

ALAN

Volumen 48. N° 1. Marzo 1.998

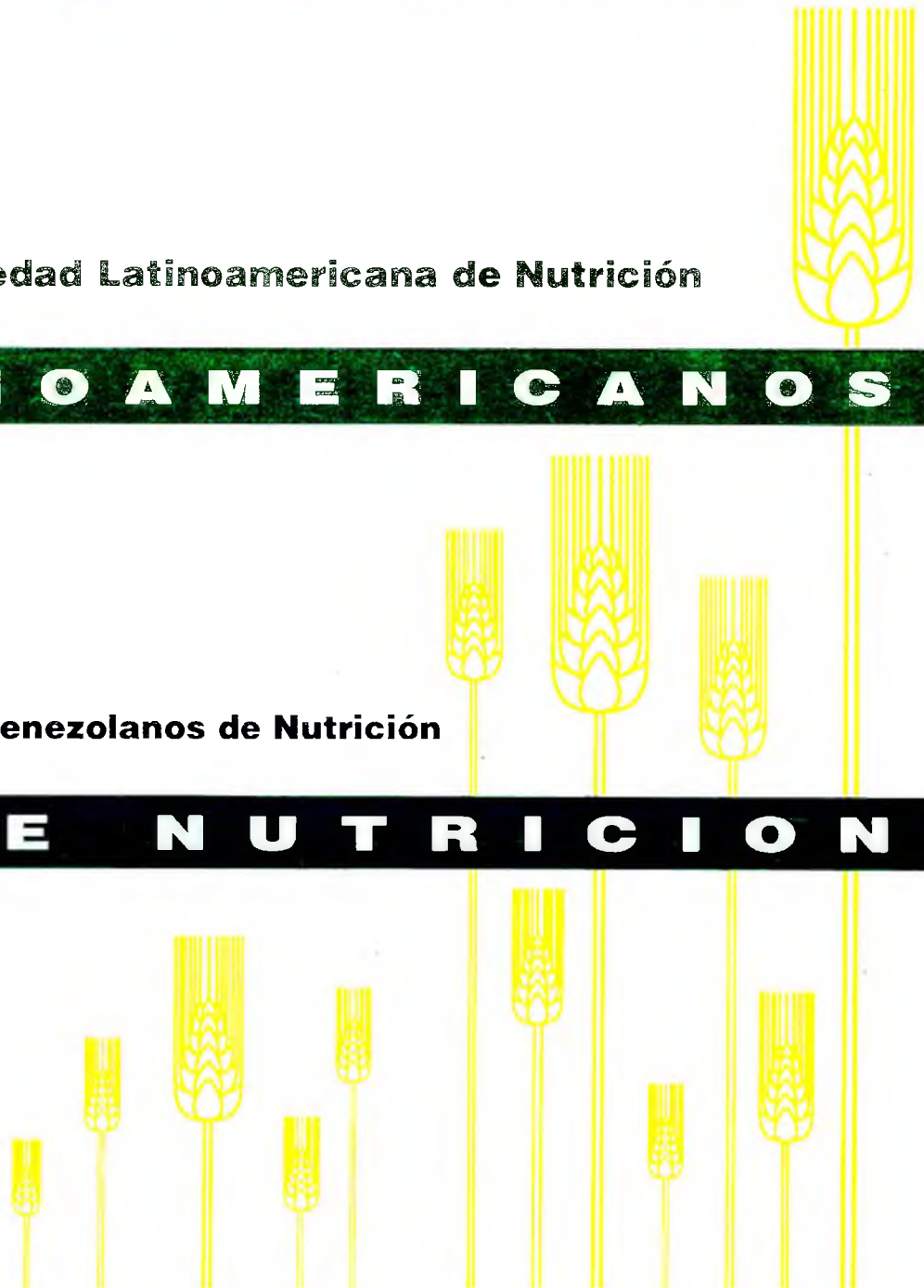
ARCHIVOS

Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

LATINOAMERICANOS

Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición

DE NUTRICION



Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN) es editado como órgano oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), para la divulgación de conocimientos en el campo de la alimentación y de la nutrición principalmente en el Hemisferio Americano. En sus páginas se acogen manuscritos en español, inglés, portugués y francés, tanto de miembros como de aquellos que no sean miembros de la Sociedad, y de cualquiera de las siguientes categorías:


1. Trabajos generales (revisiones científicas críticas); 2. Trabajos de investigación (originales); 3. Trabajos de nutrición aplicada (resultados analíticos de programas de intervención y discusión de recomendaciones de aplicación práctica), y 4. Cartas al Editor (comentarios cortos de interés general o relacionados con resultados o conceptos científicos publicados previamente en *Archivos*).

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

Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Apartado 62.778, Chacao.
Avenida Francisco de Miranda
Caracas 1060, Venezuela, S.A.
Fax (58-2) 284.85.43

ENTIDADES PATROCINANTES

- **Fundación CAVENDES**
Caracas, Venezuela
- **Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)**
Guatemala, Guatemala C.A.
- **INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION, Venezuela**
- **CONICIT, Venezuela**
- **KELLOGG'S América Latina**
-  **PRODUCTOS ROCHE, América Latina**
- **Fundación POLAR**
- **Protein Technologies International**
Caracas, Venezuela
- **Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo, CANIA**
- **Alimentos LE BISCUIT C.A.**
- **PARMALAT de Venezuela**
- **BASF Venezolana S.A.**

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 48

MARZO 1998

Nº 1

Contenido

	Páginas
EDITORIAL	5
ARTICULOS GENERALES	
γ-Oryzanol: Un importante componente del aceite de salvado de arroz Eliete Malfatti Serra Scavariello, Daniel Barrera Arellano	7
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Peso para la talla en adultos: comparación de clasificaciones con y sin corrección por contextura Rosa Armenia Hernández Hernández, Yolanda Hernández de Valera	13
Estado nutricional de alumnos matriculados em escolas públicas de tempo integral^o. São Paulo, Brasil Marina Vieira da Silva	18
Efecto de la altura sobre la absorción del hierro Fernando Pizarro, Nelly Zavaleta, Eva Hertrampf, Rocío Berlanga, Liliana Camborda, Manuel Olivares	25
Bioquímica Nutricional	
La dieta como determinante del desarrollo del sistema nervioso central: Rol de los ácidos grasos esenciales Mariane Lutz	29
Methionine supplementation of soya products: Effects on nitrogen balance parameters José Eduardo Dutra de Oliveira, Nelson de Souza, Alceu Alfonso Jordão Jr, J. Sérgio Marchini	35

Ciencia de Alimentos

Comparative study of beans from vine and bush type of vegetative growth. Effect of storage on cell wall components as factors in increasing cooking time Ricardo Bressani, Eduardo Calderon, Carlos Chon	41
Efecto de la cocción sobre la digestibilidad proteica del sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> (L) Moench) Agudelo R.A., Alarcón O.M., Fliedel G.	47
Inactivación de lipoxigenasas e inhibidores de tripsina en un proceso de obtención de leche de soja por molienda directa y ultra alta temperatura (MD-UAT) Hugo Geronazzo, Alberto Macoritto, Adela Mercado, María A. Toro, Carlos M. Cuevas	52
Métodos de extracción de quitina a partir de cáscara de camarón Araceli Pinelli Saavedra, Alma Rosa Toledo Guillén, Ingrid Rebeca Esquerra Brauer, Alma Rosa Luviano Silva, Inocencio Higuera Ciapara	58
A test to detect cane-sugar-honey Patricia Vit	62
Avaliação dos teores de ferro nos alimentos da cesta básica Eliana Rose Serpe Elpo, Renato João Sossela de Freitas, Eliane Carneiro Gomes	65
Microbiología de Alimentos	
Presencia de coliformes totales, <i>Escherichia coli</i> y <i>Listeria sp.</i> en fórmulas enterales Ma. Laura Arias, Rafael Monge, Julia Rodríguez.....	68
LatinFoods	
Composición lipídica de huevos de gallinas alimentadas con productos grasos y proteicos marinos Carola García, Cecilia Albala.....	71
Valor nutritivo y aceptabilidad de la carne de chinchilla Silvia Rocío Echalar, María Joaquina Morón Jiménez, Adriana Noemí Ramón.....	77
NOTAS	82
INFORMACION PARA LOS AUTORES	83

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 48

MARCH 1998

Nº 1

Contents

	Pages
EDITORIAL	5
GENERAL ARTICLES	
γ-Oryzanol: an important component in rice bran oil Eliete Malfatti Serra Scavariello, Daniel Barrera Arellano	7
RESEARCH PAPERS	
Human Nutrition	
Weight-Height in adult: comparison of clasifications adjusted and non adjusted by frame size Rosa Armenia Hernández Hernández, Yolanda Heñández de Valera	13
Nutritional status of students of full time public schools. São Paulo. Brasil. Marina Vieira da Silva	18
Effect of altitude on iron absorption Fernando Pizarro, Nelly Zavaleta, Eva Hertrampf, Rocío Berlanga, Liliana Camborda, Manuel Olivares	25
Nutritional Biochemistry	
Diet as a determinant of the central nervous system development: role of essential fatty acids Mariane Lutz	29
Methionine supplementation of soya products: Effects on nitrogen balance parameters José Eduardo Dutra de Oliveira, Nelson de Souza, Alceu Alfonso Jordão Jr, J. Sérgio Marchini	35

Food Science

Comparative study of beans from vine and bush type of vegetative growth. Effect of storage on cell wall components as factors in increasing cooking time Ricardo Bressani, Eduardo Calderon, Carlos Chon	41
Effect of cooking on the protein digestibility of sorghum Agudelo R.A., Alarcón O.M., Fliedel G.	47
Lipoxygenases and trypsin inhibitors inactivation in a soymilk processing by direct milling and ultra high temperature (DM-UHT) Hugo Geronazzo, Alberto Macoritto, Adela Mercado, María A. Toro, Carlos M. Cuevas	52
Shrimp shell waste as source of chitin biopolymers Araceli Pinelli Saavedra, Alma Rosa Toledo Guillén, Ingrid Rebeca Esquerria Brauer, Alma Rosa Luviano Silva, Inocencio Higuera Ciapara	58
A test to detect cane-sugar-honey Patricia Vit	62
Evaluation of iron contents in foods of the basic diet Eliana Rose Serpe Elpo, Renato João Sossela de Freitas, Eliane Carneiro Gomes	65
Food Microbiology	
Presence of total coliforms, <i>Escherichia coli</i> and <i>Listeria sp.</i> in enteral formulas. Ma. Laura Arias, Rafael Monge, Julia Rodríguez	68
LatinFoods	
Lipid composition of shell eggs from hens fed marine protein and fat products Carola García, Cecilia Albala	71
Chemical, biological y and acceptability of chinchilla's meat Silvia Rocío Echalar, María Joaquina Morón Jiménez, Adriana Noemí Ramón	77
NOTES	82
INFORMATION TO AUTHORS	83

Editorial

Con genuino agradecimiento

“Archivos Latinoamericanos de Nutrición” (ALAN), órgano de divulgación de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, es dependiente en gran medida, de los Revisores o Arbitros encargados de enjuiciar y emitir opiniones sobre los manuscritos recibidos. Esta labor anónima, en la cual se invierte un tiempo precioso no siempre adecuadamente valorado, es imprescindible y no es exagerado decir que ALAN no podría seguir adelante sin este apoyo profesional. La Oficina Editorial se complace en expresar genuino agradecimiento a las siguientes personas quienes en 1997 brindaron efectiva y desinteresada colaboración en la lectura y corrección de los manuscritos. Nuestro especial reconocimiento a la Dra. Eva Hertrampf del INTA, a la Lic. Magda Fischer del INCAP y al Dr. Adolfo Chávez V. del INN “SZ” por su dedicación en la coordinación de estas labores.

Oscar Alarcón C.
Juan de Dios Alvarado
Hugo Amigo
Héctor Araya
José A. G. Areas
Jaime Ariza M.
Guillermo Arroyave
Denis Barclay
Daniel Barrera Arellano
Rafael Bello
Rafael M. Belloso
Adriana Blanco Metzler
Mercedes L. de Blanco
France Bégin
José María Bengoa
Héctor Bourges R.
Erik Boy
Ricardo Bressani
Virgilio Bosch Román
Odoardo Brito A.
Ana Graciela Briceño
Jesús Bulux
Roberto Carlos Burini
Benjamín Caballero
Germán Camejo
Eduardo S. Castro Montero
Wanda Carrasco
Sara Josefina Closa
Francisco Chew
Omar Dary M.
José E. Dutra de Oliveira
Hedi Deman
Leonardo De León
Juan Ignacio Egaña
Luiz G. Elías
Charles E. Elson
Patricia R. de Ferrer
Eglis González Gamero
Marisa Guerra M.

Marisela Granito
Gladys Henríquez P.
Patricio Hevia Opazo
Pilar Hernández S.
Elena Hurtado
Susana J. Icaza
Werner Jaffé
Maritza L. de Jiménez
Franco María Lajolo
Miguel Layrisse
Aaron Lechtig
Josefina M. de León
Irvin E. Liener
Gines López Martínez
Luis López Valladares
Amaury Martínez
J. Mastrodi Salgado
Lilia Massón Salaué
Reinaldo Martorell
María L.P. Martín de Portela
Julio Sergio Marchini
Fernando Martínez Bustos
Dora Inés Mazariegos
Manolo Mazariegos
Paúl Melgar
Luis Antonio Mejía
Nancy Millán
María Teresa Menchú
Rafael Monge Rojas
Carlos Augusto Monteiro
Fernando Salvador Moreno
Rosa María Ortega A.
Alejandro O'Donnell
Verónica de Palma
Nelly Pak
Emma W. de Penna
María de L. Pires Bianchi
Ernesto Pollitt
Myriam Puig A.

Marisa Ramírez
María Esther Río
Hans Romer
Valentín Roa
Manuel Ruz
Elena Ryder
Nevin S. Scrimshaw
María Elena Sambucetti
Claudia Sánchez-Castillo
Aleida Sandoval
Bárbara Schieber
Mercedes Schnell
Valdemiro C. Sgarbieri
Nora Slobodianik
Liseti Solano
Noel W. Solomons
Eduardo Souchon
Florence Tartanac
Stephen S. Tillett
Alexia Torres
Olga Torres
Juscelino Tovar
Hilda R. Torín
Coromoto Tomei
Luiz Carlos Trugo
Ricardo Uauy D.
Rubén Vargas
Mirtha Eva Valencia
Alfonzo Valenzuela B.
Mauro Valencia J.
Yolanda H. de Valera
Helio Vannucchi
Patricia Vit Olivier
Dorothy Wilson
Carolyn Jane Wyatt P.

José Félix Chávez Pérez
Editor General

γ -Oryzanol: un importante componente del aceite de salvado de arroz

Eliete Malfatti Serra Scavariello, Daniel Barrera Arellano

Universidade Estadual de Campinas, Brasil

RESUMEN. El γ -Oryzanol, una mezcla de ésteres del ácido ferúlico de esteroles y alcohol triterpénico, está presente en el aceite de salvado de arroz en niveles que varían entre 1-2 g/100g, donde actúa como antioxidante natural.

Recientes investigaciones han demostrado que el γ -Oryzanol causa una disminución en el nivel de colesterol en las arterias, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares, además, también ha sido usado en Japón como antioxidante natural en alimentos, bebidas y cosméticos.

Esta revisión aborda los aspectos referentes al γ -Oryzanol, como sus propiedades físico-químicas, su presencia en el aceite de salvado de arroz, su actividad antioxidante e hipocolesterolemia, así como los métodos de extracción, identificación y cuantificación.

Palabras clave: Salvado de arroz, colesterol, antioxidante.

SUMMARY. γ -Oryzanol: an important component in rice bran oil. γ -Oryzanol, a mixture of ferulic acid esters of sterol and triterpene alcohols, it occurs in rice bran oil at a level of 1 to 2%, where it serves as natural antioxidant.

Recent research has shown that γ -Oryzanol can lower the cholesterol levels in the blood, lowering the risk of coronary heart disease, besides that, also has been used in Japan like natural antioxidant in foods, beverages and cosmetics.

This review refers to aspects about γ -Oryzanol, like its physicochemical properties, its presence in the rice bran oil, its antioxidant and hypocholesterolemic activity, as well as, identification, quantitation and extraction methods.

Key words: Rice, bran, cholesterol, antioxidant.

INTRODUCCION

Recientes investigaciones muestran que el salvado de arroz, considerado como un subproducto del procesamiento del grano y el aceite extraído del mismo, tienen propiedades hipocolesterolemias, disminuyendo el nivel de colesterol en animales y humanos (1-6).

El aceite de salvado de arroz se produce actualmente a niveles inferiores a su potencial (7), debido a una serie de dificultades técnicas encontradas en su procesamiento. El problema mayor está relacionado con la rápida deterioración del aceite, cuando todavía se encuentra en el salvado, ocasionado por la presencia de enzimas lipolíticas, las cuales se activan durante la etapa del pulido del grano, aumentando rápidamente la cantidad de ácidos grasos libres, que pueden alcanzar hasta el 70% del peso del aceite, reduciendo el rendimiento de aceite neutro y dificultando su refinación (8).

Por otra parte, el aceite de salvado de arroz posee una excelente estabilidad oxidativa, y las propiedades benéficas atribuidas al aceite, han sido asociadas a un componente no triglicéridico presente en la fracción insaponificable del aceite, el γ -Oryzanol, definido como una mezcla de ésteres del ácido ferúlico de esteroles y alcohol triterpénico (9-10).

El γ -Oryzanol ha sido usado en Japón para conservar aceites, alimentos y bebidas en la forma de una mezcla sinérgica con vitamina E y también en fórmulas medicinales y cosméticas (11).

Esta revisión tiene como objetivo resumir los aspectos referentes al γ -Oryzanol, como sus propiedades físico-químicas, su presencia en el aceite de salvado de arroz, su actividad antioxidante e hipocolesterolemia, así como los métodos de extracción, identificación y cuantificación.

Propiedades físico-químicas

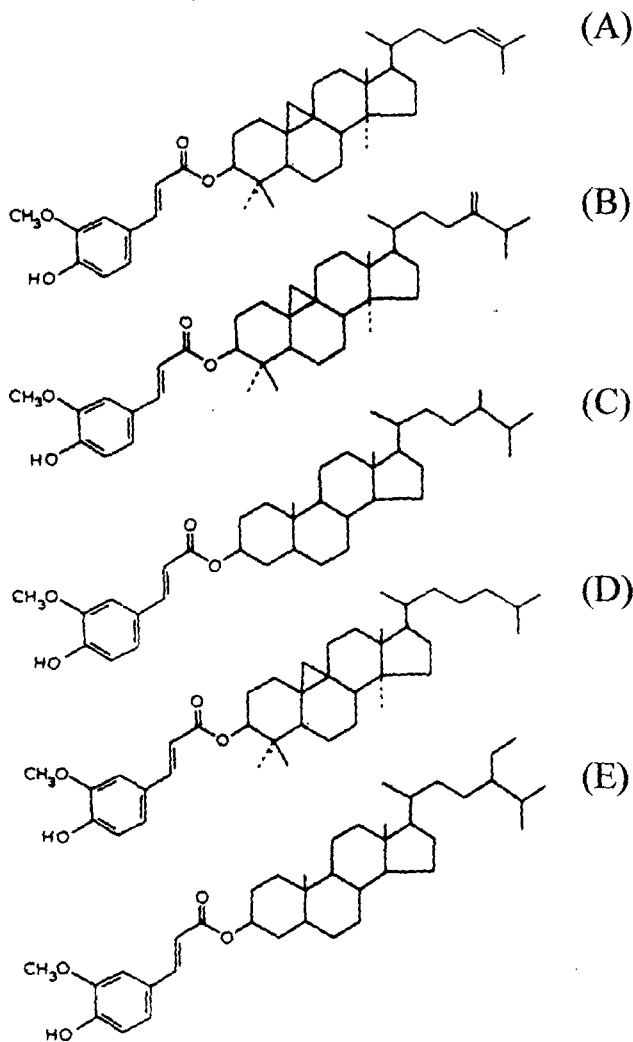
El γ -Oryzanol es un polvo blanco o ligeramente amarillento, cristalino, insípido, con poco o ningún olor. Definido como una mezcla de ésteres del ácido ferúlico con esteroles y alcoholes triterpénicos con un punto de fusión en el rango entre 135°-137°C, dependiendo de la composición exacta de sus alcoholes triterpénicos (12). Está compuesto principalmente por cicloartenil ferulato, 24 metilen-cicloartanil ferulato, campesteril ferulato, β -sitosteril ferulato y cicloartanil ferulato, cuya estructura está representada en la Figura 1, pero también puede contener otros componentes menores como estigmastanil ferulato (13).

La solubilidad del γ -Oryzanol en metil etil cetona es aproximadamente 20% y es prácticamente insoluble en agua. La Tabla 1 muestra su solubilidad en diferentes solventes (11).

En la Figura 2 puede observarse la alta absorción en UV de γ -Oryzanol, con máximos a 291 y 315 nm. Esta absorción característica en el rango UV, resulta en una actividad fotoprotectora y este efecto se ve aumentado por la acción de los rayos UV debido a la formación de radicales fenoxi (11).

