7 ± 0.3
C20:1?	Ac. eicosanoico	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Total monoinsaturados		21.5 ± 0.2	24.0 ± 0.9	31.0 ± 0.3	22.8 ± 0.9	20.6 ± 0.1	29.9 ± 0.7	20.7 ± 0.5	23.3 ± 0.3
C16:2	Ac. decahexadienoico	1.8 ± 0.1	0.7 ± 0.2	1.6 ± 0.1	0.7 ± 0.0	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.0	0.3 ± 0.0	1.0 ± 0.0
C18:2?	Ac. decaoctadienoico	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.0	0.7 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
C18:2w6	Ac. linoleico	2.0 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.8 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.8 ± 0.1	2.4 ± 0.0	1.6 ± 0.1
C18:3w3	Ac. linolénico	2.9 ± 0.2	3.8 ± 0.1	1.7 ± 0.0	2.9 ± 0.1	0.9 ± 0.4	1.8 ± 0.0	2.5 ± 0.1	3.2 ± 0.2
C18:4w3	Ac. decaoctatetraenoico	0.4 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.2 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.3	0.0 ± 0.0
C20:2?	Ac. eicosadienoico	0.6 ± 0.2	1.9 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.8 ± 0.1	2.1 ± 0.2	0.7 ± 0.0	0.6 ± 0.0	1.0 ± 0.1
C20:3?	Ac. eicosatrienoico	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	1.6 ± 0.3	0.7 ± 0.1	1.2 ± 0.3	0.7 ± 0.1
C20:4w6	Ac. araquidónico	2.3 ± 0.3	2.5 ± 0.1	2.5 ± 0.3	10.0 ± 0.1	8.3 ± 0.3	5.7 ± 0.1	1.9 ± 0.3	7.2 ± 0.1
C20:4w3	Ac. eicosatetraenoico	0.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
C20:5w3	Ac. eicosapentaenoico	3.3 ± 0.2	4.4 ± 0.4	2.0 ± 0.2	11.0 ± 0.6	12.0 ± 0.3	4.1 ± 0.3	4.7 ± 0.3	10.6 ± 0.3
C22:4w3	Ac. docosatetraenoico	1.9 ± 0.3	1.5 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.9 ± 0.2	3.5 ± 0.3	1.8 ± 0.1	3.9 ± 0.6	2.5 ± 0.2
C22:5w6	Ac. docosapentaenoico	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.5	0.0 ± 0.0
C22:5w3	Ac. docosapentaenoico	1.7 ± 0.1	1.9 ± 0.0	1.3 ± 0.2	2.2 ± 0.4	1.3 ± 0.1	2.5 ± 0.1	3.8 ± 0.3	2.8 ± 0.5
C22:6w3	Ac. docosahexaenoico	14.0 ± 0.3	1.8 ± 0.1	18.3 ± 0.4	8.8 ± 0.6	8.4 ± 0.4	7.5 ± 0.3	7.6 ± 0.2	7.1 ± 0.3
Total poliinsaturados		31.6 ± 0.8	22.0 ± 0.0	31.7 ± 0.1	42.2 ± 1.4	42.5 ± 0.4	27.5 ± 0.5	29.7 ± 1.1	37.6 ± 0.9
Indice de poliinsaturación		0.7	0.4	0.8	1.2	1.1	0.6	0.6	1

tr:trazas; ?:probable

TABLA 3
Aporte de EPA, DHA y AA de siete especies de pescado de Isla de Pascua

Especie	EPA	DHA	AA	Omega-3 Totales
mg/100 g de parte comestible				
MARAU	6.9 ± 0.4	29.4 ± 0.6	4.8 ± 0.6	52.5 ± 2.7
MATUKO	12.3 ± 1.1	5.0 ± 0.3	7.0 ± 0.3	41.7 ± 2.2
MAITO	8.4 ± 0.8	76.9 ± 1.7	10.5 ± 1.3	106.7 ± 4.5
MORI	100.1 ± 5.5	80.1 ± 5.5	91.0 ± 0.9	250.2 ± 17.3
PUIA	142.8 ± 3.6	100.0 ± 4.8	98.8 ± 3.6	342.7 ± 21.4
RAEA	48.8 ± 3.6	89.2 ± 3.6	67.8 ± 1.2	217.8 ± 9.5
NANUE	118.4 ± 7.6	191.5 ± 5.0	47.9 ± 7.6	579.6 ± 45.4
MARARI	343.4 ± 9.7	230.0 ± 9.7	233.3 ± 3.2	848.9 ± 48.6