FIGURA 1

Estructura del cicloartenil ferulato (A), 24 metilen cicloartanil ferulato (B), campesteril ferulato (C), cicloartanil ferulato (D) y β -sitosteril ferulato (E).



Fuente : Evershed et al, 1988 (13)

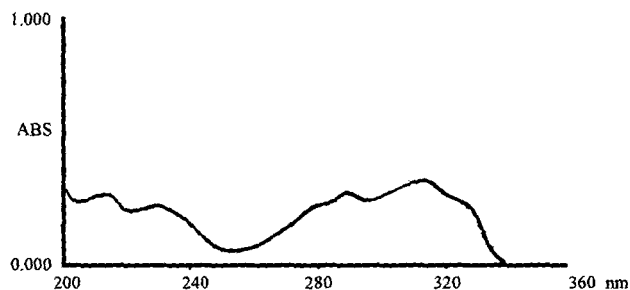
TABLA 1
Solubilidad del γ -Oryzanol

Disolvente	Solubilidad (20°C) (g/l)
Agua	0,1
Etanol	1,3
Metanol	1,4
n-Hexano	2,8
n-Heptano	4,0
Cloruro de etileno	20,0
Benceno	40,0
Acetona	67,0
Cloroformo	100,0
Metil etil cetona	200,0

Fuente: Tsuno Co,1995

FIGURA 2

Espectro de absorción en UV de 0.01 mg/ml de γ -Oryzar en n-heptano.



Fuente: Tsuno Co,1995 (11)

El γ -Oryzanol puede presentarse con dos estereoconfiguraciones diferentes. El producto aislado de aceite de salvado de arroz, frecuentemente aparece en la forma de isómeros trans de esteril ferulatos. Ambos estereoisómeros, muestran el mismo grado de actividad antioxidante y fotoprotectora (14).

La presencia de agua en condiciones alcalinas puede provocar la hidrólisis de γ -Oryzanol, lo que afecta a su función como antioxidante (11).

γ -Oryzanol en el aceite de salvado de arroz

El aceite obtenido del salvado de arroz contiene altos niveles de tocoferoles, tocotrienoles y fitosteroles. Estos componentes actúan como antioxidantes naturales, dando al aceite una mayor resistencia a la oxidación y deterioración. Sin embargo, mientras muchos otros aceites contienen niveles variables de estos antioxidantes, el aceite de salvado de arroz presenta una mayor estabilidad, debido a la presencia de un antioxidante ausente en otros aceites: γ -Oryzanol.

El γ -Oryzanol se descubrió en el aceite de salvado de arroz (*Oryza sativa*) en 1954 (15). Como se aisló de este aceite y contenía un grupo hidroxilo, se le llamo Oryzanol. Los estudios subsiguientes revelaron que el Oryzanol no es un compuesto simple, sino que está constituido por una variedad de esteril ferulatos llamados α , β e γ -Oryzanol (16). De estos, el γ -Oryzanol ha sido el mas estudiado debido a su importancia comercial en Japón.

Algunos trabajos han presentado el contenido de γ -Oryzanol en el aceite de salvado de arroz crudo y refinado. Seetharamaiah & Prabakar (17) determinaron el contenido de γ -Oryzanol en el aceite crudo comercial entre 1,3 y 1,9%. Otros experimentos efectuados en laboratorio, obtuvieron γ -Oryzanol entre 1,1 y 1,4% en el aceite, cuando se extrajo usando hexano. En el caso de extracción utilizando cloroformo-metanol (2:1), el aceite presentó alto contenido de γ -Oryzanol (2,55-2,61%) (17). Otros trabajos, obtuvieron niveles de γ -Oryzanol entre

1,0-2,0% en el aceite crudo extraído de salvado de arroz, donde actúa como antioxidante natural (18-20).

Yoon & Kim (19) determinaron el contenido de antioxidantes naturales y la estabilidad oxidativa del aceite de salvado de arroz en diferentes etapas del refinado y concluyeron que el nivel de γ -Oryzanol se mantenía constante en el aceite crudo y desgomado, pero disminuía en el aceite neutralizado, blanqueado y desodorizado. En los procesos de neutralización, blanqueado y desodorización se elimina hasta el 51% del contenido inicial de γ -Oryzanol (19), como muestra la Tabla 2. Además, durante el almacenamiento del aceite desodorizado durante 7 semanas, más del 19% del γ -Oryzanol se perdió (19).

TABLA 2

Efecto de las etapas de refinado, en la concentración de γ -Oryzanol del aceite de salvado de arroz

Aceite de salvado de arroz	γ -Oryzanol (g/100g)
Crudo	1,61
Desgomado	1,64
Neutralizado	0,77
Blanqueado	0,87
Desodorizado	0,88

Fuente: Yoon & Kim, 1994 (19)

Rogers et al (10) determinaron la cantidad de γ -Oryzanol en muestras de aceite de salvado de arroz refinado de diferentes fabricantes, obteniendo resultados que variaron entre 0,144 y 0,787mg/g.

Informaciones obtenidas a través de la Riceland Foods, Inc.; citan que la refinación química disminuye el nivel de γ -Oryzanol de 1,5-2,0% a 0,5% mientras que el refinado físico lo mantiene prácticamente constante. La etapa de neutralización es la que causa mayor pérdida de γ -Oryzanol en el aceite, transfiriéndose parte de éste para la borra. La cantidad de γ -Oryzanol en la borra obtenida mediante refinado alcalino oscila entre 1,3 y 3,1% (17). Al estar los beneficios nutricionales, particularmente la disminución de colesterol, relacionados con el contenido de γ -Oryzanol, el aceite obtenido por refinación física mantiene sus propiedades prácticamente inalteradas.

La gran variabilidad de la concentración de γ -Oryzanol en el aceite es evidente. Las causas potenciales para esta variación incluyen, diferencias en la variedad y procesamiento del grano de arroz, así como, las pérdidas durante el proceso, que dependen del tipo de refinación y de las condiciones en que se realiza cada etapa (10).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante del γ -Oryzanol, se atribuye principalmente al ácido ferúlico. Desde que este ácido fue descubierto en 1866, se ha encontrado presente en la mayoría

de las semillas y en muchas otros tejidos de plantas.

El ácido ferúlico generalmente está presente como ésteres de polisacáridos, glicoproteínas, lignina y otros biopolímeros carbohidratos insolubles de las paredes celulares. También ha sido identificado como un componente estructural de muchos lípidos, como los alquil y esteril ferulatos (21).

Sharma (22) demostró que el potencial antioxidante aumenta con la extensión de la hidroxilación de los anillos aromáticos.

El ácido ferúlico esterificado con esteroides de plantas, como es el caso del γ -Oryzanol, aumenta el potencial antioxidante, favoreciendo el acceso molecular a componentes hidrófobos que son más susceptibles a la destrucción celular oxidativa (21).

Varios estudios han sido realizados para determinar la actividad antioxidante del γ -Oryzanol. Kanno et al (23) adicionaron γ -Oryzanol en el aceite de soja refinado que no contaba con otros aditivos, y calentaron durante 2,75 horas a 190°C con aire y vapor. Los resultados de los análisis determinaron que el γ -Oryzanol retarda la oxidación térmica cuando es utilizado a una concentración de 0.5-1.0 g/100g. Pruebas con los componentes de la mezcla indicaron que el principio activo es el ácido ferúlico.

El potencial antioxidante del γ -Oryzanol aumenta en presencia de varios agentes sinérgicos, como fosfolípidos, aminoácidos, ácido fosfórico, ácido tartárico y α -tocoferol. La Tabla 3 demuestra el fuerte efecto protector de una mezcla de α -tocoferol y γ -Oryzanol en la estabilidad oxidativa del sebo bovino y del aceite de algodón (11).

TABLA 3

Efecto sinérgico de α -tocoferol y γ -Oryzanol en la estabilidad de grasas

Aditivo (g/100g)	Estabilidad días a 40°C	
	Sebo	Aceite de algodón
Ninguno	24	16
γ -Oryzanol (0,5)	100	93
α -tocoferol (0,1)	95	81
γ -Oryzanol/ α -tocoferol (2:1) (0,2)	360	192

Fuente: Tsuno Co, 1995 (11)

Una mezcla de 0.25g/100g de γ -Oryzanol/ α -tocoferol (2:1), posee un potencial antioxidante similar a 0.04g/100g de una mezcla de BHA y BHT (1:1), siendo recomendado en algunas aplicaciones por ser un sistema antioxidante natural (11).

La actividad antioxidante de γ -Oryzanol se torna especialmente muy interesante cuando el material sufre exposición a los rayos UV. La impregnación de películas o envases con γ -Oryzanol, aumenta la vida útil de cereales, almendras y "snacks" (11).

Una patente japonesa informa que algunos alimentos pueden preservarse del ataque de hongos mediante la adición de una solución de γ -Oryzanol y ácido ferúlico (24).

Actividad hipocolesterolémica

Investigaciones recientes han demostrado que la ingestión de aceite de salvado de arroz causa una reducción del colesterol sanguíneo y en la acumulación de grasas en las arterias (4,5). Ha sido probado que esta reducción se debe no solamente a la composición de ácidos grasos del aceite, sino también a la presencia de otros componentes. Dos grupos de componentes, tocotrienoles y γ -Oryzanol encontrados en la fracción insaponificable han sido investigados como posibles responsables por estos efectos (10).

Los efectos fisiológicos que se consideran como asociados al γ -Oryzanol son la disminución de colesterol en el plasma, la reducción en la biosíntesis de colesterol hepático, disminución de la absorción de colesterol y un aumento de la excreción fecal de ácidos biliares (25,26).

La estructura química de la mayoría de los componentes del γ -Oryzanol encontrados en el aceite de salvado de arroz, son similares a los del colesterol. Esta similitud puede ser responsable por el efecto en la absorción y síntesis del colesterol (10).

La síntesis de fracciones no triglicéridicas, como el γ -Oryzanol, en plantas, tiene etapas iniciales similares a la síntesis del colesterol en el cuerpo humano, lo que sugiere que estos componentes pueden comportarse como un agente que altera la síntesis de colesterol. Normalmente, la síntesis de colesterol en el cuerpo humano se regula por el nivel de colesterol en la sangre, que a su vez, depende de la ingestión diaria vía dieta alimentaria. El γ -Oryzanol debe funcionar, para provocar una reducción de colesterol en la sangre, inhibiendo el enzima HMG-CoA reductasa, que regula la síntesis de colesterol. Este proceso se conoce como inhibición del producto final, donde el aumento del producto disminuye la actividad de la enzima, es decir, el organismo reconoce la estructura del γ -Oryzanol como si fuera colesterol, inhibiendo la enzima y consecuentemente disminuyendo la síntesis de colesterol (3).

Seetharamaiah & Chandrasekhara (27) compararon la actividad hipocolesterolémica de oryzanol, curcumina y ácido ferúlico en ratones, usando dosis comparativas de ácido ferúlico, es decir, 0,5g/100g de γ -Oryzanol, 0,15g/100g de curcumina y 0,075 g/100g de ácido ferúlico en la dieta y llegaron a la conclusión de que el γ -Oryzanol es el mejor agente hipocolesterolémico. Los resultados indican también una mayor disminución del contenido de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y un aumento del HDL (lipoproteínas de alta densidad), lo que resulta en una disminución significativa en la proporción LDL /HDL.

Tamagawa et al (28) estudiaron el potencial carcinogénico (cancerígeno) del γ -Oryzanol en ratones. Fueron formados grupos que ingirieron dietas que contenían 0 (control), 200, 600 y 2000 mg de γ -Oryzanol/kg peso corporal/día por 78 semanas y determinaron que bajo las condiciones del estudio,

el γ -Oryzanol no es carcinogénico. La dosis terapéutica usada en el tratamiento de la hiperlipidemia, o sea, alto nivel de triglicéridos y colesterol en la sangre es de 300 mg/día (aprox. 6 mg/kg peso corporal/día), por lo tanto, las dosis usadas en el estudio fueron 33.3, 100 y 333 veces superiores a las dosis clínicas.

Identificación y cuantificación

Algunas técnicas se han descrito en la literatura, para la identificación y cuantificación de γ -Oryzanol.

Seetharamaiah & Prabhakar (17) estimaron el contenido de γ -Oryzanol en el aceite mediante la determinación de densidad óptica en éter de petróleo a 315nm, usando un coeficiente de extinción específico (E1%,1cm) igual a 358,9. El contenido de γ -Oryzanol fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{ppm } (\gamma\text{-Oryzanol}) = \frac{\text{absorbancia} \times \text{volumen (ml)} \times 10000}{\text{E (1\%,1cm)} \times \text{peso de la muestra}}$$

Un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase inversa, se desarrolló para la separación simultánea y la cuantificación de tocoferoles, tocotrienoles y γ -Oryzanol presentes en el aceite de salvado de arroz. Los tocoferoles y tocotrienoles se cuantificaron por detección fluorescente y el γ -Oryzanol se determinó a 325nm con un detector de arreglo de diodos (10).

La separación de los componentes del γ -Oryzanol se efectuó utilizando una columna analítica empacada con 5 μ m DOS (C18) sílice Hipersil. La composición de la fase móvil de mejor resolución para estos componentes, fue una mezcla de acetonitrilo/metanol/isopropanol en la relación 50:45:5 (v/v/v).

Usando este procedimiento, se obtiene un cromatograma típico de HPLC, que se muestra en la Figura 3, cuyos componentes (4 picos) se identificaron por medio de espectrometría de masa por ionización química, como cicloartenil ferulato, 24-metileno cicloartanil ferulato, campesteril ferulato (picos 1, 2 e 3 respectivamente) y una mezcla de β -sitosteril ferulato y cicloartanil ferulato (pico 4).

Una técnica de separación e cuantificación por HPLC utilizando fase normal fue desarrollada por Diack & Saska (29), sin embargo, no se obtuvo buena resolución de los componentes del γ -Oryzanol. Estos quedaron representados solamente por dos picos: isómeros menos polares y mas polares.

Extracción de γ -Oryzanol

La extracción del γ -Oryzanol está descrita en algunos trabajos (17, 30), se efectuó básicamente a partir de la borra de neutralización obtenida en el refinado químico.

Kim & Kim (30) aislaron γ -Oryzanol a partir del aceite obtenido por la acidificación de la borra de neutralización, mediante procesos de cristalización fraccionada utilizando hexano y en seguida metanol. Los ácidos grasos fueron elimi-

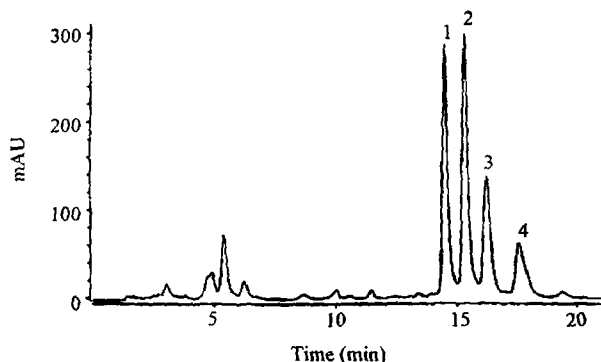
nados por medio de destilación a vacío, obteniendo así un concentrado con 99% de γ -Oryzanol.

Seetharamaiah & Prabhakar (17) utilizaron una columna de alúmina neutra y un proceso de recristalización usando metanol para purificar un concentrado de γ -Oryzanol disuelto en hexano. El concentrado se obtuvo a través de la extracción de la borra de neutralización con eter dietílico y presentó una concentración de γ -Oryzanol que variaba entre 3,7 y 36,6%, dependiendo del pH de la borra. El porcentaje de recuperación fue inversamente proporcional al contenido de γ -Oryzanol en el concentrado. El material recristalizado, obtenido a partir del concentrado con 16,3% de γ -Oryzanol alcanzó una pureza de 98%.

Actualmente, el γ -Oryzanol se extrae industrialmente con una pureza de alrededor de 99% (11), lo que proporciona, además de los propios beneficios inherentes a las diversas aplicaciones del producto, un aumento del valor añadido del aceite de salvado de arroz.

FIGURA 3

Cromatograma de los componentes del γ -Oryzanol.
1 = cicloartenil ferulato; 2 = 24-metilen cicloartenil ferulato; 3 = campesteril ferulato; 4 = β -sitosteril ferulato y cicloartenil ferulato



Fuente: Rogers, 1993 (10)

CONCLUSION

El aceite crudo de salvado de arroz contiene entre 1 y 2 g/100g de γ -Oryzanol, actuando como antioxidante natural, sin embargo una gran parte de este componente se pierde durante el procesamiento y, por lo tanto, el aceite refinado tiene su nivel de γ -Oryzanol reducido.

La etapa de neutralización, es la fase crítica del refinado químico en lo referente a la pérdida de γ -Oryzanol. La borra de neutralización, subproducto obtenido de esta etapa, puede contener más de 1,5 g/100g de γ -Oryzanol.

Varios estudios han comprobado la acción del γ -Oryzanol como agente hipocolesterolémico y antioxidante, funciones que lo caracterizan como un importante componente del aceite de salvado de arroz.

REFERENCIAS

- Hegsted M, Windhauser MM, Morris SK & Lester SB. Stabilized rice bran and oat bran lower cholesterol in humans. *Nutrition Research* 1993; 13:387-398.
- Kahlon TS, Chow FI & Sayre RN. Cholesterol-lowering properties of rice bran. *Cereal Foods World* 1994; 39:99-103.
- Hegsted M & Kousik CS. Rice bran and rice bran oil may lower heart disease risk by decreasing cholesterol synthesis in the body. *Louisiana Agriculture* 1994; 37:16-17.
- Nicolosi RJ, Ausman LM & Hegsted DM. *Circulation*. 82:7109, 1990 (Original no consultado; compendiado en *J Am Oil Chem Soc*. 1993; 70 (3):301-307).
- Nicolosi RJ & Liang S. *Ibid* 11:1603, 1991 (Original no consultado; compendiado en *J Am Oil Chem Soc*. 1993; 70(3):301-307).
- Tokyo Oil Mills, Hitotsumatsu H & Takeshita Y. Process for producing rice bran oil. Patent US005290579, 1994.
- Rucati EG. Informe Económico. *Lavoura Arrozeira* 1994; 47:412.
- Gupta HP. Rice brans offers India an oil source. *J Am Oil Chem Soc*. 1989; 66 (5):620-623.
- Yoon SH & Kim SK. Oxidative stability of high-fatty acid rice bran oil at different stages of refining. *J Am Oil Chem Soc*. 1994; 71(2) 227-229.
- Rogers EJ, Rice SM & Nicolosi RJ. Identification and quantitation of γ -oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. *J Am Oil Chem Soc*. 1993; 70(3):301-307.
- Tsuno Rice Fine Chemical Co. γ -Oryzanol, a naturally derived food antioxidant. 1995
- The Merck Index, twelfth edition. Published by Merck Research Laboratories. 1996; pg1181.
- Evershed RP, Spooner N, Prescott MC & Gould LJ. Isolation and characterization of intact sterol ferulates from seeds. *Journal of Chromatogr*. 1988; 440: 23-35.
- Fenton TW, Mueller MM & Clandinin DR. Isomerization of some cinnamic acid derivatives. *Journal of Chromatogr*. 1978; 152:517-522.
- Kaneko R, & Tsuchiya T. New compound in rice bran and germ oils. *J Chem Soc Jpn*. 1954; 57:526.
- Tsuchiya T, Kato A & Endo T. Constitution of oryzanol I. Saponification products. *Rep Govt Ind Res Inst. Tokyo*. 1956; 31:359.
- Seetharamaiah GS & Prabhakar JV. γ -Oryzanol content of Indian rice bran oil and its extraction from soapstock. *Journal of Food Science and Technology*. 1986; 23, 270-273.
- Tanaka A, Tanabe K, Kato A & Muramatsu J. Quantitative analysis of ferulates in rice bran oil by high performance liquid chromatography. *J Japan Oil Chem Soc*. 1976; 26, 119-122.
- Yoon SH & Kim SK. Oxidative stability of high-fatty acid rice bran oil at different stages of refining. *J Am Oil Chem Soc*, 1994; 71:2, 227-229.
- Norton RA. Quantitation of sterol ferulate and p-coumarate esters from corn and rice. *Lipids* 1995; 30:3.
- Graf E. Antioxidant potential of ferulic acid. *J Free Radical Biol Med*. 1992; 13, 435-448.
- Sharma OP. Antioxidant activity of curcumin and related

- compounds. *Biochem Pharmacology*. 1976; 25,1811-1812.
23. Kanno H, Usuki R & Kaneda T. Antioxidative effect of γ -Oryzanol on thermal oxidation of oils. *J. of Japanese of Food Science and Technology*. 1985; 32:3, 170-173,.
 24. Kyokuto Shibosan Co. Preservative Patent. 5214293- Japan, 1977.
 25. Seetharamaiah GS & Chandrasekhara N. Effect of oryzanol on cholesterol absorption and biliary and faecal bile acids in rats. *Indian J Med Res*. 1990; 92, 471-475.
 26. Nakayama S, Manabe A, Suzuki J, Sakamoto K & Inagaki T. Comparative effects of two forms of γ -Oryzanol in different sterol compositions on hyperlipidemia induced by cholesterol diet in rats. *Jpn. J. Pharmacol*. 1987; 44:135-144.
 27. Seetharamaiah GS & Chandrasekhara N. Comparative hypocholesterolemic of oryzanol, curcumin and ferulic acids in rats. *J of Food Sci and Technology*. 1993; 30:4 249-252.
 28. Tamagawa M, Otaki Y, Takahashi T & Otaka T. Carcinogenicity study of γ -Oryzanol in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 1992; 30:11, 49-56.
 29. Diack M & Saska M. Separation of vitamin E and γ -Oryzanols from rice bran by normal-phase chromatography. *J Am Oil Chem Soc*. 1994; 71:11, 1211-1217.
 30. Kim IH & Kim CJ. Separation of oryzanol from the refining by-product of rice bran oil. *Korean J. Food Sci Technol*. 1991; 23:1, 76-80.

Recibido: 11-04-1997

Aceptado: 22-12-1997

Peso para la talla en adultos: comparación de clasificaciones con y sin corrección por contextura

Rosa Armenia Hernández Hernández, Yolanda Hernández de Valera

Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela

RESUMEN. El presente trabajo pretende analizar la concordancia, coincidencias y divergencias en la clasificación nutricional antropométrica del indicador peso talla (PT) en adultos, al emplear dos criterios que incluyen la corrección por contextura y uno sin esta corrección. Se estudiaron 244 sujetos adultos (127 femeninos y 117 masculinos), quienes forman parte del "Proyecto Salud: Empleados Administrativos de la Universidad Simón Bolívar (USB)", realizado en 1993. Teniendo como base las variables: peso, talla, circunferencia de muñeca y diámetro del codo se determinó: a) La contextura por los métodos de talla/circunferencia de muñeca (CM) (Grant, 1980) y ancho del codo (AC) (Frame Index 2 de Frisancho, 1989). b) La clasificación por peso talla (PT) según las referencias y puntos de corte de Frisancho (1989) y se aplicó la tabla correspondiente según contextura (Frisancho, 1984). 57%, 38% y 6% fueron identificados como contextura pequeña, mediana y grande por CM y 16%, 60% y 25% por AC. Al clasificar por PT los resultados reflejan divergencias entre 16-25% y 15-21% en mujeres y hombres respectivamente. Al contrastar los tres criterios, se observó una mayor coincidencia entre peso talla corregido por Frame Index 2 y peso talla sin corregir contextura, y la menor coincidencia entre peso talla corregido por el método de (Grant) circunferencia de muñeca y peso para la talla sin corregir contextura, en el grupo total; mientras que el sexo masculino y femenino obtuvieron la mayor coincidencia para el peso talla corregido por el método de (Grant) circunferencia de muñeca y peso talla sin corregir contextura. La menor concordancia ($k = 0.37$) se obtuvo en el contraste PT contextura por codo Vs PT sin corrección en el sexo femenino y la mayor concordancia ($k = 0.60$) al contrastar PT contextura por muñeca y PT sin corrección en el sexo masculino. Estos resultados demuestran que existen diferencias significativas en la clasificación nutricional del indicador peso talla en adultos, corregido y sin corregir por contextura en un mismo grupo de sujetos.

Palabras clave: Peso talla, contextura, evaluación antropométrica, antropometría nutricional.

SUMMARY. Weight-Height in adult: comparison of classifications adjusted and non adjusted by frame size. The present study is to analyze the concordance, agreements and divergence of anthropometry nutritional classification of weight-height (WH) in adults, using criteria that include frame size adjustments and no adjustment at all. 224 adults were studied (127 female and 117 males) from the "Simón Bolívar" University Administrative Employees Health Project, 1993. Using as basis, the variables weight, height, wrist circumference and elbow breadth, we determined: a) frame size by wrist circumference methods (WC) (Grant, 1980) and elbow breadth (EB) (Frame index 2 by Frisancho, 1989); b) classification by weight-height (WH) according to table by frame size (Frisancho, 1984). 57%, 38% and 6% corresponded to small, medium and large frame sizes, by WC. 16%, 60% and 25% by EB. When classifying by WH those results showed differences between 16-25% in female and 15-21% in males. When contrasting the three criteria, it was observed a bigger coincidence between WH without frame size adjustment and WH adjustment by EB. The smallest coincidence between WH adjusted by WC method and weight height without frame size adjustment in the whole group, while male and female got the biggest coincidence in WH adjustment by WC and HW without frame size adjustment. The smallest concordance ($k=0.37$) was obtained when contrasting WH frame size adjustment by EB vs weight-height without adjustment in female, and biggest concordance ($k=0.60$) when contrasting WH by WC and without adjustment in males. This results show that, there are significative differences in nutritional classification of weight-height in adults adjusted and non adjusted by frame size within the same group of persons.

Key words: Weight-height, frame size, assessment nutritional, nutritional anthropometry.

INTRODUCCION

Para la evaluación del estado nutricional del adulto con frecuencia se utilizan las medidas antropométricas, especialmente el peso y la talla por ser variables que nos permiten de una forma fácil y rápida una aproximación del estado nutricional de un individuo.

El peso corporal usualmente es utilizado como la primera guía para la evaluación nutricional y este puede variar de un

sujeto a otro de la misma edad y estatura, lo cual indica que existen elementos que influyen en el mismo. Una adecuada evaluación de la variabilidad del peso corporal, debe incluir el estudio de estos elementos como por ejemplo la forma y tamaño del esqueleto; el cual en estado vivo puede llegar a constituir la sexta parte de la masa corporal total (1,2).

El aporte de la forma y tamaño del esqueleto es lo que se conoce comúnmente como contextura, la cual incluye huesos, uniones, anchos y profundidades que son representativos de la

estructura de soporte como un todo. El concepto de contextura no es nuevo y ha variado a través del tiempo; sin embargo en los últimos años se ha destacado la importancia que tiene su consideración en la evaluación nutricional antropométrica del adulto y su utilidad está asociada a mejorar la interpretación del peso corporal mediante el uso de las tablas de peso para la talla, las cuales son ampliamente utilizadas en la práctica clínica nutricional y en la evaluación de comunidades para identificar los riesgos de malnutrición ya sea por déficit o exceso.

Por muchos años estas tablas de peso talla fueron utilizadas sin tomar en consideración los ajustes por contextura, pero en 1956 se propone incluir a la contextura en las tablas, debido a las observaciones realizadas por White (3) quien evaluó una muestra de sujetos pertenecientes a las fuerzas aéreas norteamericanas, los cuales fueron incorrectamente clasificados como obesos por peso talla, a pesar de que sus medidas de densidad corporal indicaban una alta proporción de tejido magro (4). En respuesta a estas observaciones la Metropolitan Life Insurance Company en 1959 incorpora categorías de contextura, pero no señalaron el método utilizado para determinar las categorías de contextura. Posteriormente en 1983 se hace una revisión de estas tablas y se publican unas nuevas en las que incluyen categorías de contextura por ancho de codo (5); sin embargo a pesar de señalar en esta oportunidad el método de medición del ancho del codo para clasificar contextura, el uso de las tablas es cuestionable debido a que ellos no midieron el indicador ancho de codo en su muestra, si no que tomaron los valores del NCHS; el peso corresponde a otra población lo cual invalida su uso debido a que las mediciones fueron realizadas en muestras de poblaciones diferentes y por tanto la clasificación de contextura sigue siendo arbitraria (6,7).

En 1984 Frisancho (8) publica tablas de peso por talla y contextura para adultos, con los datos recolectados del NHANES I y II, pertenecientes a civiles norteamericanos no institucionalizados con edades comprendidas entre 25 y 74 años, se utilizó el ancho de codo como indicador de contextura por ser una medida relativamente independiente de la adiposidad y edad (9).

En relación a cual es el indicador de contextura que se debe utilizar, se han propuesto numerosas metodologías, entre las cuales destacan: Katch, 1982 (10) con el método de los diámetros biacromial y bitrocantéreo, el de Grant, (11) basado en la circunferencia de la muñeca, el cual es ampliamente utilizado en la práctica clínica nutricional en Venezuela y por último el ancho del codo utilizado por Frisancho (8,9). Cada uno de estos métodos ofrece ventajas y desventajas que deben ser estudiadas en profundidad, a fin de elegir aquel que se aproxime más a la estimación de la forma y tamaño del esqueleto.

Por lo señalado anteriormente y dada la importancia que representa la estimación de la contextura en la evaluación del peso corporal del adulto, este trabajo pretende analizar la

concordancia, coincidencias y divergencias en la clasificación nutricional antropométrica del indicador peso talla al emplear dos criterios que incluyen corrección por contextura y uno sin esta corrección.

MATERIALES Y METODOS

El grupo de estudio estuvo constituido por 244 sujetos adultos de los dos sexos (femenino 127 y masculino 117) con edades comprendidas entre 22 y 63 años, quienes forman parte del "Proyecto Salud: Empleados Administrativos de la USB" área antropometría realizado en el año 1993. Se determinaron las variables peso, talla, circunferencia de muñeca y ancho de codo. Los valores promedios y desviación estándar de las variables estudiadas, para cada sexo se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1

Valor promedio y desviación estándar de las variables edad, peso, talla, circunferencia de muñeca y ancho de codo para cada sexo

Variables	Sexo Femenino		Sexo Masculino	
	Promedio	DE	Promedio	DE
Edad (años)	41.10	9.7	39.60	8.0
Peso (kg)	61.21	9.7	71.80	12.1
Talla (cm)	157.50	5.6	169.20	6.8
Circunferencia				
muñeca dr (cm)	14.30	0.9	16.20	0.9
Ancho de codo dr (mm)	59.80	3.9	68.50	3.9

DE= desviación estándar \pm

El peso se midió en kilogramos (kg), utilizando una balanza de pie (marca Detecto con una capacidad de 140 kg) y la lectura se hizo con una precisión de 0.1 kg, la talla se obtuvo en centímetros (cm) con un Estadiometro portátil (marca Holtain Limited), la circunferencia de muñeca se midió en centímetros con una cinta métrica metálica (marca Holtain Limited., escala 0.1 cm) y el ancho de codo se tomo en milímetros con un vernier Bicondilar (marca Holtain Limited., rango de medida 0 mm a 140 mm). Las técnicas de medición utilizadas fueron las recomendadas a nivel internacional para tal fin (12, 11).

El error de medición se refiere a las técnicas e instrumentos, que fueron las mismas para todos y cada uno de los sujetos y el error inherente al medidor, el cual fue debidamente entrenado y estandarizado antes de iniciar la toma de la muestra, siguiendo las normas internacionales a fin de obtener el error de medición. Los instrumentos de medición fueron calibrados cada día antes de iniciar la sesión correspondiente.

Teniendo como base la variables edad, sexo, peso talla, circunferencia de muñeca y ancho de codo se determinó: a) La contextura por los métodos talla/circunferencia de muñeca

(CM) por Grant 1980 (11) y ancho de Codo (AC) por Frame Index 2 de Frisancho 1989 (6). b) Se construyó el indicador peso talla (PT) clasificado según las referencias y puntos de corte de Frisancho (6) y se le aplicó la tabla correspondiente según contextura de Frisancho (8).

Como criterios de clasificación del indicador peso talla (PT) se utilizó: bajo promedio $\leq p15$; promedio $> p15 \leq p85$; sobre promedio $> p85$. Los datos se procesaron en forma mecanizada. Se obtuvieron las proporciones de sujetos clasificados como contextura pequeña, mediana y grande por los dos métodos, la proporción de sujetos identificados como bajo promedio, promedio y sobre promedio por el indicador peso talla (PT) corregido por contextura y sin corregir; así como la concordancia, coincidencias y divergencias en la clasificación del indicador peso talla (PT) corregidos por contextura y sin corregir. En el análisis de los datos se utilizó el programa EXCEL versión 5.0. La significancia estadística en la clasificación nutricional del indicador peso talla (PT) con corrección y sin corrección de contextura se determinó mediante el estadístico de Kappa, el cual es un indicador de concordancia de propiedades iguales entre medidas de categorías de datos. Un k de 1 demuestra que los dos determinantes o métodos fueron igualmente predictivos en la estimación de la contextura, entre 0.75 y 1.0 denota una excelente concordancia, valores entre 0.40 y 0.75 demuestran una buena concordancia y valores por debajo de 0.40 demuestran una mala o «pobre» concordancia e indica que las coincidencias entre ambos procedimientos se deben al azar (13).

RESULTADOS Y DISCUSION

Estimación de contextura:

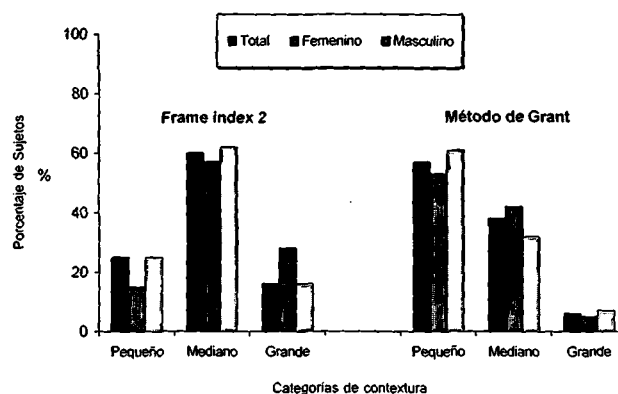
En relación a la clasificación de contextura (Figura 1) se observaron diferencias al utilizar dos métodos distintos para la estimación de la misma. El método de la circunferencia de muñeca (Grant, 1980) determinó una alta proporción de sujetos de contextura pequeña (57%) y solo un 6% de sujetos de contextura grande. En cuanto al método del ancho del codo (Frame index 2) se observó una distribución un poco más parecida a una distribución normal esperada, con un 60% de contextura mediana, 24% de contextura pequeña y 16% de contextura grande. Valores similares para el frame index 2 han sido obtenidos por otros investigadores (7,14), quienes reportaron también una menor proporción de sujetos de contextura grande, señalando que la muestra no se comporta exactamente con una distribución de 50% de sujetos medianos y 25% de sujetos pequeños y grandes respectivamente, como lo describen en la muestra del NCHS tomado para la elaboración de las tablas de peso talla de la Metropolitan Life.

Por otra parte en relación a la clasificación de contextura por sexo se puede apreciar que el sexo masculino, tuvo un comportamiento similar a la muestra total para ambos métodos. Sin embargo en el sexo femenino se observó que para el método de la circunferencia de muñeca es similar a la muestra

total, no así para el Frame index 2, en el que se evidenció un menor porcentaje de sujetos de contextura pequeña y una mayor proporción de mujeres de contextura grande (Figura 1).

FIGURA 1

Distribución de contextura según Frame Index 2 y método de Grant. Por sexo y total



Proyecto Salud Empleados USB

Por otra parte se aprecian divergencias de 47% entre los métodos talla/circunferencia de muñeca (11) y el Frame index 2 (7). Estas diferencias entre los dos métodos, ha sido reportada por otros investigadores como Nowak y Shulz (15), quienes encontraron diferencias de 32% en la clasificación de contextura entre circunferencia de muñeca y ancho de codo; así mismo Novascone y colaboradores (16), en un estudio realizado con 50 hombres y 50 mujeres observaron divergencias de 57%. Las diferencias observadas tanto en este trabajo, así como por otros investigadores, ponen en evidencia la necesidad de diseñar trabajos sobre este componente corporal que permitan, entre otros validar los métodos indirectos que se utilizan para estimar la contextura, a fin de elegir aquel que se ajuste mejor a su definición.

Clasificación por el indicador peso talla corregido por contextura y sin corregir

Se analizó la concordancia, coincidencias y divergencias en la clasificación nutricional antropométrica del indicador peso talla en adultos al emplear dos criterios que incluyen la corrección por contextura y uno sin esta corrección. Para ello se utilizaron como métodos de contextura el método de Grant de la circunferencia de muñeca derecha y el Frame Index 2 derecho, se construyó el indicador peso talla (PT) clasificado según las referencias y puntos de corte propuestos por Frisancho (1989) (6) y se aplicó la tabla correspondiente de peso talla por contextura de Frisancho (1984) (8).

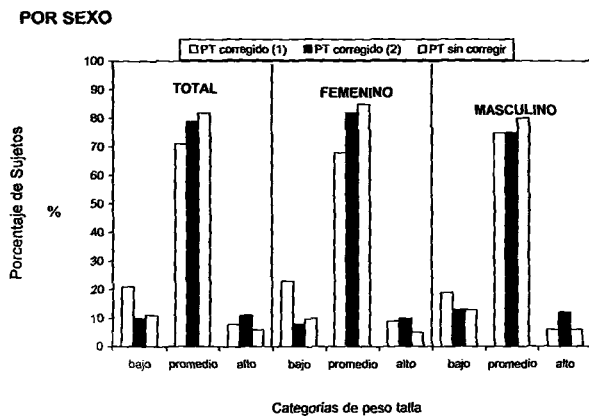
Se identificaron las proporciones de sujetos identificados como bajo, promedio o alto para el indicador peso talla corregido y sin corregir por contextura, obteniendo los si-

guientes resultados:

Al hacer la clasificación de peso talla con y sin corrección por contextura, podemos apreciar variaciones en la prevalencia de los sujetos que pueden ser identificados con peso talla bajo, con peso talla alto o con un peso promedio en rango estimado como adecuado, eso se aprecia en general para el total de sujetos y para los sexos masculino y femenino (Figura 2).

FIGURA 2

Prevalencia en la clasificación del indicador peso talla con y sin corrección por contextura. Grupo total y por sexo



Proyecto Salud Empleados USB

- (1) Por Frame index 2
- (2) Por método de Grant

Al analizar la prevalencia del déficit de peso se observó que en todos los casos el mayor porcentaje de sujetos, fue identificado por el peso talla corregida la contextura por el Frame Index 2 y la menor prevalencia por peso talla sin corregir y corregido por el método de Grant. Esto se apreció tanto en el grupo total como para los dos sexos (Figura 2).

En relación al peso talla promedio, hay variaciones y la mayor cantidad de sujetos con peso promedio fue identificado por el peso talla sin corregir contextura seguido por el peso talla corregido por el método de Grant, que incluye la circunferencia de muñeca y en tercer lugar la menor cifra de prevalencia la aporta el peso talla corregido por el Frame Index 2. Esto se comporta de igual forma para el sexo femenino con alguna variante en el sexo masculino, en el cual podemos apreciar que la prevalencia de sujetos en rango promedio de peso talla es similar en los dos métodos de corrección por contextura, siendo ésta un poco más baja que cuando se aplica el peso talla sin corregir contextura.

Para el sobre peso, en general el peso talla corregido por el método de Grant es el que aporta la mayor prevalencia de sobre peso en el total y en el sexo masculino, con ciertas variaciones en relación al sexo que se reflejan en el grupo total entre el peso talla sin corregir y el peso talla corregido, que en

algunos casos como en el sexo masculino el peso talla sin corregir detecta mayor sobre peso que el peso talla corregido por Frame Index 2 y en el caso del sexo femenino el peso talla corregido por el Frame Index 2, detecta mayor proporción de sujetos con sobre peso que el peso talla sin corregir contextura.

En general lo importante del análisis de esta Figura 2, es el observar que tanto para uno como otro sexo en la identificación del déficit, exceso de peso así como los sujetos que se ubican en rangos promedio se van a obtener variaciones según sea el indicador que se aplique, bien sea que no se corrija por contextura o al ser corregido por Frame Index 2 o por el método de Grant.

Si se consideran estas diferencias en la prevalencia del peso corporal cuando se aplica la corrección de contextura e incluso entre métodos diferentes de contextura, se debe tener presente lo señalado por Himes, 1991 (17) en relación a que la contextura mejora la estimación del peso corporal, la masa libre de grasa y la grasa corporal en adultos y que una de las ventajas de considerarla, en la evaluación nutricional antropométrica del adulto, es que la desviación del estado esperado, es más sensitivo y específico de los factores nutricionales que cuando no es tomada en cuenta.

Concordancia coincidencias y divergencias

Para evaluar la significancia estadística de las diferencias observadas (Figura 2), se realizó un análisis en cuanto a las coincidencias y divergencias en la identificación de los sujetos en las diferentes categorías nutricionales y se aplicó el estadístico índice de kappa.

Los resultados en cuanto a las coincidencias y divergencias, reflejan divergencias entre 16 y 25% en mujeres y 15 y 21% en hombres (tabla 2). Al contrastar los tres criterios, se observó una mayor coincidencia entre peso talla corregido por contextura por Frame Index 2 y peso talla sin corregir contextura y la menor coincidencia entre peso talla corregido por el método de Grant circunferencia de muñeca y peso talla sin corregir contextura, en el grupo total, mientras el sexo masculino y femenino obtuvieron la mayor coincidencia para el peso talla corregido por el método de Grant circunferencia de muñeca y peso talla sin corregir contextura como lo muestra la Tabla 2. Al aplicar el análisis de kappa (Tabla 2), se observaron bajas concordancias para las diferentes clasificaciones del indicador peso talla, en especial en el sexo femenino, cuando se contrastaron el peso talla por contextura Frame Index 2 y peso talla corregido por contextura por el método de circunferencia de muñeca (Grant, 1980)(11)

En resumen el trabajo demostró que al clasificar a los sujetos de acuerdo a su masa corporal total, utilizando el indicador peso talla, se evidencian diferencias significativas en la prevalencia cuando: a) la contextura fue o no considerada; y b) dependiendo del método elegido para estimar la contextura. Si se tiene en cuenta que el componente óseo forma parte de la masa corporal del adulto se considera

importante tomar en cuenta a la contextura en la evaluación de la masa corporal en el adulto. En ambos casos se puso en evidencia que tanto la inclusión o no de la contextura como la diversidad de métodos para su estimación, puede modificar las cifras de prevalencia y a nivel individual condiciona un diagnóstico disímil para el mismo sujeto. Estos resultados están orientados a la necesidad de unificar criterios para la tipificación de la contextura.