EPA.: ácido eicosapentaenoico; DHA ácido docosahexaenoico; AA ácido araquidónico

Se puede observar que existen cantidades importantes de ácidos grasos de cadena larga que incluyen en su estructura 4, 5 y hasta 6 insaturaciones (dobles enlaces), lo cual además de ser una de las características importantes de los lípidos marinos, contribuyen en forma preponderante al carácter tradicionalmente inestable de este tipo de materia grasa.

Se ha observado que los factores ambientales como la dieta, la época de captura y la temperatura del agua, además de algunas diferencias biológicas tales como edad, sexo y tamaño de las especies afectan la composición en ácidos grasos (3,4,27). Por otra parte, la dieta de los peces suele sufrir grandes variaciones dependiendo del área geográfica en el cual el pez se desarrolla y de la estación del año, e incluso se ha observado que en una misma época y región varía de un año a otro. Por lo tanto este factor podría introducir importantes variaciones en el contenido graso y el perfil lipídico de los peces.

Los pescados son una excelente fuente de ácidos grasos omega-3, principalmente EPA y DHA. Este hecho se inserta dentro de las actuales recomendaciones dietarias que estimulan el consumo de pescado, sobre todo en poblaciones como la nuestra, que presenta un bajo consumo per cápita, a pesar de contar con una amplia y permanente oferta de este tipo de productos

REFERENCIAS

- Vlieg P. Proximate composition of New Zealand Marine Finfish and Shellfish. Biotechnology Division Dpt. Scientific and Industrial Research. New Zealand. 1988.
- Chile: Sus recursos Pesqueros. Corfo. Instituto de Fomento Pesquero. 1988.
- Sigurisdóttir S, Pálmadóttir H. Fatty acid composition of thirty-five icelandic fish species. *JAOCS* 1993;70(11):254-261.
- Marine oil products in australia. *INFORM*. March 1994;5(3):254-261.
- Quigley RL, Burlingame BA, Milligan GC, Gibson JJ. Fats and fatty acids in New Zealand foods. New Zealand Institute for Crop and Food Research Ltd. 1995.
- Dignam CA, Burlingame BA, Arthur JM, Quigley RJ, Milligan GC. The pacific Islands food composition tables. New Zealand Institute for Crop and food research Ltd., 1995.
- U.S. Department of Agriculture. Composition of foods: finfish and shellfish products. Washington D.C. Human Nutrition Information Service. Agriculture handbook N°8. 1987
- Valenzuela A, Garrido A. Importancia nutricional de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 de cadena larga: El beneficio de su suplementación. *Rev Chil Nutr* 1998; 25 (3):21-29.
- Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet* 1978; 2:117.
- Phillipson BE, Rothrock DW, Connor WE, Harris WS, Illingworth DR. Reduction of plasma lipids, lipoproteins and apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *N Engl. Med.* 1985; 312:1210.
- Kromhout D, Bosschieler EB and Coulander CL. The inverse relation between fish oil consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med.* 1985; 312:1205.
- Grundy S. Grasa Alimentaria, en: Conocimientos actuales sobre nutrición, séptima edición; Ekhard E. Ziegler y L. J. Filer (ed). ILSI, Washington, pag. 49-63, 1997.
- Levinson PD, Iosiphidis AH, Saritelli AL, Herbert PN and Steiner M. Effect of n-3 fatty acids in esencial hypertension. *Am J Hypertension* 1990;3:754-760.
- Neuringer M, Anderson GL, Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu Rev Nutr.* 1988; 8:517-541.
- Randall J, Cea A. Los nombres vernaculares de los peces de Isla de Pascua. *Boletín N° 18 del Museo Arqueológico de La Serena*, 1985:284-305.
- Randall J, Cea A. Native name of Easter Island fishes, with comments on the origin of the Rapanui people. *Occasional papers of Bernice Pauuhui Bishop Museum*. XXV (12), 1984; april 30:1-16.
- Official Methods of analysis of the AOAC. 16th Ed. Washington, DC. The Association. 1996
- Bligh EG, and Dyer WJA. Rapid methods of total lipids extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959; 37:911-917.
- Metcalfe L, Schmitz A, Pelka J. Rapid Preparation of fatty acid esters from lipids GLC. *Anal Chem.* 1966; 38:514:515.
- Greenfield H, Southgate DAT. Food composition Data: Production, management and use. Elsevier Science Publisher Ltd., England, 1992; appendix #5.
- Schmidt-Hebbel H, Pennachiotti I, Masson L, Mella MA. Tabla de composición química de los alimentos chilenos. Santiago 8 va Ed. Universidad de Chile. 1992.
- Cajal J, Flandez J. Composición en ácidos grasos, contenido en colesterol y aporte de sodio y potasio de pescados y mariscos consumidos en Chile. 1987.
- Bertullo V. Tecnología de los productos y subproductos de pescados, moluscos y crustáceos. Buenos Aires. Ed. Hemisferio Sur. 1975
- Grunger et al. Fatty acid composition of oils from 21 species of marine fish, freshwater fish and shellfish. *J Am Oils Chem Soc.* 1964; 41:662-667.
- Romero N, Robert P, Masson L, Luck C, Buschmann L. Composición en ácidos grasos y aporte de colesterol de conservas de jurel, sardina, salmón y atún al natural. *Arch Latinoame Nutr.* 1996; 46(1):75-77.
- Masson L, Mella MA. Materias grasas de consumo habitual y potencial en Chile. Santiago. Ed. Universitaria. 1985.
- Kinsella J. Seafoods and fish oils in human health and disease. Marcel Dekker Inc., USA. 1987.