TABLA 2
Coincidencias, divergencias y concordancias en la clasificación del indicador peso para la talla corregido por contextura y sin corregir. Grupo total y por sexo

	Coinci- dencias (%)	Diver- gencias (%)	Concor- dancias (k)
PT sin corregir Vs PT			
corregido por método de Grant			
Total	78	22	0.43
Masculino	85	15	0.60
Femenino	84	16	0.40
PT sin corregir Vs PT			
corregido por Frame index 2			
Total	85	15	0.56
Masculino	81	19	0.49
Femenino	75	25	0.37
PT corregido por método de Grant			
Vs PT corregido por Frame index 2			
Total	81	19	0.53
Masculino	79	21	0.48
Femenino	81	19	0.55

PT = Peso para la talla

REFERENCIAS

- Behnke AR. The estimation of lean body weight from "Skeletal" measurements. *Hum Biol* 1959; 31 (4): 295-315.
- Grande F. Peso corporal, composición del organismo y equilibrio calórico. En : *La Nutrición en la Salud y la Enfermedad. Conocimientos Actuales.* Goodhart R y Shils, M. Salvat Edito-

- res. S.A. Barcelona. 1987; cap 1: 3-32.
- White, R. Body build and body weight in 25 year old Army men. *Hum Biol.* 1956; 28: 141-145.
- Fehily A et al. Body Fatness and frame size: The caerphilly study. *Eur J Clin Nutr* 1990; 44: 107-111.
- Himes JH and Bouchard C. Do the new Metropolitan Life Insurance Weight-Height tables correctly assess body frame and body fat relationships?. *Am J Public Health* 1985; 75: 1076.
- Frisancho R. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Ann Arbor The University of Michigan, Press. 1989.
- Faulker RA and Bailey DA. Critical evaluation of frame size determination in the 1983 Metropolitan Life weight for height tables. *Can J Public Health* 1989; 80:369-372.
- Frisancho R. New standards of weight and body composition by frame size and height for assessment of nutritional status of adults and the elderly. *Am J Clin Nutr* 1984; 40: 808-819.
- Frisancho R and Flegel PN. Elbow breadth as a measure of frame size for U.S.A male and female. *Am J Clin Nutr* 1983; 37: 311-314.
- Katch V and Feedson P. Body size and shape: derivation of the "HAT" frame size model. *The Am J Clin of Nutr.* 1982; 36: 669-675.
- Grant A. Nutritional assessment guidelines En: *Handbook of total parenteral nutrition.* Philadelphia. W.B. Saunders Co. 1990; pp 1.
- Díaz ME. Manual de antropometría para el trabajo en nutrición. La Habana Instituto de nutrición e Higiene de los Alimentos. Cuba. 1992; p 1-24.
- Fleiss JL. *Statistical methods for rates and proportions.* Second Edition. John Wiley & Sons. New York. 1981; pp 213.
- Mitchell M. Comparison of determinants of frame size in old adults. *J Am Diet Assoc* 1993;93(1): 53-57.
- Nowak R and Shulz L. A comparison of two methods for the determination of body frame size. *J Am Diet Assoc* 1987 (3): 339-341.
- Novascone M, and Smith E. Frame size estimation: A comparative analysis of methods based en height, wrist circumference, and elbow breadth. *J Am Diet Assoc* 1989; (7): 964-966.
- Himes JH. Considering frame size in nutritional assessment. *Anthropometric Assessment of Nutritional Status.* Wiley - Liss.Inc. New York. 1991; 141-150.

Recibido: 12-11-1996

Aceptado: 13-10-1997

Estado nutricional de alunos matriculados em escolas públicas de tempo integral. São Paulo, Brasil

Marina Vieira da Silva¹

Universidade de São Paulo-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"

RESUMO. Analisa-se o estado nutricional, bem como alguns de seus condicionantes, de 257 escolares, com 7 a 13 anos de idade, matriculados em Centros Integrados de Educação Pública - CIEP's na cidade de Americana, estado de São Paulo - Brasil.

Para o diagnóstico do estado nutricional considera-se a altura de escolar, adotandose a classificação com base nas unidades de desvio-padrão (escore Z de altura para idade). Observa-se proporção de 15,6% de crianças com comprometimento da altura (ZAI < -2). Ressalta-se que através de análises estatísticas detectou-se entre outras, a influência estatisticamente significativa das variáveis rendimento familiar per capita e frequência à creche durante a idade pré-escolar, sobre o escore Z de altura para idade da criança. Isso mostra a importância de condições de vida que precedem o ingresso da criança no CIEP e que certamente afectaram o seu crescimento em períodos em que a criança é biologicamente mais vulnerável.

Palavras chave: Estado nutricional, desenvolvimento infantil, antropometria, desnutrição infantil.

SUMMARY. Nutritional status of students of full time public schools. São Paulo. Brasil. The nutritional status and some of their conditioning factors of 257 students from 7 to 13 years of age registered at the Integrated Public Education Centers -CIEP's in American, state of São Paulo, are analyzed. Height of students is used to determine the nutritional status, with the classification based on standard deviation units (height/age Z score). A 15.6% ratio of children with chronic malnutrition (HAZ<-2) is observed. Statistical analysis shows that the child's height for age Z score is influenced by per capita family income and attendance today-care centers during preschool age, among other variables. That shows the importance of life conditions prior to the child's entry to CIEP and which have certainly affected his growth throughout periods when a child is biologically most vulnerable.

Key words: Nutritional status, child development, anthropometry, child malnutrition.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, as transformações do ordem econômica, social e demográfica pelas quais passou a sociedade brasileira afetaram consideravelmente o perfil nutricional e educacional da população.

Particularmente no que diz respeito ao estado nutricional infantil, dados obtidos pela Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição - PNSN (1) revelam que, na população brasileira menor de 10 anos de idade, a natureza da desnutrição é de caráter mais crônico que agudo, estando as crianças com desnutrição crônica concentradas nas famílias cuja renda mensal é inferior a dois salários mínimos.

Na década dos 90, alguns estados do país acumularam experiências com a realização de censos antropométricos, envolvendo crianças pertencentes à rede oficial de ensino.

No estado do Ceará (Região Nordeste), Guerra et al (2), analisando informações censitárias referentes a 63.910 escolares, com idade entre 6 e 9 anos observaram que o retardo severo em altura foi de 2,68% que, acrescido ao retardo moderado, totalizou 17,23% de prevalência do retardo estrutural entre crianças a nível estadual.

No Censo realizado por Rivera et al (3), entre escolares de

7a. Região Educacional do estado da Paraíba (Região Nordeste) verificaram que há maior prevalência de desnutrição crônica entre crianças de 9 ano de idade (21,9%). Entre os escolares com 7 e 8 anos, os percentuais são 19,9 e 19,4, respectivamente.

Estudo realizado por Amigo et al (4), para investigar o estado nutricional de escolares de 6 a 8 anos de idade pertencentes a estratos de baixo nível sócio-econômico de Santiago (Chile) e da cidade de São Paulo (Brasil), revelou prevalência de retardo no crescimento de 23,1% em São Paulo enquanto em Santiago a proporção atingiu 39,9%. O menor déficit de altura observado entre escolares de São Paulo é atribuído à existência de melhores condições de vida posteriores ao nascimento para essa população.

Deve-se ressaltar que no Brasil, indiscutivelmente a desnutrição infantil apresenta maior prevalência na região Nordeste, havendo indícios de que situação similare é verificada em algumas áreas de baixa renda das grandes cidades da região Sudeste.

A despeito das questões educacionais, dados divulgados pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - FIBGE (5), indicam que no final do século XX, o Brasil dá evidentes sinais da incapacidade de conter a falência do sistema educacional. Além dos índices de repetência, evasão

e outros índices do rendimento escolar que apontam para um ciclo vicioso, o analfabetismo atinge 20% da população e 26% das crianças não têm acesso à escola.

Desse modo, o propósito de cumprir o artigo constitucional que garante a educação no país, tem proporcionado o aparecimento de inúmeras experiências educacionais que surgem com a promessa de solução à crise imposta pelo sistema educacional vigente.

A escola pública de tempo integral é um exemplo de proposta pedagógica, representando uma alternativa para o problema do ensino, isto é, coloca-se como instrumento da universalização da educação básica para amplas camadas da população.

O referido modelo pedagógico visa ampliar o período de permanência da criança na escola, como proposta de formação integral que inclua, além do ensino formal, atividades culturais, recreativas, esportivas, pré-profissionalizantes e o reforço escolar.

Na década dos 80, a proposta pedagógica surgiu com força no cenário da educação brasileira, através da experiência dos Centros Integrados de Educação Pública-CIEP's, implantados no estado do Rio de Janeiro (Região Sudeste) durante o governo de Leonel Brizola sob coordenação, na época, do Secretário Estadual de Educação, o antropólogo Darcy Ribeiro.

Experiência similar à do governo do Rio de Janeiro foi feita a partir de 1990 no estado de São Paulo, especificamente no município de Americana (Região Sudeste), assim através de Administração Municipal, foi iniciada a implantação de quatro CIEP's.

Face ao exposto nessa seção e tendo em vista a relativa escassez de informações sobre o estado nutricional do público-alvo da Escola de Tempo Integral, optou-se pela realização deste estudo, visando o conhecimento do estado nutricional dos escolares, procurando associá-lo a alguns determinantes sócio-econômicos e ambientais.

MATERIAL E MÉTODOS

Local da pesquisa

Americana é um município localizado na Região Administrativa de Campinas (Região Sudeste) que possui 144,0 km² de extensão territorial e 153.840 habitantes. A taxa de urbanização do município é de 99,88% e a densidade demográfica, 1.067,91 hab/km² (6).

Este Município é um dos maiores produtores de tecido do país; 50% de todo o ramo industrial que actualmente conta com 958 empresas, é de atividade têxtil. A outra metade das indústrias de transformação, 25% também está ligada ao ramo. As indústrias de tecelagem são as melhores empregadoras de mão-de-obra da cidade (7).

Procedimento amostral

Para a execução de pesquisa realizou-se junto à diretoria dos 4 CIEP's o levantamento preliminar, visando a obtenção

de informações relativas ao número de alunos matriculados em cada unidade. Assim como os dados referentes à identificação da criança (nome completo, sexo, data de nascimento e endereço).

Uma vez identificadas as 2.579 crianças, fêz-se a classificação em 7 grupos de idade em cada um dos CIEP's, distinguindo-as por sexo. Assim, obteve-se: 4 (nº de CIEP's) x 7 (nº de grupos de idade) x 2 (sexos: masculino e feminino) = 56 estratos.

Para a composição da amostra estratificada proporcional, optou-se pelo sorteio de 10% dos escolares matriculados, obtendo-se assim 257 crianças. Esse procedimento garante que a distribuição das crianças conforme CIEP's, sexo e grupos etários seja idêntica à sua distribuição no população considerada.

MÉTODO

Estado nutricional

A análise das condições de crescimento de uma população, a partir de dados antropométricos, requer a adoção de um padrão de referência.

Neste estudo, adotou-se o padrão antropométrico NCHS (8), recomendado pela Organização Mundial de Saúde (9) como padrão internacional de referência. Vele informar que o referido padrão foi adotado pelo Ministério de Saúde, como referência à população brasileira.

Para cada criança do estudo, foi calculado o índice antropométrico altura para idade (A/I).

De acordo com Valverde (10), justifica-se a adoção da altura da criança em idade escolar como indicador do estado nutricional e das condições de saúde da população em geral, tendo em vista a vulnerabilidades da população infantil aos agravos ambientais e a constatação de que a relação altura para idade nesta faixa etária, resume satisfatoriamente os eventos sociais, econômicos e biológicos ocorridos com a criança desde sua concepção.

Neste estudo adota-se, o critério para classificação com base nas unidades de desvio padrão, ou escore Z.

O cálculo das idades dos escolares e dos respectivos valores dos escores de altura para idade (ZAI) foram determinados utilizando-se o programa EPI-INFO (11).

Serão distinguidos três intervalos de valores de ZAI: menor que -2, de -2 a menos que -1 e pelo menos igual a -1.

Em uma população com boas condições de saúde e nutrição, aproximadamente 2,3% dos valores estarão no primeiro intervalo (desnutrição crônica), 13,6% estarão no segundo intervalo e os restantes 84,1% deverão ter ZAI \geq -1 (eutrofia). Se em um determinado grupo de crianças for constatado que a proporção com Z de altura para idade inferior a -2 é substancialmente superior a 2,3%, tem-se um indicador de que as condições de saúde e nutrição são inadequadas, o que e stá sempre associado á pobreza da população analisada.

Para tornar possível o cálculo do qui-quadrado de tendência linear de Mantel-Häenszel (12), em alguns casos foram elabo-

radas tabelas com apenas dois níveis de escore Z de altura para idade: $ZAI < -2$ e $ZAI \geq -2$. O procedimento será adotado para análise das tabelas que envolvem o nível de renda e escolaridade da mãe. O qui-quadrado comum destina-se a captar qualquer tipo de relação entre as duas variáveis utilizadas na elaboração de tabelas de contingência. Por outro lado, o qui-quadrado da tendência linear destina-se a detectar a existência de tendência de crescimento ou diminuição da proporção de desnutridos crônicos ($ZAI < -2$) em função do nível da outra variável considerada, que no caso será a renda ou escolaridade de mãe. Sendo um teste com uma finalidade mais específica o qui-quadrado de tendência linear é mais poderoso que o qui-quadrado comum.

Características sócio-econômicas

Mediante entrevista realizada na própria escola com a mãe ou responsável, foram obtidas as informações e registradas em formulário planejado especialmente para o estudo. Foram colhidas as seguintes informações: renda familiar*, nível de escolaridade da mãe, tipos de abastecimento de água, de esgoto, moradia e frequência à creche.

Utilizou-se, nesta pesquisa, a renda familiar que expressa melhor a disponibilidade de recursos, pois leva em consideração o número de pessoas que teoricamente dividem a renda.

As dificuldades e os custos inerentes a alguns tipos de estudos epidemiológicos impõem uma série de restrições à sua realização em nosso meio. Por essa razão, praticamente a totalidade das informações disponíveis especificamente sobre o estado nutricional de crianças brasileiras é obtida através de estudos transversais.

Nesta pesquisa optou-se pela realização de estudo transversal. É pertinente destacar que mesmo com algumas limitações inerentes ao tipo de delineamento adotado, a quantificação dos dados possibilitou as estimativas de riscos a que o grupo de escolares matriculados nos CIEP's estavam expostos no momento da pesquisa.

Sabe-se que o indicador altura para idade (variável dependente) resume os eventos sócio-econômicos e biológicos ocorridos com a criança desde a sua concepção. É razoável supor, entretanto, que as condições de vida observadas no momento da pesquisa são semelhantes àquelas enfrentadas pelas crianças na sua vida pregressa, inclusive nos primeiros dois anos, considerados particularmente críticos para o crescimento e desenvolvimento infantil.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

É importante ressaltar que foram tomadas medidas antropométricas para a totalidade de crianças pertencentes à amostra.

Na Tabela 1 apresentam os resultados da classificação do estado nutricional das crianças conforme CIEP de origem.

TABELA 1
Distribuição das crianças em três categorias do estado nutricional, com base no escore Z de altura/idade (ZAI), conforme CIEP. Americana, 1994

CIEP	Crianças		Categorias do estado nutricional					
	n	%	ZAI < -2		-2 ≤ ZAI < -1		ZAI ≥ -1	
			n	%	n	%	n	%
I	64	24,9	17	26,6	21	32,8	26	40,6
II	64	24,9	8	12,5	29	45,3	27	42,2
III	65	25,3	13	20,0	14	21,5	38	58,5
IV	64	24,9	2	3,1	29	45,3	33	51,6
Total	257	100,0	40		93		124	

$\chi^2 = 22,4$ com 6 graus de liberdade, significativo a 1%.

Verifica-se proporção elevada de crianças com $ZAI < -2$. O percentual é aproximadamente 7 vezes maior ao observado em populações que desfrutam de boas condições de saúde e nutrição. É interessante notar que a prevalência de déficits de altura nesses CIEP's é muito superior à observada por MONDINI (13) entre crianças de escolas públicas da cidade de Rio Claro. A autora verificou que a prevalência de desnutridos crônicos no município, situado na região de Americana, oscilava entre 3,7% e 12,6%.

Os resultados seguem de maneira bastante próxima os dados de altura das crianças brasileiras do setor urbano da Região Sudeste, obtidos através da PNSN (1). De acordo com a pesquisa, os jovens brasileiros apresentam maior desvantagem de altura do que de peso quando comparados ao padrão de referência. Na área urbana da região sudeste, as diferenças embora menores que na área rural, são de 5 centímetros para as mulheres aos 13 anos e 6 para os homens aos 14 anos.

Deve-se lembrar também as indesejáveis repercussões do retardo no crescimento dos indivíduos, principalmente nos países mais pobres, onde os rendimentos, freqüentemente, são obtidos através de trabalho humano que demanda grande capacidade física e alto gasto energético.

Estudo de Spurr (14) ressaltou que a capacidade física para o trabalho depende do estado nutricional, verificando que os agricultores desnutridos apresentaram menor capacidade física e menor produtividade como consequência da diminuição da massa muscular.

No Brasil, onde grande parte dos trabalhadores realizam atividades profissionais que requerem esforço físico muscular, a repercussão orgânica do trabalho de indivíduos desnutridos pode assumir proporções calamitosas.

Anjos (15), analisando dados da PNSN, constatou que a curva de déficit de estatura das crianças com pais que trabalham com esforço físico intenso é maior do que aquelas cujos progenitores têm atividades mais suaves, apesar de todas

* Na época da coleta de dados da pesquisa a taxa de câmbio era igual a 1 Real por dólar.

apresentarem, em média, déficits de estatura. Á semelhança do que ocorre com seus pais, as crianças com maiores déficits de crescimento entram cedo no mercado de trabalho e fatalmente acabarão no sector que exige menor capacitação da mão-de-obra, associado à ocupação com grande esforço físico.

Tendo em vista que a pesquisa busca contribuir para a discussão acerca dos condicionantes do estado nutricional, apresenta-se, a seguir, a análise da influência de alguns fatores sobre os índices antropométricos dos alunos matriculados nos quatro CIEP's de Americana. Vale lembrar que a amostra constituiu-se, inicialmente, de 257 crianças.

Os fatores considerados são: renda familiar per capita, escolaridade da mãe, tipo de abastecimento de água no domicílio, modalidade de esgoto, condições da habitação (alvenaria ou não), e o fato da criança ter ou não freqüentado creche. Assim, foi necessário excluir as crianças para as quais não se obteve informações para algum dos referidos factores, totalizando 242 crianças na amostra.

Na Tabela 2, são apresentados os resultados da classificação das crianças quanto aos estratos de renda e categorias de estado nutricional.

TABELA 2

Número e percentagem de crianças em cinco estratos de renda familiar per capita, segundo categorias do estado nutricional. Americana, 1994

Estrato de renda familiar (\$ per capita)	Crianças		Categorias do estado nutricional					
	n	%	ZAI < -2		-2 ≤ ZAI < -1		ZAI ≥ -1	
			n	%	n	%	n	%
< 25	50	20,8	13	26,0	19	38,0	18	36,0
25 -50	82	34,2	13	15,8	29	35,4	40	48,8
50 -75	39	16,2	9	23,1	17	43,6	13	33,3
75 -100	29	12,1	1	3,4	13	44,8	15	51,7
≥ 100	40	16,7	2	5,0	7	17,5	31	77,5
Total	240	100,0	38		85		117	

Verifica-se que, à medida que aumenta a renda, tende a diminuir a percentagem de crianças com $Z < -2$ e aumentar a percentagem com $Z \geq -1$.

É importante destacar que estudos regionais realizados no estado do Rio de Janeiro - Região Sudeste (16,17), no interior do estado de São Paulo - Região Sudeste (18) e Distrito Federal (19) também apontam para a estreita relação entre o estado nutricional infantil a renda familiar.

Os resultados apresentados são confirmados pela análise do risco relativo de desnutrição conforme mostra a Tabela 3.

TABELA 3

Prevalência de desnutrição crônica entre escolares, conforme renda familiar per capita. Americana, 1994

Estrato de renda familiar (\$ per capita)	Número de crianças com ZAI < -2	Prevalência da desnutrição crônica (ZAI < -2) (%)	Risco relativo
< 25	13	26,0	5,2
25 -50	13	15,9	3,2
50 -75	9	23,1	4,6
75 -100	1	3,5	0,7
≥ 100	2	5,0	1,0
Total	38		

Observa-se uma clara associação entre renda per capita e a prevalência de desnutrição crônica.

Note-se que os escolares pertencentes a famílias de baixa renda (<25 dólares per capita) apresentam aproximadamente 5 vezes mais risco de desnutrição crônica do que o grupo com renda familiar per capita mais alta (≥100 dólares).

Os dados obtidos nesta pesquisa são concordantes com a PNSN (1) que revelou a forte influência exercida pela renda familiar sobre o padrão de crescimento das crianças brasileiras.

Analisando-se, concomitantemente os dados das Tabelas 2 e 3, verifica-se que entre as 50 crianças com renda familiar per capita inferior a 25 dólares há 13 com escore - ZAI < -2. Assim o risco de desnutrição crônica nesse estrato de renda é $13/50=0,26$ ou 26%. No estrato de maior renda (pelo menos igual a US\$ 100,00), o risco de desnutrição crônica é $2/40=0,05$ ou 5%. Desse modo, o risco relativo de desnutrição crônica no estrato mais pobre é $26/5=5,2$. Os demais valores de risco relativo apresentados na última coluna da table 3 são calculados de maneira análoga, sempre tendo por base o risco de desnutrição crônica no estrato com renda familiar per capita igual ou superior a 100 dólares.

Quanto ao papel do nível de escolaridade na determinação do estado nutricional das crianças, lembra-se que maior nível de escolaridade pode contribuir, entre outros factores, para melhor utilização de serviços públicos de saúde e para a identificação e seleção de alimentos ricos em nutrientes. Indiretamente a escolaridade atua na medida em que ela esteja relacionada às maiores chances de participação no mercado de trabalho e de receber salários mais altos.

É interessante mencionar que 28,3% das famílias dos escolares amostrado são chefiadas por mulheres. A situação condiciona freqüentemente uma maior mobilização dos membros dessa famílias sugerindo que, dado os diferenciais de rendimento entre os sexos vigentes na sociedade brasileira, a chefia feminina gera a necessidade de que crianças e adolescentes também colaborem para a composição da renda familiar. O fato concorre para um prejuízo para as crianças que devido ao ingresso precoce no mercado de trabalho, têm dificuldades para freqüentarem a escola de tempo integral.

A Tabela 4 mostra os resultados da classificação das crianças, segundo os níveis de escolaridade da mãe e categorias do estado nutricional.

TABELA 4
Número e percentagem de crianças em cinco níveis de escolaridade da mãe, segundo categorias do estado nutricional. Americana, 1994

Níveis de escolaridade da mãe (anos)	Crianças		Categorias do estado nutricional					
	n	%	ZAI < -2		-2 ≤ ZAI < -1		ZAI ≥ -1	
			n	%	n	%	n	%
sem estudo	10	4,2	2	20,0	3	30,0	5	50,0
1 a 3	56	23,3	11	19,6	22	39,3	23	41,1
4	71	29,6	14	19,7	25	35,2	32	45,1
5 a 8	79	32,9	9	11,4	24	30,4	46	58,2
9 ou mais	24	10,0	2	8,3	11	45,8	11	45,8
Total	240	100,0	38		85		117	

$\chi^2 = 7,13$ com 8 graus de liberdade, não-significativo.

χ^2 (MH) = 2,99 com 1 grau de liberdade, significativo a 10%

Observa-se que a proporção de crianças com escore-Z (altura/idade) < -2 tende a diminuir quando aumenta a escolaridade de mãe.

O maior percentual (56,2) de crianças eutróficas (ZAI ≥ -1) é observado no grupamento cujas mães possuem de 5 a 8 anos de estudo, indicando a importância da escolaridade materna para o desenvolvimento da criança.

Na Tabela 5 apresenta-se a análise de risco de desnutrição conforme os níveis de escolaridade da mãe.

TABELA 5
Prevalência de desnutrição crônica entre escolares, conforme níveis de escolaridade da mãe. Americana, 1994

Níveis de escolaridade da mãe (anos)	Número de crianças com ZAI < -2	Prevalência da desnutrição crônica (ZAI < -2) (%)	Risco relativo
sem estudo	2	20,0	2,4
1 a 3	11	19,6	2,4
4	14	19,7	2,4
5 a 8	9	11,4	1,4
≥ 9	2	8,3	1
Total	38		

Note-se que as crianças cujas mães possuem até um máximo de quatro anos de estudo apresentam risco de desnutrição crônica 2,4 vezes maior do que aquelas cujas mães têm escolaridade igual ou superior a 9 anos.

É oportuno ressaltar que a educação aumenta o "custo de oportunidade" do tempo das mães, ampliando suas chances de

participar do mercado de trabalho e de competir por salários mais altos.

Cabe lembrar que "custo oportunidade" é o que o indivíduo (possuidor de um recurso) deixa de ganhar por não utilizar esse recurso na melhor aplicação alternativa.

Na literatura encontra-se documentada a forte influência que o meio ambiente exerce sobre o estado de saúde principalmente de crianças (20-22).

As características do saneamento (abastecimento de água e tipo de esgoto) e da moradia dos escolares são apresentadas na Tabela 6.

TABELA 6
Número e percentagem de crianças segundo as condições de saneamento e moradia e categoria do estado nutricional. Americana, 1994

Condições de saneamento e moradia	Crianças		Categorias do estado nutricional					
	n	%	ZAI < -2		-2 ≤ ZAI < -1		ZAI ≥ -1	
			n	%	n	%	n	%
Abastecimento de água¹:								
torneira em casa	192	80,0	29	15,1	62	32,2	101	52,6
torneira coletiva	33	13,6	8	24,2	18	54,6	7	21,2
poço, fonte, outras formas	15	6,3	1	6,7	5	33,3	9	60,0
Tipo de Esgoto²:								
rede geral	197	82,1	29	14,7	65	33,0	103	52,3
sem esgoto	37	15,4	8	21,6	19	51,4	10	27,0
fossa negra e outro	6	2,5	1	16,7	1	16,7	4	66,7
Tipo de Casa³:								
alvenaria não	217	90,4	31	14,3	76	35,2	110	50,7
alvenaria	23	9,6	7	30,4	9	39,1	7	30,4

(1) $\chi^2 = 12,40$ com 4 graus de liberdade, significativo a 5%

(2) $\chi^2 = 8,99$ com 4 graus de liberdade, significativo a 10%

(3) $\chi^2 = 5,27$ com 2 graus de liberdade, significativo a 10%

Observa-se que a situação quando o abastecimento de água pode ser considerada relativamente favorável. A grande maioria (80%) das crianças dispunha de água encanada no domicílio, das quais verifica-se que 15,1% das crianças pertencem à categoria com ZAI < -2. A situação revelou-se claramente desfavorável para aquelas cuja família utilizava torneira coletiva: 24,2% apresentaram escore Z (altura/idade) < -2.

Substancial parcela das crianças (82,1%) viviam em domicílios ligados à rede geral (pública) de esgoto. Para essa condição, verificou-se uma proporção de 14,7% das crianças

com ZAI <-2. As situações mais desfavoráveis foram observadas para as crianças com domicílio sem esgoto e fossa negra com valores de, respectivamente, 21,6 e 16,7% de crianças com ZAI <-2.

Avaliando a associação entre características de moradia (quanto ao aspecto "tipo de construção") e categoria do estado nutricional observa-se que a maioria (90,4%) das crianças vivem em moradias construídas em alvenaria, sendo que a proporção de crianças com ZAI <-2 é muito maior entre as que moram em casas de "não alvenaria" (30,4%) do que entre aquelas cuja casa é de alvenaria (14,3%).

Tendo em vista as características de saneamento básico (água tratada e esgoto) e de moradia em que vive a maioria das crianças estudadas, constata-se que o ambiente parece assegurar razoáveis condições de saúde para as mesmas.

Os resultados da análise da associação entre escore Z de altura para idade e frequência ou não à creche ou pré-escola são apresentados na Tabela 7.

TABELA 7

Número e percentagem de crianças segundo a frequência à creche e categoria do estado nutricional. Americana, 1994

Frequência a creche	Crianças		Categorias do estado nutricional					
	n	%	ZAI <-2		-2 ≤ ZAI <-1		ZAI ≥ -1	
			n	%	n	%	n	%
SIM	155	64,6	17	11,0	54	34,8	84	54,2
NÃO	85	35,4	21	24,7	31	36,5	33	38,8
Total	240	100,0	38		85		117	

$X^2 = 9,24$ com 2 graus de liberdade, significativo a 1%

É interessante destacar a substancial proporção (64,6%) de crianças que durante a idade pré-escolar frequentaram creches. O fato da criança frequentar creche permite pressupor que há acesso a alimentação adequada, cuidados básicos e estimulação, o que contribuiria para a proteção contra a desnutrição. De acordo com os dados desta Tabela confirma-se esta suposição. Note-se que a proporção de crianças com ZAI <-2 é menor (11,0%) entre as que frequentaram creche. Para esse grupo a proporção com ZAI ≥ -1 é 54,2%. A situação é desfavorável para as crianças que não frequentam creche; neste caso 24,7% apresentam ZAI <-2 e 38,8%, ZAI ≥ -1.

Vale lembrar a importância que os primeiros dois anos de vida exercem sobre a altura de criança, por ser um período particularmente vulnerável. Neste sentido, estudo realizado por Monteiro (23), revelou que, em áreas de baixa renda do estado de São Paulo, 90% déficit estatural das crianças aos 7 anos já estava estabelecidos aos 24 meses de idade.

Após a constatação de que o escore Z de altura para idade, e a frequência à creche estão associados, julgou-se pertinente uma exploração mais detalhada envolvendo o controle da renda. Assim, buscou-se conhecer, também, o risco relativo de desnutrição pra crianças que não frequentaram a creche,

conforme o estrato de renda familiar per capita a que pertencem. Estes resultados podem ser visto na Tabela 8 e apontam para a importância de acesso à creche, especialmente para as crianças mais pobres. Note-se que o risco relativo de desnutrição para os que não frequentaram a creche é substancialmente maior (praticamente o dobro) para crianças pertencentes a famílias de menor renda.

TABELA 8

Prevalência da desnutrição crônica entre escolares, conforme frequência ou não à creche, de acordo com dois estratos de renda per capita. Americana, 1994

Estrato de renda familiar (\$ per capita)	Frequência à creche	Número de crianças	Prevalência da desnutrição crônica (ZAI <-2) (%)	Risco relativo
< 50	SIM	68	11,8	1,0
	NÃO	64	28,1	2,4
≥ 50	SIM	87	10,3	1,0
	NÃO	21	14,3	1,4

$X^2 = 5,29$ com 1 grau de liberdade, significativo a 5%

Cabe citar o estudo de Silva & Sturion (24) que analisaram o estado nutricional de 2.099 pré-escolares, constatando através de análise de regressão múltipla, a influência estatisticamente significativa (ao nível de 1%) exercida pelo tempo de permanência em creches sobre o escore Z de altura para idade das crianças, mesmo depois de controlado o efeito de renda. Períodos de permanência maiores representaram maior adequação da altura/idade. Utilizando a mesma análise estatística, as autoras verificaram forte e significativa influência (ao nível de 5%) do tempo de permanência na creche sobre o escore Z de peso para a idade das crianças. Os resultados apontam para a importância que o atendimento infantil, operacionalizado através de creches, pode ter como fator que contribui, de maneira positiva, para o crescimento das crianças.

Assim, dadas as características de faixa-etária de zero a 24 meses, é valioso dispor de programas de atendimento integral e de qualidade, destinados à população infantil. Pode-se, também, conferir um potencial preventivo a essa modalidade de atendimento.

Esse resultado merece destaque, pois comprova o papel preventivo que as creches podem exercer no sentido de evitar a desnutrição à medida que associam à educação, o cuidado básico com saúde, alimentação e higiene. Possibilita, ainda, a entrada ou permanência de mães no mercado de trabalho e, principalmente nas famílias chefiadas por mulheres, libera o (a) irmão (ã) mais velho (a) -que na ausência do pai se sobrecarrega, seja com a entrada precoce no mercado de trabalho, ou atendendo em casa ao irmão menor- para frequentar a escola regular. É recomendável que em estudos futuros essa variável seja pormenorizadamente caracterizada, coletando,

por exemplo, informações sobre idade de ingresso na creche, tempo de permanência e qualidade do atendimento.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN). Pesquisa nacional sobre saúde e nutrição; resultados preliminares. Brasília, D.F., 1990.
2. Guerra VMCO, Oliveira AA, Souza MER, Dantas MJBL, Sá MLB, Girão MSN. Primeiro censo estadual de altura/idade dos escolares de 1a. série do ensino fundamental. Fortaleza, Secretaria da Educação do Estado do Ceará. Departamento de Assistência ao Estudante, 1993.
3. Rivera F, Rivera MA, Leitão S, Carvalho A, Moura HJ, Benigna MJ. A desnutrição crônica por municípios, nos estudantes da primeira série do primeiro grau de 7a. Região Educacional do Estado de Paraíba. Rev Nutr PUCCAMP, 1994;7(2):113-31.
4. Amigo H, Leone C, Bustos P, Gallo P. Comparación de la situación nutricional en escolares de bajo nivel socioeconômico de Santiago (Chile) e São Paulo (Brasil). Arch Latinoamer Nutr, 1995;45:31-35.
5. Fundação Ibgc. Crianças e adolescentes: indicadores sociais. Rio de Janeiro, 1989. v. 1-3.
6. Fundação Seade. Anuário estatístico do Estado de São Paulo. São Paulo, 1991.
7. Fundação Seade. Perfil municipal (1980-1991). Região Administrativa de Campinas. São Paulo, 1993.
8. National Center for Health Statistics. NCHS growth charts. Vital Health Stat., 1976;25:1-22.
9. WHO, Working Group. Use and interpretation of anthropometric indication of nutritional status. Bul. World Health Organ., 1986;64:929-41.
10. Valverde V. The school as a data source for food and nutrition surveillance systems in Central America and Panamá. Food Nutr Bull, 1985;7(4):32-7.
11. Dean AG, Dean JA, Buston AH, Dicker RC. Epi Info, Version 5: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on micro-computers. Center for Disease Control Atlanta, Georgia, USA, 1990.
12. Mantel N & Häenszel W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. J Natl Cancer Institute, 1959;22:719-748.
13. Mondini L. Coleta e análise da altura de escolares ingressantes no primeiro grau como componente de um sistema de vigilância nutricional: desenvolvimento de metodologia, implantação e avaliação. Rio de Janeiro, 1990. (Dissertação de Mestrado/ Instituto de Nutrição/Universidade Federal do Rio de Janeiro).
14. Spurr GB. Body Size, physical work capacity and productivity in hard work: is bigger better? In: Waterlow, JC. Linear growth retardation in less develop countries. New York: Raven Press, 1988. p.215-243. (Nestlé Nutrition Workshop Series, v.14).
15. Anjos LA. Os desnutridos carregam o piano: quando a fome e o trabalho pesado perpetuam a miséria. Ciênc Hoje 1993;17(100):115.
16. Anjos LA, Meirelles E, Knackfuss J, Cardoso C, Costa SG. Indicadores de gordura corporal em crianças de 7 a 11 anos vivendo em condições sócio-ambientais diferentes no Rio de Janeiro, Brasil. Cienc Cul, 1989;41:1179-88.
17. Soares LBCA, Bairros ALS, Valle J. Perfil Nutricional de escolares do CIEP "Dona Maria Portugal", Niterói. In: Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 3°. São Paulo, 1993. Anais. São Paulo, SBAN, 1993.
18. Barros AA, Barros MBA, Maude GH, Ross DA, Davies PSW, Preece MA. Evaluation of the nutritional status of 1st year school children in Campinas, Brazil. Ann Trop Paediatr, 1990;10:75-84.
19. Furumoto RA, Souza MCG, Boni MS. Nutrição escolar: peso e altura de crianças de uma escola pública da periferia do Distrito Federal. In: Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 3° São Paulo, 1993. Anais. São Paulo, SBAN, 1993; p.46.
20. Golding J. Child health and the environment. B Med Bull, 1986;42:204-11.
21. Johnson V. Causes of hunger Food. nutr Bull, 1981;3:1-9.
22. Monteiro CA & Benício MHD. Epidemiologia da desnutrição protéico-calórica. In: nobrega FJ. Desnutrição intra-uterina e pós natal. São Paulo, Panamed Ed., 1981; p.120-9.
23. Monteiro CA. Critérios antropométricos no diagnóstico da desnutrição em programas de assistência à criança. Rev Saúde Pública, 1984;18:209-17.
24. Silva MV & Sturion GL. Censo antropométrico das crianças dos centros educacionais e creches da Prefeitura Municipal de Piracicaba, Estado de São Paulo, 3° Relatório Técnico. Piracicaba, ESALQ/USP, 1995.

Recibido: 28-02-1997

Aceptado: 15-12-1997

Efecto de la altura sobre la absorción del hierro

Fernando Pizarro, Nelly Zavaleta, Eva Hertrampf, Rocío Berlanga, Liliana Camborda, Manuel Olivares

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago de Chile,
Instituto de Investigación Nutricional, Lima - Perú

RESUMEN. Con el objeto de establecer la biodisponibilidad del hierro en habitantes residentes en la altura, se realizó un estudio de absorción de hierro de una dosis de referencia de ascorbato ferroso y de una dieta estándar, a base de harina de trigo, mediante una técnica radioisotópica que utiliza marca extrínseca de ^{55}Fe y ^{59}Fe . Participaron en este estudio 24 mujeres aparentemente sanas, voluntarias, y de edades entre 28 y 45 años, 11 residían a 3.450 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) en Huancayo, Perú (grupo de estudio) y 13 a 630 m.s.n.m. en Santiago de Chile (grupo control). La absorción de hierro de la dosis de referencia del ascorbato ferroso fue de 32% y 31.1% en grupo de estudio y el grupo control respectivamente. La media geométrica de la absorción de hierro de la dieta estándar, corregida a 40% de absorción de la dosis de referencia fue 9.0% y 6.9% en grupo de estudio y en el grupo control respectivamente (N.S.). Los resultados sugieren que la altura no determina una mayor absorción de hierro en residentes de tierras altas.

Palabras clave: Absorción de hierro, ascorbato ferroso, dosis de referencia.

SUMMARY. Effect of altitude on iron absorption. Iron bioavailability was evaluated in people living in high altitudes. Absorption was estimated from a reference dose of ferrous ascorbate and from a standard diet of wheat flour, using extrinsic tag radioisotope technique of ^{55}Fe and ^{59}Fe . Twenty four volunteers, healthy women, with ages ranging from 28 to 45 years, participated. Of those, eleven lived at 3450 meters above sea level (m.a.s.l.) in Huancayo city-Peru (study group), and 13 lived in Santiago de Chile at 630 m.a.s.l. (control group). Iron absorption from reference dose of ferrous ascorbate was 32.0% and 31.1% in the study and control groups respectively. The geometric mean of iron absorption from the standard diet, corrected to 40% of absorption of reference dose, was 9.0% and 6.9% in the study and control groups respectively (NS). The results suggest that altitude does not produce a high iron absorption in highlander residents.

Key words: Iron absorption, ferrous ascorbate, reference dosis.

INTRODUCCION

La anemia por deficiencia de hierro es la carencia nutricional de mayor prevalencia en el mundo y principalmente afecta a países en desarrollo, siendo la principal causa la inadecuada cantidad y calidad del hierro dietario (1,2). Los lactantes, mujeres en edad fértil y gestantes son los grupos de mayor riesgo de desarrollar esta deficiencia, debido principalmente a las altos requerimientos ocasionados por el crecimiento y/o aumento de las pérdidas (3,4). La deficiencia de hierro altera la inmunidad celular, produce una disminución de la capacidad física de trabajo, y afecta negativamente el desarrollo psicomotor en lactantes (5-7).

En el mundo, alrededor de 25 millones de personas viven en lugares sobre los 3.000 m.s.n.m. (8). En Latinoamérica, importantes poblaciones humanas residen, por sobre esta altura, como la Sierra Madre de México y la Región Andina de Sudamérica. A mayor altitud disminuye la presión atmosférica y por tanto hay una menor pO_2 . Las personas que viven a estos lugares desarrollan una serie de mecanismos fisiológicos de adaptación (9-11), entre ellos está el incremento de la hemoglobina para mantener un adecuado abastecimiento de oxígeno a los tejidos y órganos que se encuentran en condicio-

nes de hipoxia (12).

Se ha descrito una alta prevalencia de anemia en la región latinoamericana incluyendo poblaciones que residen a mayor altitud (13, 14). La principal causa de esta anemia ha sido un inadecuado aporte de hierro de la dieta.

En la literatura, existe escasa información sobre el efecto de la altura sobre la absorción de hierro. Estos estudios realizados en la década de los 50, con una técnica monoisotópica, muestra que los sujetos varones residentes en la altura y con un adecuado estado nutrición de hierro, no presentan un mayor absorción de hierro pese a contar con una mayor masa eritrocitaria (15,16)

El objetivo de este estudio fue evaluar con una técnica doble isotópica la absorción intestinal de hierro en un grupo de mujeres en edad fértil que habitan a 3.400 m.s.n.m. comparándolo con otro que resida a nivel del mar.

SUJETOS Y METODOS

El estudio de absorción de hierro se realizó en humanos mediante el método de Brise y Hallberg (17) y la técnica doble-isotópica de Eakins y Brown (18). Este consistió en la administración de una dosis de referencia de ascorbato ferroso

y de un alimento en base a harina de trigo (Farina) cuya absorción ha sido estandarizada por varios laboratorios (19).