Recibido: 03-09-1999

Aceptado: 17-06-2000

NUEVOS LIBROS

Food Composition and Nutrition Tables. Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen. La composition des aliments. Tableaux des valeurs nutritives. Editada por Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching b. München. Compilación de Heimo Scherz y Friedrich Senser. MEDPHARM Scientific Publishers, Stuttgart 2000. 6ta. Edición revisada y ampliada. 22 x 30 cm, tapa dura. 1.182 pags. 2000. ISBN 3-88-763-076-9.

Nos complace hacer la recensión por segunda vez de este extenso volumen el cual entrega la composición de mas de 800 productos alimenticios, en su Sexta Edición revisada y ampliada. En general el texto sigue los lineamientos de la anterior en cuanto al orden de las secciones: Prefacio a la 6ta. Edición. Contenido, Introducción y explicación de las Tablas, Referencias, Glosario de los constituyentes de los alimentos y agradecimientos, en alemán, inglés y francés.

Los productos que integran la Tabla se distribuyen en los siguientes grupos y sub-grupos: Leche, Productos lácteos (excepto quesos), Quesos, Huevos y sus productos-Grasas y aceites animales, Grasas y aceite vegetales, Margarinas-Carnes, Carnes y vísceras de animales sacrificados (carnero, ternera, res, cerdo, caballo, cabra y conejo), Productos cárnicos(excepto salchichas y pastas de hígado), Carne de caza, Aves, Pescados de mar, Pescados de agua dulce, Crustáceos y moluscos, Productos de pescado, Cereales, Cereales y harinas, Panes y bollos, Pastelería, Tortas, Almidones, Vegetales, Raíces, Tubérculos y sus productos, Hojas, Tallos y flores y sus productos, Vegetales, frutas y sus productos, Bayas y sus productos, Frutas silvestres, Frutas exóticas, Nueces - Jugos, Néctares y concentrados de frutas y bayas - Mermeladas y jaleas de frutas y bayas - Miel, azúcares y edulcorantes - Helados - Bebidas alcohólicas - Bebidas no alcohólicas - Cacao - Café y Té - Levaduras - Saborizantes - Mayonesa -Apéndice I (Aminoácidos libres en frutas y jugos de frutas) - Apéndice II (Carotenoides sin actividad de vitamina A en alimentos). Listado de referencias consultadas en la década 1980-1999. Índice en los 3 idiomas citados.