El estudio de absorción de hierro se realizó en un grupo de veinticuatro mujeres multíparas, voluntarias, aparentemente sanas, no gestantes de edad entre 28 a 45 años. Once de ellas eran residentes de la ciudad de Huancayo por más de 2 años (grupo de estudio). Esta ciudad está ubicada en la sierra central del Perú a 3.450 m.s.n.m y tiene una presión barométrica de 510 mm Hg. Trece vivían en la ciudad de Santiago de Chile (grupo control), ubicada a 630 m.s.n.m con presión barométrica de 705 mm Hg. Se obtuvo un consentimiento por escrito de cada voluntaria previo a la participación en el estudio. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Chile y del Instituto de Investigación Nutricional de Lima.

La dieta estándar estaba compuesta de una mazamorra a base de harina de trigo tipo sémola (Farina), la cual fue proporcionada por Kansas State University, dentro del Programa de Investigación Coordinado sobre Biodisponibilidad de Hierro, auspiciado por la Organización Internacional de Energía Atómica (OIEA) (19). Cada sujeto recibió 400 g de esta preparación que estaba compuesta por 40 g harina de trigo, 250 mL de agua, 0.5 g de sal, 120 mL de leche entera, 14 g de mantequilla, 24 g de azúcar y 3 mg de hierro elemental como sulfato ferroso. La dieta se preparó agregando sal y la Farina al agua, hirviendo por unos minutos, hasta lograr el espesamiento en forma de mazamorra, luego se retiró del fuego y se le agregó la leche, la mantequilla, el azúcar, y el sulfato ferroso.

Tanto la preparación estándar como la dosis de referencia de ascorbato ferroso fueron ingeridos en dos días consecutivos entre las 8 y 9 de la mañana, después de 12 horas de ayuno, en las 3 horas subsiguientes de la ingesta solo se les permitió ingerir agua. En el día 1, los sujetos recibieron 400 g de la dieta estándar marcada extrínsecamente con 111 kBq de $^{55}\text{FeCl}_3$. El día 2, ingirieron 50 mL de una solución ascorbato ferroso que contenía 3 mg de hierro elemental como sulfato ferroso y 19 mg de ácido ascórbico (relación molar de 1:2 de hierro:ácido ascórbico), marcada extrínsecamente con 37 kBq de $^{59}\text{FeCl}_3$. El día 14 se obtuvo una muestra de 30 mL de sangre venosa, para establecer el estado de nutrición de hierro de los sujetos y para determinar la radiactividad incorporada a los eritrocitos (18). El conteo diferencial de ^{55}Fe y ^{59}Fe se realizó en duplicados de sangre y sextuplicados de muestras de la dieta estándar y de ascorbato ferroso. Los valores de absorción fueron calculados asumiendo que el 100% de la radioactividad absorbida fue incorporada a la hemoglobina de los eritrocitos circulantes. La volemia fue estimada según sexo, peso y talla utilizando las Tablas de Tulane (20).

El estado de nutrición de hierro se midió a través de la hemoglobina (Hb) por el método cianometahemoglobina (21), el hierro sérico (Fe), la capacidad total de fijación de hierro (TIBC) por colorimetría (22) y la ferritina sérica (FS) por

ELISA (23). Para la definición de anemia en la altura se utilizó la corrección propuesta por Dirren y cols. (24), llevando el valor límite de Hb a nivel del mar que es 120 g/L a 145 g/L para los 3.500 m.s.n.m. Para obviar diferencias en el estado de nutrición de hierro en los sujetos estudiados, que pudieran influir sobre la absorción de hierro de la Farina, se calculó el índice absorción de hierro de Farina/absorción de hierro de dosis de referencia y el porcentaje de absorción corregido a un 40% de la dosis de referencia.

Debido a que los valores de absorción de hierro se distribuyen asimétricamente, los valores individuales se transformaron a logaritmos naturales y se calculó el promedio geométrico. La comparación estadística entre los grupos se basó en la prueba de t de Student (25). El análisis comparativo de las ferritinas séricas, las absorciones de hierro y el índice de absorción fue realizado en los logaritmos naturales de los resultados.

RESULTADOS

En el grupo de estudio 3 de 11 de mujeres presentaron anemia contrastado con 1 de 13 del grupo control. La concentración de hierro sérico fue semejante en ambos grupos. Sin embargo, la mitad de las doce mujeres del grupo de estudio presentaron una eritropoyesis deficiente en hierro (Sat < 15%) y sólo una de las mujeres del grupo control, principalmente por que el TIBC de las primeras fue significativamente mayor que las últimas ($p < 0.02$). Cinco del grupo control presentaron ferritinas séricas menores a 12 $\mu\text{g/L}$ y sólo 2 mujeres del grupo de estudio.

TABLA 1
Estado de nutrición y biodisponibilidad de hierro de sujetos residentes de Huancayo de Perú (3.500 m.s.n.m.)

Sujetos	Edad (años)	Hb (g/L)	Fe ($\mu\text{g/dL}$)	TIBC ($\mu\text{g/dL}$)	Sat (%)	SF ($\mu\text{g/L}$)	Absorción de Fe (% de dosis)		
							$^{55}\text{Fe(A)}$	Ferroso $^{59}\text{Fe(B)}$	Índice A/B
RR	26	14.3	28	342	8.2	17	14.9	78.3	0.19
RP	29	15.5	8	101	7.9	17	7.5	62.1	0.12
DL	34	14.3	52	515	10.1	6	20.6	53.5	0.39
MG	28	14.8	85	395	21.5	20	3.9	36.7	0.11
LF	40	17.3	80	706	11.3	20	22.4	34.4	0.65
DC	42	15.4	83	479	17.3	27	6.5	27.1	0.24
MS	30	14.7	14	199	7.0	44	5.8	24.2	0.24
GB	34	16.1	83	414	20.0	82	4.0	23.8	0.17
MM	27	15.8	77	389	19.8	24	10.8	21.5	0.50
EO	41	14.0	97	493	19.7	27	2.6	19.3	0.13
LN	28	15.3	109	554	19.7	10	3.2	16.7	0.19
Mean	33	15.2	65	417	14.8	21*	7.2*	32.0*	0.23*
SD	6	1.0	34	166	5.8	11-43	3.4-15.2	19.3-53.0	0.13-0.41

* Promedio Geométrico y rango ± 1 DE

La absorción de hierro del grupo residente en la altura fue

semejante a la absorción de hierro del grupo control. Tanto los promedios geométricos de porcentaje de absorción de hierro de las dosis de referencia (32.0% en el grupo de estudio 31.1% en grupo control), como los índices de absorción Farina/Ascorbato ferroso (0.23 en el grupo de estudio y 0.19 en grupo control) no mostraron diferencias estadísticamente significativas (Tablas 1 y 2). Los promedios geométricos de absorción de la Farina fue de 9.0% en la altura y 6.9% nivel del mar cuando fueron corregido a una absorción de dosis de referencia de 40% (N.S.).

TABLA 2
Estado de nutrición y biodisponibilidad de hierro de sujetos residentes de Santiago de Chile (700 m.s.n.m)

Sujetos	Edad (años)	Hb (g/L)	Fe (µg/dL)	TIBC (µg/dL)	Sat (%)	SF (µg/L)	Absorción de Fe (% de dosis)		Índice A/B
							Farina ⁵⁵ Fe(A)	Ascorbato ⁵⁹ Fe(B)	
AA	37	15.7	63	310	20.3	46	1.6	28.8	0.06
AG	48	13.4	75	375	20.0		9.0	97.6	0.09
AP	45	13.1	91	247	36.8	5	9.3	40.6	0.23
AR	40	14.1	65	295	22.0	11	13.5	59.9	0.23
CG	39	10.4	21	298	7.0	6	3.4	30.6	0.11
GE	43	13.8	84	227	37.0	59	4.5	17.5	0.26
HT	39	14.3	118	317	37.2	36	10.6	19.7	0.54
LM	39	12.4	91	230	39.6	100	2.7	6.2	0.44
MJ	38	13.8	69	351	19.7		3.5	26.6	0.13
ML	42	15.7	74	236	31.4	68	2.7	11.2	0.24
MMe	38	13.5	72	312	23.1	4	1.6	36.8	0.04
MMu	38	15.2	74	277	26.7	9	18.6	78.9	0.24
MS	36	14.7	114	379	30.1	10	15.5	65.0	0.24
Mean	40	13.9	78	297	27.0	22*	5.4*	31.1*	0.19*
SD	3	1.4	24	52	9.5	5-46	2.3-12.8	14.1-68.4	0.10-0.38

Promedio Geométrico y rango \pm 1 DE

DISCUSION

Uno de los rasgos mas característicos del metabolismo de hierro es la capacidad del organismo para mantener una adecuada concentración de hierro a pesar de las diferencias que existan entre los requerimientos fisiológicos y el aporte de hierro dietario regulado en gran parte en el proceso de la absorción intestinal. El hierro absorbido está influenciado tanto por la cantidad y calidad del hierro de la dieta como por el estado de los depósitos (3,4).

Poblaciones humanas viviendo en la altura presentan una mayor masa de glóbulos rojos, evidencia de la adaptabilidad del organismo a la hipoxia hipobárica, este efecto se produce desde los 2.000 m.s.n.m. y aumenta progresivamente en relación a la altura (26). Se ha demostrado en animales que la hipoxia aumenta la absorción de hierro (27) independientemente del aumento de la eritropoyesis (28,29). Reynafarge y cols. (15,16) estudiaron con métodos mono-radioisotópicos la absorción de hierro durante la fase aguda de la adaptación a la altura en sujetos que viven a nivel del mar. Este autor mostró que la absorción de hierro de un hombre residente en la costa,

se triplica a las 48 horas de haber ascendido a 4.500 m.s.n.m. observándose una declinación de la absorción a los 30 días de permanecer en la altura, en este periodo la hemoglobina también se incrementa. A la vez estos autores compararon ocho sujetos que vivía a nivel del mar con 6 sujetos nativos residentes en la altura, no encontrando diferencias en la absorción de hierro. Nuestros resultados corroboran esta información en grupos con un número metodológicamente adecuado de sujetos (n=11 y n=13) en los cuales se controló el estado de nutrición de hierro a través de varios parámetros bioquímicos, y se empleó la técnica doble-isotópica que permite disminuir la variabilidad día a día.

En nuestro estudio llama la atención que pese a que el grupo de altura presenta un mayor número de sujetos anémicos y con eritropoyesis deficiente en hierro, la absorción de la dosis de referencia fue similar a la del grupo a nivel mar, el cual presentó un mejor estado de nutrición de hierro. Una de las razones que explicarían esta inconsistencia es que en el cálculo la radiactividad circulante, la volemia está estimada de tablas obtenidas de sujetos residentes a nivel del mar (Tabla de Tulane). Se sabe que en la altura existe un aumento de la masa eritrocitaria y del volumen plasmático, aunque en este último en forma menos consistente (26,30). Hurtado y cols. (26) estimó la volemia con la técnica de la dilución del rojo brillante encontrando una volemia a nivel del mar de 86.5 mL/Kg (n=26) y a 3.750 m.s.n.m. de 108.7 mL/kg (n=30), de tal modo que a esa altura la volemia es un 25% mayor que a nivel del mar. Si al grupo de altura se determina la volemia desde la Tabla de Tulane y se corrige de acuerdo al porcentaje de incremento anteriormente mencionado, la absorción de la dosis de referencia de ascorbato ferroso sería de un 40% y de un 9% la dieta estándar, valores que están más de acuerdo con el estado de nutrición de hierro de los sujetos por nosotros estudiado. Sin embargo, dado que el aumento de la volemia puede no ser consistente (30), se requiere de estudios actualizados y con las técnicas modernas de los valores de volemia de sujetos que viven en la altura. También llama la atención que en el grupo de estudio que contó con una proporción mayor de anémicos y deficientes en hierro, sólo dos presentarían ferritina sérica < 12 µg/L (reservas de depletadas). La explicación más probable es que los sujetos estudiados por nosotros en la altura pudieran haber tenido algún proceso inflamatorio o infecciosos subclínico, porque estos cuadros pueden elevar la concentración de ferritina sérica (31). Esto es atribuible a la peores condiciones sanitarias de la población de Huancayo comparada a la de Santiago, y no a la altura.

El resultado de este estudio sugiere que no habría un efecto de la altura sobre la absorción de hierro de poblaciones adaptadas. Sin embargo, se requieren de otros estudios de absorción que incluyan medición de la volemia, para confirmar este alcance.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue parcialmente financiado por International Atomic Energy Agency (IAEA): Coordinated Research Program on Isotope-aided Studies of the Bioavailability of Iron and Zinc from Human Diets, PER-6339 y PER- 6336 y por el Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología de Perú (CONCYTEC). Se agradece la colaboración de los académicos de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Centro-Huancayo y del Hospital Daniel Alcides Carrión de Huancayo.

REFERENCIAS

- DeMaeyer E, Adiels-Tegman M. The prevalence of anemia in the world. *Rapp Trimestr Statist Sanit Mond* 1985; 38: 302-316.
- International Nutritional Anemia Consultative Group: The prevalence of anemia in the world. Washington D.C., WHO Report. The Nutrition Foundation. 1985.
- Dallman PR, Siimes MA, Stekel A. Iron deficiency in infancy and childhood. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 86-118.
- International Nutritional Anemia Consultative Group: Iron deficiency anemia in women. Washington D.C., WHO Report. The Nutrition Foundation. 1981.
- Walter T, Olivares M, Pizarro F. Iron and infection. En: *Dietary iron. Birth to two years*. LJ Filer Jr (Ed). New York, Raven Press 1988; 119-132
- Viteri F. Influence of iron nutrition on work capacity and performance. En: *Dietary iron. Birth to two years*. LJ Filer Jr (Ed). New York, Raven Press 1988; 141-160.
- Walter T, De Andraca I, Chadud P, Perales GC. Iron deficiency anemia: Adverse effects on infant psychomotor development. *Pediatrics* 1989; 84:7-17
- Frisancho AR. Human Adaptation and accommodation. *Ann Arbor, The University of Michigan Press* 1996; 219-241.
- Grover RF, Reeves JT, Grover EB, Leathers JS. Muscular exercise in young men native to 3.100 m altitude. *J Appl Physiol* 1967; 22:555-564.
- Lenfant C, Sullivan K. Adaptation to high altitude. *N Engl J Med* 1971; 284: 1298-1309.
- West JB. Human physiology at extreme altitudes on Mount Everest. *Science* 1984; 223: 784-788.
- Hurtado A. Respiratory adaptation in the indian natives of the Peruvian Andes. *Am J Physiol* 1932; 17:137.
- Zavaleta N, Fukumoto M. Implementación de un programa de suplementación con hierro a mujeres gestantes. *USAID Report, Lima Peru* 1996;76
- Berger J, San Miguel JL, Arze RM, Fernández E, Aguayo VM. Anemia por deficiencia de hierro en la región andina. *Actas de Seminario-Taller UMSA-SNS-IBBA, La Paz, ORSTOM* 1996.
- Reynafarje C, Lozano R, Valdivieso J. The polycythemia of high altitudes: Iron metabolism and related aspects. *Blood* 1959; 14: 433-455.
- Reynafarje C, Ramos J. Influence of altitude changes on intestinal iron absorption. *J Lab Clin Med* 1961; 57: 848-855.
- Brise H, Hallberg L. Iron absorption studies. II. A method for comparative studies on iron absorption in man using two radioiron isotopes. *Acta Med Scand* 1962; (Suppl 376):7.
- Eakins I, Brown D. An improved method for the simultaneous determinations of 55-iron and 59-iron in blood by liquid scintillation counting. *Int J Appl Radiat Isotopes* 1966; 17: 391-397.
- Reddy MB, Cook JD. Use of a standard meal to study iron absorption in humans. En: *Coordinated Research Programs on Isotope-Aided studies of the Bioavailability of Iron and Zinc from Human Diets. Report on the Second Research Co-Ordination Meeting, IAEA (Ed), Hyderabad, India, 1992: 91-94. NAHRES-20 Vienna* 1994.
- Nadler SB, Hidalgo IV, Block T. The Tulane table of blood volume in normal men. *Surgeon* 1962; 51: 224-232.
- International Committee for Standardization in Haematology. Recommendation and requirements for haemoglobinometry in human blood. *J Clin Pathol* 1965; 18: 353.
- Fischer DS, Price DC. A simple serum iron method using the new sensitive chromogen tripiridyl-s-triazine. *Clin Chem* 1964; 10:21-30.
- Arredondo M, Pizarro F, Walter T, Hertrampf E. Determinación de ferritina por Elisa. *Rev Chil Nutr* 1992; 20:43-50.
- Dirren H, Logman HGM, Barclay DV, Freire WB. Altitude correction for hemoglobin. *Eur J Clin Nutr* 1993; 48: 625-632.
- Forthofer RN, Sul-Lee E. *Introduction to biostatistics*. New York, Academic Press, 1995; 364.
- Hurtado A, Merino C, Delgado E. Influence of anoxemia on the hemopoietic activity. *Arch Intern Med* 1945; 75:284-323.
- Vassar PS, Taylor DM. Effect of hypoxia on iron absorption in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 93: 504-506.
- Raja KB, Simpson RJ, Pippard MJ, Peters TJ. In vivo studies on relationship between intestinal iron (Fe^{3+}) absorption, hypoxia, and erythropoiesis in the mouse. *Br J Hematol* 1988; 68: 373-384.
- Mendel GA. Studies on iron absorption. I. The relationships between the rate of erythropoiesis, hypoxia and iron absorption. *Blood* 1961; 18: 727-336.
- Stokke KT, Rootwelt K, Wergeland R, Vale JR. Changes in plasma and red cell volumes during exposure to high altitude. *Scand J Clin Lab Invest (Suppl)* 1986; 184: 113-117
- Olivares M, Walter T, Osorio M, Chadud P, Schlesinger L. Anemia of a mild viral infection: the measles vaccine as a model. *Pediatrics* 1989; 84: 851-855.

Recibido: 13-05-1997

Aceptado: 22-01-1998

La dieta como determinante del desarrollo del sistema nervioso central: Rol de los ácidos grasos esenciales

Mariane Lutz

Universidad de Valparaíso, Chile

RESUMEN. El sistema nervioso central es el segundo tejido más rico en lípidos del organismo, luego del adiposo. Los fosfolípidos constituyentes de las membranas cerebrales poseen un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL) de las familias n-3 y n-6, derivados de los respectivos ácidos grasos esenciales. Las mayores concentraciones de AGPICL en tejido nervioso corresponden al ácido docosahexaenoico (22:6n-3), en membranas de materia gris de corteza cerebral y fotoreceptores de retina. La deficiencia de AGPICL n-3 en recién nacidos, especialmente de pretérmino, modifica la función nerviosa, provocando dificultades de aprendizaje y alteraciones de la función visual. El período de mayor acumulación de estos lípidos en cerebro es perinatal. Por esta razón, es importante la alimentación adecuada de la embarazada, antes y durante la gestación, y de la mujer que amamanta, que transfieren los AGPICL al feto y recién nacido, respectivamente. En niños de pretérmino, que nacen con menores reservas de AGPICL, estos tienen la calidad de condicionalmente esenciales. La formulación de las preparaciones destinadas a la alimentación de lactantes, especialmente si son prematuros, debe incluir AGPICL n-3 y n-6 en proporciones adecuadas.

Palabras clave: Lípidos, ácidos grasos, niños de pretérmino.

SUMMARY. Diet as a determinant of the central nervous system development: role of essential fatty acids. Nervous system is second to adipose tissue in containing the highest lipid concentration. Membrane phospholipids possess a high content of long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) of the n-3 and n-6 families, derived from the corresponding essential fatty acids. Docosahexaenoic acid (22:6n-3) is found in the highest concentrations in the gray matter and the photoreceptors of the retina. n-3 LCPUFA deficiency in infants, mainly if born preterm, modifies neural functions causing learning disabilities and visual function abnormalities. The adequate lipid nutrition of the mother before and during pregnancy and in breast feeding determine the lipid transfer of fatty acids to the fetus and infant, respectively. LCPUFA are conditionally essential in preterm infants, born with lower lipid depots. The formulation of infant formulas, mainly for preterm babies, should include adequate proportions of n-3 and n-6 LCPUFA.

Key words: Lipids, fatty acids, preterm infants.

INTRODUCCION

El tema de la relación dieta-desarrollo del sistema nervioso central (SNC) ha sido estudiado, con bastante interés, desde hace al menos tres décadas. Sin embargo, recién en el último decenio se está logrando describir y comprender mejor algunos de los roles específicos que desempeñan determinados lípidos, como ciertos ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), a nivel cerebral. Pese a ello, persisten muchos aspectos que han sido experimentalmente demostrados para los cuales aún no se cuenta con una explicación satisfactoria. La enorme dificultad de contar con diseños experimentales adecuados para el estudio de las funciones cerebrales, especialmente en el humano, contribuye a que muchas de las actuales interrogantes en estas materias no hayan logrado ser respondidas.

Los términos crecimiento y desarrollo, cualquiera sea el ámbito de su aplicación a nivel de tejidos y órganos, se asocian a las potencialidades genéticas, en combinación con factores ambientales. Sin ponderar la importancia de cada una de estas partes, es posible considerar a la dieta como un factor determi-

nante del desarrollo del SNC y, en consecuencia, de la calidad del producto final en formación, en este caso, el humano. Entre los constituyentes de la dieta, cobran especial relevancia los lípidos: el tejido nervioso es el segundo más rico en grasas del organismo, luego del tejido adiposo propiamente tal. Las mayores concentraciones de lípidos en SNC se encuentran en la materia gris de la corteza cerebral, en membranas sinápticas, mitocondriales y microsomales (donde los fosfolípidos corresponden al 22% del total de lípidos) y en el segmento externo de los fotoreceptores de la retina. En estas dos estructuras destaca el alto contenido de AGPI como el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3), que ocupa el 50% del total de los ácidos grasos presentes, y el ácido araquidónico (AA, 20:4n-6). El DHA se encuentra en alta concentración en el segmento externo de la célula fotoreceptora, en la cual destaca la presencia de un alto contenido de discos, estructuras muy ricas en membrana que poseen una gran velocidad de recambio (1).

Se ha señalado que la química cerebral se caracteriza por dos hechos que le son propios: a) el flujo constante de

información, de carácter iónico o eléctrico, y b) la presencia de un complejo sistema de transferencia transmembranas (2). La precisa interconexión de miles de millones de neuronas requiere de una configuración muy compleja, que permite el adecuado funcionamiento de las funciones cerebrales. A esta característica, sin duda contribuyen las propiedades físico-químicas y biológicas aportadas por los lípidos presentes en cada estructura.

Ácidos grasos esenciales

Los ácidos grasos esenciales (AGE) se asocian estrechamente a procesos vinculados al desarrollo del SNC. Con el nombre de esenciales se designa a aquellos AG que deben ser ingeridos preformados en la dieta, cuya carencia ocasiona diversos trastornos (3). Su esencialidad se origina en la incapacidad de los humanos para insertar dobles enlaces en las posiciones de los carbonos 6 y 3 a contar del grupo metilo terminal de las moléculas: los ácidos linoleico (18:2n-6) y α -linolénico (18:3n-3).

Las materias grasas alimentarias están formadas principalmente por triacilglicéridos, cuyos AG constituyentes, al ser ingeridos en la dieta, afectan en forma importante los lípidos corporales y su función. Algunos AGPI, especialmente los esenciales y sus metabolitos de cadena larga, tienen su origen en plantas, zooplancton y animales marinos. Ambos AGE son sintetizados en los vegetales, en procesos asociados a la fotosíntesis, en tanto que sólo en organismos acuáticos se forman cantidades importantes de AGPI de cadenas largas de la familia n-3, tales como EPA (eicosapentaenoico, 20:5) y DHA, lo que permite que estos ingresen preformados al organismo si la dieta es omnívora y contiene productos tales como pescados, mariscos, algas.

El metabolismo de los AGE consiste básicamente en una secuencia de reacciones de desaturación y elongación, llevada a efecto por sistemas enzimáticos microsomales. Durante años se señaló que las enzimas que insertan dobles enlaces en los AGE son, sucesivamente, las delta 6, delta 5 y delta 4 saturadas, dando origen a metabolitos como los ácidos docosapentaenoico (DPA, 22:5n-6) y DHA. En efecto, las enzimas delta 6 y delta 5 desaturasas son muy importantes en estos procesos, y se ha comprobado que la misma enzima actúa sobre ácidos grasos de distinta familia como sustrato, aunque exhibe mayor afinidad por los de la serie n-3 (4). Sin embargo, en 1992 Sprecher describió la secuencia de reacciones que da origen al DHA a partir del 18:3n-3, estableciendo que en ella no participa la delta 4 desaturasa microsomal, sino que se produce un proceso de retroconversión del ácido 24:6 al 22:6, a través de una β -oxidación peroxisomal (5) (Figura 1).

FIGURA 1
Biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga a partir de los ácidos grasos esenciales

n-6		n-3	
18:2 linoleico		18:3 α -linolénico	
↓	$\Delta 6$ desaturasa	↓	
18:3		18:4	
↓	elongasa	↓	
20:3 dihomo- γ -linolénico		20:4	
↓	$\Delta 5$ desaturasa	↓	
20:4 araquidónico		20:5 EPA	
↓	$\Delta 6$ desaturasa	↓	
22:4		22:5	
↓	elongasa	↓	
24:4		24:5	
↓	$\Delta 6$ desaturasa	↓	
24:5		24:6	
↓	β -oxidación	↓	
22:5 DPA		22:6 DHA	

A los AG se les han asignado clásicamente roles energéticos, estructurales, formando parte de fosfolípidos (FL) de membrana, y de actuar como precursores de prostanoides y derivados. Los AG insaturados de las series n-7 y n-9, junto con los AG saturados, son importantes en la función estructural que desempeñan a nivel de membranas. Los efectos fisiológicos de los AGPI se han atribuido clásicamente a su capacidad de originar metabolitos biológicamente activos a partir de los productos de 20 átomos de carbono de cada serie:

AA (20:4n-6) y EPA (20:5n-3), que originan eicosanoides como prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos, entre otros, que exhiben acciones biológicas diversas (6). Sin embargo, hoy en día se reconocen otras funciones relevantes para los AGPI, incluyendo su participación como segundos mensajeros y su capacidad de regular la expresión de diversos genes (7,8).

Cuando la dieta no aporta AGE, la célula responde aumentando la síntesis de metabolitos del ácido oleico, a través de la acción de las mismas desaturasas y elongasas que actúan sobre los AGE y, en consecuencia, aumentan los niveles de 20:3n-9. Si la dieta no aporta AGPI de una de las dos familias esenciales, se mantienen bajos los AG de la serie deficiente, con un incremento proporcional de los metabolitos de aquella que se ingiere. Lo mismo ocurre cuando la razón de AGPI de una familia es muy alta respecto a la otra: un gran consumo de n-6 reduce los metabolitos de la serie n-3, y viceversa. Por ejemplo, si son deficientes los AG de la serie n-3, aumentan los niveles de AA y DPA (9).

La deficiencia de AGE ha sido descrita en animales y humanos, especialmente aquellos sometidos a alimentación parenteral con formulaciones carentes de lípidos. El cuadro se caracteriza por alteraciones en diversos órganos, retardo del crecimiento y polidipsia, entre otros (10). Los signos son bastante evidentes en el caso de la deficiencia de AGPI n-6, pero son más sutiles en el caso de la falta de AGPI n-3. Entre estos últimos se describen la pérdida de la agudeza visual y diversos trastornos del aprendizaje (9,10), lo que ha despertado el interés por conocer el rol de estos compuestos a nivel del SNC.

Durante miles de años de historia de la humanidad, la ingestión de grasas no se modificó, y la razón n-6/n-3 era ligeramente mayor que 1. Sin embargo, en unos pocos años (algo más de un siglo), luego de la revolución industrial, con el cambio de los alimentos naturales por los refinados, sumado al empleo de técnicas culinarias más sofisticadas, se ha producido un incremento significativo de la razón n-6/n-3, junto con un gran aumento de la ingestión de grasa total (11). En forma paralela, se observa un aumento exponencial de enfermedades crónico-degenerativas, como las cardiovasculares. Las repercusiones de estos cambios de los hábitos dietarios a nivel del desarrollo del SNC están recién comenzando a ser investigados.

AGE y SNC

El crecimiento y desarrollo cerebrales siguen un patrón cronológico que obedece a un diagrama predeterminado, lo que les hace vulnerables a un stress nutricional, como el aporte inadecuado de lípidos, que puede ocasionar secuelas potencialmente irreversibles (12). Las consecuencias de la deficiencia de lípidos esenciales depende de su grado o intensidad, su duración y etapa del desarrollo en la que se produzca. En el humano, a diferencia de lo que ocurre en otras especies mamíferas, el período de mayor crecimiento cerebral es

perinatal, y abarca etapas de la gestación y los primeros años de vida. De allí la importancia de una nutrición adecuada en este período, denominado "vulnerable", que ha sido establecido entre el tercer trimestre de gestación y los 18 primeros meses de vida postnatal, el que coincide con la mayor acumulación de lípidos en cerebro (13).

AGPI en niños prematuros y de término

Durante el embarazo, la transferencia de lípidos madre-feto es muy importante. Se estima que, en promedio, se incorporan en los tejidos maternos y fetales 2,2 g de AGE diarios, con un total de 600 g (14,15). Más del 50% de la energía aportada al feto y al neonato es utilizada en el crecimiento cerebral. En el depósito de AGPI en cerebro de niños en etapas pre y postnatales son importantes ambas familias de AGE. La acumulación de AGPI de cadena larga (AA y DHA) es significativamente mayor que la de sus precursores 18:2n-6 y 18:3n-3, y se produce un gran incremento de estos lípidos durante las primeras 12 semanas de vida postnatal (16). La mayor parte del DHA se acumula en el S.N.C. entre las 26 y 40 semanas de gestación, razón por la que los niños que nacen en forma prematura, esto es, antes de las 32 semanas, se encuentran enfrentados al riesgo de no poseer depósitos adecuados de este AGPI para satisfacer sus requerimientos, además de una capacidad limitada para formarlo a partir del precursor, el ácido α -linolénico. Los niveles de estos AGPI de cadena larga (AGPICL) en el SNC de niños de pretérmino son más bajos que en los niños de término, debido a que nacen con una menor reserva, la que resulta muy difícil de compensar posteriormente. De allí el interés por establecer cuáles son las necesidades de DHA y, eventualmente, AA en prematuros y la forma más efectiva de entregarlo preformado a través de la dieta (17).

Durante el primer año de vida postnatal, se estima que el cerebro aumenta de peso en unos 750 g, en gran parte debido a la acumulación de lípidos. A ello contribuyen, en forma importante, el proceso de mielinización, asociado a depósitos de AGS y AGMI, y una gran proliferación de estructuras membranosas ricas en AGPI. La acumulación de DHA, en tanto, sigue siendo relevante al menos durante las primeras 40 semanas de vida, y se ha demostrado que en los niños alimentados artificialmente el depósito de DHA es menor que en aquellos que han sido amamantados. Las ventajas nutricionales y no nutricionales de la lactancia materna están fuera de toda duda, y una de las publicaciones que más ha llamado la atención relaciona la lactancia natural de prematuros con un mayor coeficiente intelectual de esos niños (equivalente a 8,3 puntos) alrededor de los 8 años de edad, comparados con sus pares que recibieron alimentación artificial (18). Aunque estos resultados no pudieran ser atribuidos íntegramente a los AGPICL presentes en la leche materna, cabe considerar estas observaciones, que apuntan claramente a su rol beneficioso en el desarrollo del SNC.

Un proceso importante que ocurre durante el embarazo es

el de biomagnificación o bioconcentración de AGPICL a medida que estos son transferidos de la madre al feto (19). Las concentraciones de estos AG en plasma del cordón umbilical son más altas que las que se encuentran en el plasma materno, con el fin de suplir al feto en gestación los sustratos requeridos para su desarrollo. Estudios realizados en embarazadas vegetarianas exhiben diferencias en el aporte de estos AGPI al feto en comparación con las omnívoras: en los FL del cordón de las primeras predomina el aporte de DPA, en tanto que en las omnívoras predomina el DHA (20). Cabe señalar que el desarrollo del SNC es sensible a la razón n-6/n-3 de los AGPI disponibles, por lo que esta situación puede resultar de riesgo, y sus repercusiones están siendo evaluadas.

Una pregunta que ha sido difícil de responder con certeza hasta el momento es ¿Cómo se adquieren estos AGPICL a nivel cerebral? Las posibilidades más aceptadas son: 1) la síntesis in situ a partir de los precursores dietarios, los AGE, a través de la acción de desaturasas y elongasas, 2) a esta biosíntesis se sumaría, en retina y cerebro, una gran capacidad de conservación de DHA durante la deficiencia de AGPI n-3 provenientes de la dieta, 3) la síntesis hepática de estos AGPICL a partir de los precursores y su exportación a tejidos en forma de lipoproteínas, 4) la captación directa a nivel del cerebro de AGPICL preformados, ingeridos como tales en la dieta. De todos estos mecanismos, se ha observado que el último presenta la mayor eficiencia (21,22).

DHA y función visual

El DHA constituye hasta el 60% de los lípidos presentes en el segmento externo de los fotoreceptores de la retina. Las relaciones entre 18:3n-3 y su metabolito DHA en dieta, hígado y fotoreceptor de la retina se han descrito de la siguiente forma: el ácido α -linolénico ingresa al organismo a través de la dieta y en el hígado es metabolizado a DHA, el que puede ser exportado, llegando en forma de lipoproteínas hasta el fotoreceptor, donde es incorporado en FL a través de una docosahexaenoil-CoA sintetasa, es reciclado o es liberado. Si sale del receptor, puede tomar una vía corta y volver a ingresar al mismo tejido, o bien tomar una vía larga, para llegar nuevamente hasta el hígado, desde donde es exportado para luego volver a formar parte del fotoreceptor (23).

Los eficientes mecanismos de conservación de DHA a nivel de la retina dificultan hacer evidentes los efectos derivados de su depleción. A ello se suma que, después del destete, este AGPICL es retenido en el cerebro en cantidades que prácticamente no varían hasta la edad adulta. Por ello, los estudios para evaluar los efectos de la depleción pueden requerir de 2 ó más generaciones con dieta deficiente. Pese a estas dificultades, se reconocen roles específicos para el DHA en el S.N.C. a dos niveles: 1) función visual, 2) función cerebral. Para ejercer sus efectos, el aporte in útero de DHA al gestante ocurre a través de la placenta y, luego del nacimiento, a través de la leche materna. De allí la importancia de enfatizar el consumo, especialmente en la embarazada y en la mujer que

amamanta, de alimentos aportadores de AGPICL n-3, como son los pescados, mariscos y algas.

Cuando, pese a los mecanismos de conservación, se produce una depleción en niveles de DHA de hasta un 60%, se genera pérdida de la agudeza visual, defectos de aprendizaje, alteración de la función de la rodopsina, y diversas ineficiencias de los procesos asociados a visión, como la fototransducción y el reciclaje de los discos del fotoreceptor. Esto es, una serie de alteraciones a nivel funcional, más que de tipo morfológico (24). El sistema visual permite correlacionar, en forma relativamente simple, función con estructura (en comparación con otras funciones cerebrales), de allí que sea utilizado ampliamente en este tipo de estudios.

Numerosos resultados experimentales muestran el efecto de diferentes dietas sobre la composición de FL de retina. Las dietas se diseñan de modo que difieren básicamente en su aporte en AGPI n-3 y n-6, utilizando, por ejemplo, aceites de pescado (aporta EPA, DHA), canola (aporta ácidos linoleico y α -linolénico), y/o cártamo (rico en ácido linoleico). Los animales alimentados por un tiempo con estas dietas exhiben diferencias en el contenido de DPA y DHA en FL de retina. Además, se observa una correlación entre el contenido de DHA de la retina y la razón n-6/n-3 de la dieta, asociada al aporte dietario de AGPI n-3 (24).

La función visual se puede evaluar a través de distintas metodologías, entre las cuales una de las más empleadas es la electroretinografía (ERG). En esta técnica, un mayor umbral de estimulación requerido para provocar una respuesta de los fotoreceptores indica que hay menor sensibilidad y madurez del tejido, situación que se observa en niños con deficiencia de DHA. Otra medida muy utilizada es la del ángulo mínimo de resolución (log MAR), en que mayores valores de respuesta indican que la agudeza visual es mejor y el sistema ha alcanzado mayor madurez, como se observa en los niños amamantados. También se emplean pruebas de reconocimiento visual, en las que la respuesta es mejor en niños alimentados con lactancia materna versus fórmulas artificiales (25-27).

La medición de la función visual se ha realizado en primates no humanos y en niños, y se ha observado consistentemente una correlación entre el nivel de DHA en retina y el umbral de respuesta a la luz de los bastones: se requiere menor intensidad de luz para inducir la misma respuesta cuando los niveles de DHA son más altos. La agudeza visual, medida a través de potenciales evocados (log MAR), también se correlaciona con la razón DHA/DPA en glóbulo rojo, que se emplea como marcador de los niveles de estos AGPI en retina en niños. A menores valores de log MAR, mejor es la agudeza visual, la que se correlaciona con niveles más altos de AGPI de cadena larga n-3 respecto a n-6 en FL (25).

Uauy y cols (26) han medido los niveles de DHA en glóbulo rojo y FL plasmáticos de niños de pretérmino alimentados con leche humana o fórmulas que contienen distintos

aceites, como maíz (aporta 18:2n-6), soya (aporta 18:3n-3), o suplemento de origen marino (aporta AGPICL n-3). La función visual fue evaluada como umbral en ERG y potenciales evocados a las 36 y 57 semanas de edad. Los autores observaron que, en glóbulo rojo, a las 36 semanas el nivel de DHA sólo fue más bajo en el grupo alimentado con aceite de maíz, que no aporta AGPI n-3, y que el efecto de la ingestión de leche humana no difirió del suplemento de aceite marino en glóbulo rojo ni plasma. La agudeza visual fue mayor en niños alimentados con leche humana, soya o aceite marino, y más baja en los niños que recibieron aceite de maíz. A las 57 semanas, se observó que los niveles de DHA se mantuvieron altos en los FL de los niños amamantados o alimentados con suplemento con aceite marino, y a nivel plasmático fueron mayores en este último. El ERG no mostró diferencia en la respuesta según la dieta y la respuesta a potenciales evocados fue mejor con leche materna o aceite marino. Estos resultados muestran que el aporte dietario de ácido α -linolénico no es eficiente para suplir los requerimientos de DHA del tejido nervioso en el largo plazo, y avalan que, en niños de pretérmino, los AGPICL deberían ser considerados como condicionalmente esenciales.

Diversos estudios, realizados tanto en primates no humanos como en niños, avalan que la deficiencia de DHA ocasiona respuesta alterada a la luz, desarrollo visual más lento, cambios de comportamiento asociados a trastornos de aprendizaje, menor capacidad de discriminación y otra serie de respuestas alteradas, muchas de las cuales reflejan el menor estado de maduración del sistema nervioso (10,25-28). La medición de estas funciones no es fácil de lograr, lo que se suma a que existen muchos factores intervinientes en la respuesta. No obstante, cada día queda más claro el papel que desempeñan los lípidos dietarios en la maduración nerviosa.

En consecuencia, se puede afirmar que para el recién nacido de pretérmino pueden considerarse esenciales DHA y AA. Pese al gran énfasis puesto en el rol del DHA, es importante recalcar que el AA también cumple roles de gran relevancia en el desarrollo del SNC, y su deficiencia afecta el crecimiento pre y postnatal (29). Evidencias de su esencialidad la constituyen su presencia en la leche materna, la serie de interacciones que ejercen con los AGPI n-3, y diversos roles específicos a nivel de la función nerviosa y vascular. Lo importante es mantener una razón adecuada de aporte de AGPI de cadena larga de las dos familias, la que se consigue con una dieta lo suficientemente variada.

Durante el período de lactancia, la dieta materna debe satisfacer la alta demanda de energía que representa la síntesis de leche, lo que se logra con un suplemento de 500 kcal extra diarias, que deben incluir 3 a 4 g diarios de AGE en el primer trimestre, subiendo a 5 g a medida que se agotan los depósitos de grasa (aproximadamente 4 kg, sintetizados durante el embarazo) (15). En el lactante, los lípidos cumplen funciones importantes: energéticas (cubren más del 50% de los requerimientos), palatabilidad, control de la saciedad, aporte de AGE

y AGPICL, colesterol y vitaminas liposolubles. La leche materna no es alimento ideal, pero es el mejor alimento de que dispone el recién nacido. Su composición lipídica varía con la dieta materna, sus depósitos de grasa, el tiempo de mamada (inicio, final), edad de niño, entre otros factores. Las fórmulas destinadas a la alimentación de recién nacidos intentan acercarse a la composición de la leche humana, pero es muy difícil alcanzarla. Sólo en los últimos años se ha reconocido la importancia de incorporar AGPICL en estas fórmulas. La industria debe enfrentar el desafío de elaborar el mejor alimento posible para desarrollar las potencialidades humanas. Para ello, se dispone de materias primas como las grasas lácteas, grasas parcialmente hidrogenadas (con riesgo de contener cantidades elevadas de AG trans), aceites vegetales refinados, triacilglicéridos de cadenas medianas, aceites de pescado, microalgas u otros (aportan AGPICL n-3) o grasa de huevo (lecitinas). Un aspecto clave, que aún no ha sido esclarecido, es cuál es la relación n-6/n-3 óptima en estas funciones, destinadas tanto al lactante de término como especialmente al prematuro, tema que ha acaparado la atención de los expertos en búsqueda de una pronta respuesta (15,30,31).

CONCLUSIONES

1. Los AGPICL n-6 y n-3 se acumulan en membranas celulares en el SNC, especialmente sinápticas y en fotoreceptores de retina.
2. Estos AG se requieren en etapas pre y postnatales, período de mayor vulnerabilidad del desarrollo del SNC.
3. La mejor forma de lactancia es la materna (otorgada por una madre omnívora).
4. Los prematuros requieren AGPICL preformados, para ellos tienen el carácter de condicionalmente esenciales.