Cada producto alimenticio informa sobre el aporte energético en calorías y en kilojoulios por 100 g de parte comestible, proveniente de las proteínas, grasas y carbohidratos, seguido del porcentaje de desecho. A continuación el valor promedio de los constituyentes con sus valores mínimos y máximos seguido de la Densidad de Nutrientes para cada uno de ellos, expresada en sus respectivas unidades por megajoulios. De los minerales y oligoelementos tanto en mg como en µg, se informa sobre el contenido de Na, K, Mg, Mn, B, Se, Zn, Fe, Ni, Cr entre otros, para la mayoría de los reglones. En cuanto a vitaminas, la vitamina A se detalla en equivalentes de retinol,

carotenoides totales, betacarotenos, alfacarotenos, criptoxantina, según el caso. Los aminoácidos se indican en g ó mg por 100 de parte comestible.

Todas las tablas han sido revisadas y actualizadas. Los principales cambios de esta Sexta Edición con respecto a la anterior son la inclusión de un subgrupo “vegetales silvestres” en el grupo de vegetales, entre los cuales se encuentra el llantén (*Plantago mayor* L) y la alcaravea (*Carum carvi* L). Se ha incorporado una sección “compuestos especiales biológicamente activos” dada la importancia de los fitoquímicos y el grupo de ácidos grasos se amplió con la información sobre el contenido en ácidos grasos “trans”. De igual manera, todos los valores se han ajustado y redondeado de acuerdo a los standares internacionales para una mas fácil lectura y rápida interpretación. No se dispone de un índice de nombres científicos, lo cual sería de gran utilidad dada la diversidad de reglones. Se trata de una obra de particular utilidad para todos en el campo de la composición de alimentos. Pensamos que puede ser de especial valor como texto de orientación, dentro del Proyecto LatinFoods que se adelanta coordinadamente en la región.

José Félix Chávez P.

“Clinical nutrition of the essential trace elements and mineral”. Editado por John D. Bodgen y Leslie M. Klevay. Prologo de Erwin Rosenberg. Humana Press Inc. 999 Riverview Drive, Suite 208. Totowa, New Jersey 07512, Estados Unidos. Cubierta dura. ISBN: 0-896-03598-0. U.S.\$ 125,00; 397 páginas.

Este libro de fácil lectura, pertenece a la Serie Nutrición y Salud de esta Casa Editorial y constituye una valiosa puesta al día del rol desempeñado por los elementos trazas y otros macrominerales en nutrición clínica. La obra se ofrece en 21 capítulos distribuidos en 4 secciones. La primera “Conceptos básicos, consumo, deficiencia y toxicidad” consta de 7 temas, 2 de ellos exponen el consumo prehistórico y presente de elementos trazas y minerales. La segunda sección “Elementos trazas y nutrición mineral en personas sanas” recoge en 4 capítulos este enfoque en el embarazo, lactancia, adolescentes y tercera edad. La última sección mas extensa, “Elementos trazas y nutrición mineral en enfermedades”, esta integrada por 10 capítulos que incluyen genética, trastornos endocrinos, óseos, renales, cardiovasculares, gastrointestinales y desórdenes oftalmológicos. Al final de todos y cada uno de los capítulos el lector encontrará abundante y actualizada bibliografía. La última sección informa sobre revistas y otras obras pertinentes al área. Un texto recomendado para los interesados en elementos trazas, micro y macrominerales.

José Félix Chávez P.

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 periodísticas 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 Lageforeing, 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 discrepe 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

Mecanografiarse 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. Escribase 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 indizadores a clasificar el artículo, las cuales se publicarán junto

con el resumen. Utilícense para este propósito los términos de la lista *Medical Subject Headings* (MeSH) [Encabezamientos de materia médica] del *Index Medicus*; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en 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 llevan 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

Expresa el propósito del artículo. Resume 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

Describe 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

Describe 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 identifícalas claramente como tales. Cuando sea apropiado, puede incluir recomendaciones.

AGRADECIMIENTOS

En un lugar adecuado del artículo (como nota al pie de la primera página o como apéndice del texto; véanse los requisitos de la revista) 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, Lai 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, Pesarino 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 psychological 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-Verlag, 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. London: Rex, 1973.

Trabajos inéditos**35. En prensa:**

Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. *Science*. In press.

CUADROS

Mecanografe 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, utilícese 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 × 173 mm, sin exceder de 203 × 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*.

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
María 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 Vitori (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



CESNI

CENTRO DE ESTUDIOS
SOBRE NUTRICIÓN INFANTIL



SLAN

SOCIEDAD LATINOAMERICANA
DE NUTRICIÓN

Realizando nuestro compromiso con la nutrición
Kellogg's

**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 Expressa) 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