REFERENCIAS

1. Bazan NG, Cordon WC & Rodríguez de Truco EB. Docosahexaenoic acid uptake and metabolism in photoreceptors: retinal conservation by an efficient retinal pigment epithelial cell-mediated recycling process. En: Neurobiology of Essential Fatty Acids, NG Bazan, ed. Plenum Press, New York, 1992; p.295-306.
2. Crawford MA. The role of dietary fatty acids in biology: their place in the evolution of the human brain. *Nutr Rev* 1992; 50:3-11.
3. Burr CO & Burr MM. A new deficiency disease produced by rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem* 1929; 82:345-367.
4. Brenner RR. Los ácidos grasos esenciales y sus funciones. *Acta Bioquím Clin Latinoamer* 1993; 27:3-38.
5. Sprecher H. Long chain fatty acid metabolism. En: Polyunsaturated fatty acids in human nutrition. U Bracco, RJ Deckelbaum (Eds.) Nestlé Nutrition Workshop Series 1992; 28:13-24.
6. Kinsella JE, Lokesh B & Stone RA. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible

- mechanisms. *Am J Clin Nutr* 1990; 52:1-28.
7. Merrill AH. Long chain fatty acids and other lipid second messengers. En: Polyunsaturated fatty acids in human nutrition. U Bracco, RJ Deckelbaum (Eds.) Nestlé Nutrition Workshop Series, 1992; 28:41-52.
 8. Clarke SD & Jump DB. Polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Lipids*, 1996; 31:S7-S11.
 9. Parlsrud JR, Pensler L & Whitten CF. Essential fatty acid deficiency in infants induce by fat-free intravenous feeding. *Am J Clin Nutr*, 1972; 25:897-904.
 10. Connor WE, Neuringer M & Reisbick S. Essential fatty acids: the importance of n-3 fatty acids in the retina and the brain. *Nutr Rev*, 1992; 50:21-29.
 11. Simopoulos AP. Omega-3 Fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr*, 1991; 438-463.
 12. Dobbing G. Vulnerable periods of brain development. En: *Lipids, malnutrition and the developing brain*. K Elliot, J Knight, eds. Associated Scientific Publishers, Amsterdam, 1972; p.9-20.
 13. Wainwright P. Do essential fatty acids play a role in brain and behavioral development? *Neurosci Biobehav Rev*, 1992; 16:193-205.
 14. Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res*, 1991; 30:39-103.
 15. World Health Organization. Fats and oils in human nutrition. Report of a joint expert consultation. *FAO Food and Nutrition Paper*, 1994; 57:49-55.
 16. Clandinin MT & Van Aerde JEE. Developmental aspects of long chain fatty acid metabolism: CNS development. En: *Polyunsaturated fatty acids in human nutrition*. U Bracco, RJ Deckelbaum (Eds). Nestlé Nutrition Workshop Series, 1992; 28:111-119.
 17. Carlson SE, Rhodes PG & Furguson MG. Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. *Am J Clin Nutr*, 1986; 44:798-804.
 18. Lucas A, Morley R, Cole TJ, Lister G & Leeson-Payne C. Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet* 1992; 399:261-264.
 19. Crawford MA, Hassam AG & Stevens PA. Essential fatty acid requirements in pregnancy and lactation with special reference to brain development. *Prog Lipid Res*, 1981; 20:31-40.
 20. Breddy S, Sanders TAB & Obeid O. The influence of maternal vegetarian diet on essential fatty acid status of the newborn. *World Rev Nutr Diet* 1994; 75:102-104.
 21. Koletzko B. Long chain polyunsaturated fatty acids in the diets of premature infants. En: *Polyunsaturated fatty acids in human nutrition*. U Bracco, RJ Deckelbaum (Eds). Nestlé Nutrition Workshop Series 1992; 28:135-146.
 22. Salem N, Wegher B, Mena P & Uauy R. Arachidonic and docosahexaenoic acids are biosynthesized from their 18-carbon precursors in human infants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93:49-54.
 23. Bazan NG. Study of n-3 polyunsaturated fatty acids and their significance in the central nervous system. En: *Nutrition and the Brain*, RJ Wurtman, JJ Wurtman, eds. Raven Press, New York, 1990; p.1-24.
 24. Weisinger HS, Vingrys AJ & Sinclair AJ. The effect of docosahexaenoic acid on the electroretinogram of the Guinea Pig. *Lipids* 1996; 31:65-170.
 25. Makrides M, Neumann MA & Gibson RA. Is dietary docosahexaenoic acid essential for term infants? *Lipids*, 1996; 31:115-119.
 26. Uauy R, Peirano P, Hoffman D, Mena P, Birch D & Birch E. Role of essential fatty acids in the function of the developing nervous system. *Lipids* 1996; 31:S167-S176.
 27. Neuringer M, Connor WE, Van Petten C & Barstad L. Dietary omega-3 fatty acid deficiency and visual loss in infant Rhesus monkeys. *J Clin Invest* 1984; 73:272-276.
 28. Carlson S & Werkmen SH. A randomized trial of visual attention of preterm infants fed docosahexaenoic acid until two months. *Lipids*, 1996; 31:85-90.
 29. Koletzko B, Decsi T & Demmelmair H. Arachidonic acid supply and metabolism in human infants born at full term. *Lipids*, 1996; 31:79-83.
 30. Salem N & Ward GR. Are w-3 fatty acids essential nutrients for mammals? *World Rev Nutr Diet*, 1993; 72:128-147.
 31. Lien EL. The ratio of linoleic acid to α -linolenic acid in infant formulas: current facts and future research directions. *World Rev Nutr Diet*, 1994; 75:92-95.

Recibido: 10-01-1997

Aceptado: 19-11-1997

Methionine supplementation of soya products: effects on nitrogen balance parameters

José Eduardo Dutra de Oliveira, Nelson de Souza, Alceu Afonso Jordão Jr., J. Sérgio Marchin

University of São Paulo, Brasil

SUMMARY. Soybean protein is one of the best quality foods available. Contribution of soy to human nutrition increases because of its overall positive nutritional profile, low cost, high protein and excellent functional properties. Addition of methionine to rat soybean diets improve biological value of soy protein. Few studies on methionine fortification of soya protein were carried in infants, but fortification of baby formulas with this amino acid is usually found. This study was carried out to demonstrate in malnourished children that the effect of methionine supplementation of soya milk and soya isolated protein, as well as to compare with their results to cows' milk. A total of 30 malnourished children, 1 to 3 years old, admitted to our metabolic unit and distributed in groups of 6 children were studied. They were fed experimental formulas with cows' milk, soya milk, soya milk plus methionine, soya isolated and soya isolated plus methionine. Nutrient compositions of formulas were calculated to be similar to mothers' milk. DL-methionine, 1.5 g per 100 g protein content was added to soya milk and soya isolated formulas. Two nitrogen balances, 3 days each, were carried out. Fecal and urinary nitrogen, serum proteins, creatinine and urea in serum and urine were followed during the study. Results showed differences of intake and retention of nitrogen between some of the groups, but there were no statistically significant differences on protein absorption in the groups. No differences were demonstrated in serum proteins, total nitrogen and other serum and urine parameters analyzed. Cows' milk fed children presented the highest nitrogen retention in both balance studies. The addition of methionine to the soya milk formula increased the nitrogen retention, not reaching the cows' milk levels and did not have the same effect when added to the isolate soy protein.

Key words: Soybean protein, fortification, methionine, soya milk formula

SUMÁRIO. Suplementação de produtos de soja com metionina: Efeito sobre os parâmetros do balanço nitrogenado. A soja é considerada um dos melhores alimentos disponíveis. A contribuição da soja na nutrição humana aumenta devido as suas várias propriedades nutricionais, como seu alto teor protéico, aliado ao baixo custo. A adição de metionina aumenta, em ratos, o valor biológico da proteína de soja, entretanto, poucos estudos sobre a fortificação de metionina tem sido realizados em humanos. Este estudo buscou demonstrar em crianças desnutridas o efeito da suplementação de metionina em formulados de soja, comparando-os com o leite de vaca. Um total de 30 crianças desnutridas, entre 1 e 3 anos de idade, foram admitidas na unidade metabólica, sendo distribuídas em cinco grupos de seis crianças. Elas receberam formulas contendo leite de vaca, leite de soja, leite de soja mais metionina, isolado protéico de soja e isolado protéico de soja mais metionina. A composição nutricional das formulas foram calculadas para serem similares ao leite materno, tendo 1.5% de proteína, 3.5% de gordura e 7.5% de carboidratos, a DL-metionina foi adicionada em 1,5 grama por 100 gm de proteína nas formulas do leite de soja e do isolado protéico de soja. Dois balanços nitrogenados de 3 dias cada, foram realizados, sendo que o primeiro balanço iniciou no décimo dia e o segundo balanço iniciou no vigésimo dia depois da admissão das crianças. Os parâmetros determinados foram o nitrogênio total nas fezes e urina, proteína total sérica, albumina e globulina séricas e a creatinina e uréia no soro e na urina. A ingestão, absorção e retenção de nitrogênio foram determinadas nos dois períodos de balanço. A absorção protéica foi similar em todos os grupos mas a retenção aumentou no grupo que recebeu o leite de soja mais metionina no primeiro balanço, no segundo balanço a ingestão foi diferente nos grupos que receberam leite de vaca e no grupo do leite de soja mais metionina. As crianças que receberam leite de vaca apresentaram a maior retenção nos dois períodos. Nenhuma diferença estatística foi demonstrada nas proteínas séricas. Os dados urinários mostraram uma grande variação quanto ao nitrogênio total, creatinina e uréia, entretanto não houve diferença estatística entre os grupos. O balanço nitrogenado mostrou variação quanto a ingestão protéica, mas a absorção de nitrogênio foi similar para todos os grupos. A retenção nitrogenada foi maior no grupo que recebeu leite de vaca do que naqueles que receberam leite de soja. A adição de metionina nas formulas de soja aumentaram a retenção protéica, entretanto o efeito da suplementação não ficou muito claro nestas crianças. A suplementação da soja com metionina não foi capaz de levar os níveis da retenção nitrogenada aos mesmos níveis achados para o leite de soja.

Palavras chave: Soja, suplementação, metionina, leite de soja.

INTRODUCTION

Soya beans and soy products are widely utilized as human foods. It is shown in animals, mainly in rats, the nutritive value of soya bean protein to be lower than cow's milk protein, ranging 65 to 85% of casein (1,2). Addition of methionine improves the biological value of soy protein. Soy proteins are known to be sulfur aminoacid deficient (2). Our experience with soya milk, produced and industrialized in Brazil, is similar to other workers. Addition of 0.15 or 0.30% of DL Methionine to a rat soya milk diet containing 10% protein will raise the protein efficiency (PER) to that of cows' milk (3).

Normal infants, children and adults are able to utilize the protein and other nutrients present in soya, when fed products in amounts sufficient to cover their needs. Milk or lactose intolerance children and adults could benefit from the high nutritive value and low cost of cow milk (4-6).

Soybean protein has also hypocholesterolemic effects and improves human diabetes control (7,8). A long term metabolic study (11 wks) to assess nutritional value and immunological tolerance of 2 soy protein concentrates in adults, revealed good nutritive results and absence of allergic reactions (9).

Need of methionine supplementation of soya protein formulas when fed to infants and children has been questioned. Few studies on the nutritional effects of methionine fortification of soy proteins have been carried out on human infants (10,11). The question relates to the fact that methionine requirements of rats are different from those of humans. Experimental rat data seems to be the main support for the addition of methionine to soya infant foods available on the market of developed countries.

Dutra-de-Oliveira and co-workers did not show differences on nitrogen retention, serum albumin level values and clinical recovery in 1-3 years old malnourished children fed soya milk, without methionine, as compared with cows' milk (4,5). Casein and soya bean protein have different, but acceptable effects on whole body protein turnover (12).

The present study was carried out to demonstrate, in malnourished children and through different parameters, the effect of methionine supplementation of soya milk and soy isolated protein formulas, compared with cows' milk.

EXPERIMENTAL

Malnourished children, 1 to 3 years of age, in the acute phase of malnutrition were admitted to our metabolic unit for these studies. The experiment was statistically planned to include a total of 30 pre-diagnosed malnourished children, distributed in five groups of 6 children each. They received experimental formulas of cows' milk, soya milk, soya milk plus methionine, soya isolate and soya isolate plus methionine.

Formulas were calculated to have the protein, fat and calorie values of mothers' milk. Soy milk was a water extraction product from whole soybeans and soy isolated processed in

Brazil. Both products were thoroughly tested in rat assays and their PER values improved significantly by the addition of 1.5g of DL-methionine per 100g of protein (6).

The nutrient composition of all experimental formulas had 1.5% protein, 3.5%/fat and 7.5% carbohydrate. Soya oil and sucrose were used to match the necessary nutrient composition. No mineral or vitamin supplements were added. DL-methionine 1.5g/100g protein was added to the formulas containing soya milk and soya isolate. Soya milk was flavored with vanilla and soy isolate with vanilla, strawberry and coconut. All children were kept on the same feeding regime during 25 days.

The amount of feeding was calculated to supply 2.0g protein and 90 calories per kg of body weight. No other foods were given to the children during the experimental period.

Two nitrogen balances, 3 days each, were carried out in the children. The first balance started on the 19th day and the second on the 20th day after admission of the child to the metabolic unit. During the 24h after admission and during the balance studies children were kept in metabolic beds.

During the first day after admission a hydroelectrolyte solution was offered to all children. Blood samples and 24-hours urine collection were obtained during the first day. Carmine and charcoal were used as stool markers. Blood samples were obtained by venipuncture during the balances. Nitrogen content in formulas, stools and urine was determined by a semimicro Kjeldahl method (13). Total serum protein, albumin and globulin were estimated by biuret reaction (14). Creatinine in serum and urine by Jaffé reaction (15). Serum and urine urea by diacetyl monoxine reaction (16). Results of the 5 groups were statistically compared by variance analysis (17).

RESULTS

Age and weight of children are shown in Table 1. There were no acceptance problems with soya milk (with and without methionine). The soya isolate formulas were not so well accepted, in spite of different flavors, and some children did not consume the total amount offered.

TABLE 1
Age and weight of the children

Formula	n	Age (Months)	Weight (kg)
Cow's Milk	6	22.2±5.9 ^a	7.8±0.86 ^a
Soya Milk	6	21.3±5.8 ^a	7.0±1.00 ^a
Soya Milk + Meth	6	16.0±2.4 ^a	6.9±1.10 ^a
Soya Isolate	6	22.5±7.4 ^a	8.2±1.70 ^a
Soya Isolate + Meth	6	20.2±6.0 ^a	7.9±1.20 ^a

Means ± SD of six children. Means in the same column with different scripts differ significantly (p<0.05)

Results of 3-days nitrogen balance trials in malnourished

children are presented (Table 2). The protein intake varied a little in the balances, soya milk and soya milk plus methionine group had higher mean nitrogen intake/kg/body weight. Percent absorption was similar in all groups. Highest retention was found with cows' milk formula. Retention of nitrogen increases in the first and second balance when methionine was added to soya milk. The same effect was not found with soy isolate, there was even a decreased retention when methionine was added.

TABLE 2
Three-day metabolic nitrogen balance studies with malnourished children fed different formulas

Formula	Intake (mg/kg/d)	1st Nitrogen balance	
		Absorption %	Retention %
Cow's Milk	322.3±18.0 ^a	80.3±8.30 ^a	34.7±12.4 ^b
Soya Milk	362.3±14.0 ^b	71.8±9.80 ^a	15.3±6.55 ^a
Soya Milk +M	353.3±22.7 ^{ab}	69.0±6.00 ^a	24.8±9.63 ^{ab}
Soy Isolate	324.2±27.2 ^a	76.3±7.10 ^a	14.7±10.7 ^a
Soy Isolate +M	325.5±19.1 ^a	68.3±11.4 ^a	9.7±5.04 ^a

Formula	Intake (mg/kg/d)	2nd Nitrogen balance	
		Absorption %	Retention %
Cow's Milk	320.3±13.8 ^{ab}	77.8±5.40 ^a	31.8±12.0 ^b
Soya Milk	359.5±26.7 ^b	73.0±12.3 ^a	10.5±8.25 ^a
Soya Milk +M	349.5±34.5 ^{ab}	70.0±10.1 ^a	17.2±4.63 ^{ab}
Soy Isolate	315.5±20.6 ^a	75.3±13.7 ^a	16.5±10.9 ^{ab}
Soy Isolate +M	309.2±20.4 ^a	72.8±11.7 ^a	11.0±3.70 ^a

Means ± SD of six children. Means in the same column with different scripts differ significantly (p<0.05)

Values of total protein, albumin and globulin are shown in Table 3. No differences were demonstrated in protein among all groups, although the group of cows' milk started the experiment with the lowest level.

Concentration of creatinine and urea in serum and nitrogen, creatinine and urea nitrogen in urine are presented in Table 4 and 5. Values of creatinine in serum showed larger variations within the soya groups, with higher values compared with the group receiving cows' milk. Serum urea did not demonstrated variation in the 10th day but in the 20th day urea values were higher in a soya isolate group. Cows' milk had the lowest mean values. Values of total nitrogen, creatinine and urea nitrogen in urine showed variations but did not demonstrated well-defined differences in the study. Mean values of cows' milk and soya milk plus methionine groups were among the lowest.

TABLE 3
Total protein, albumin and globulin levels in serum of malnourished children fed cow's milk and soya products

Formula	0 day	Total protein (g/100 ml)	
		10 day	20 day
Cow's Milk	5.72±1.7 ^a	6.34±1.1 ^a	6.85±0.50 ^a
Soya Milk	6.78±0.7 ^a	7.25±0.7 ^a	7.10±0.66 ^a
Soya Milk +M	6.38±1.4 ^a	6.59±0.8 ^a	7.18±0.72 ^a
Soy Isolate	6.61±0.8 ^a	6.39±0.8 ^a	6.15±13.0 ^a
Soy Isolate +M	6.37±2.0 ^a	6.25±2.1 ^a	6.21±15.1 ^a

Formula	0 day	Albumin (g/100 ml)	
		10 day	20 day
Cow's Milk	2.40±1.0 ^a	2.87±0.6 ^a	3.26±0.4 ^a
Soya Milk	3.50±0.6 ^a	3.38±0.6 ^a	3.71±0.8 ^a
Soya Milk +M	3.23±0.7 ^a	3.40±0.3 ^a	3.82±0.4 ^a
Soy Isolate	3.26±0.3 ^a	3.32±0.7 ^a	3.16±0.7 ^a
Soy Isolate +M	3.20±1.3 ^a	3.12±1.5 ^a	3.21±1.2 ^a

Formula	0 day	Globulin (g/100 ml)	
		10 day	20 day
Cow's Milk	3.32±0.8 ^a	3.47±0.5 ^a	3.69±0.5 ^a
Soya Milk	3.27±0.7 ^a	3.87±0.4 ^a	3.39±0.7 ^a
Soya Milk +M	3.15±0.9 ^a	3.19±0.6 ^a	3.36±0.5 ^a
Soy Isolate	3.35±0.6 ^a	3.07±0.4 ^a	2.99±0.6 ^a
Soy Isolate +M	3.17±0.8 ^a	3.13±0.7 ^a	3.00±0.8 ^a

Means ± SD of six children. Means in the same column with different scripts differ significantly (p<0.05)

TABLE 4
Creatinine and urea concentration in serum of malnourished children

Formula	Creatinine (mg/100 ml)	
	10 day	20 day
Cow's Milk	0.25±0.05 ^a	0.22±0.04 ^a
Soya Milk	0.31±0.12 ^{ab}	0.32±0.14 ^{ab}
Soya Milk +M	0.25±0.04 ^a	0.24±0.03 ^a
Soy Isolate	0.44±0.14 ^b	0.47±0.21 ^{ab}
Soy Isolate +M	0.37±0.10 ^{ab}	0.53±0.24 ^b

Formula	Urea (mg/100 ml)	
	10 day	20 day
Cow's Milk	13.7±0.3 ^a	14.6±0.3 ^a
Soya Milk	19.4±0.3 ^a	20.9±0.2 ^{ab}
Soya Milk +M	14.7±0.3 ^a	16.9±0.4 ^{ab}
Soy Isolate	17.9±0.4 ^a	21.5±0.5 ^b
Soy Isolate +M	18.2±0.7 ^a	16.5±0.3 ^{ab}

Means ± SD of six children. Means in the same column with different scripts differ significantly (p<0.05)

TABLE 5
Total nitrogen, creatinine nitrogen and urea nitrogen excretion in urine of malnourished children

Formula	Total nitrogen (mg/day)	
	10 day	20 day
Cow's Milk	1155.0±326.5 ^a	1285.2±442.8 ^a
Soya Milk	1465.5±310.5 ^a	1573.5±397.8 ^a
Soya Milk +M	1098.5±389.1 ^a	1286.8±315.5 ^a
Soy Isolate	1767.3±798.6 ^a	1618.3±398.4 ^a
Soy Isolate +M	1509.8±320.1 ^a	1552.0±265.4 ^a

Formula	Creatinine (mg/day)	
	10 day	20 day
Cow's Milk	28.8±6.25 ^a	26.7±7.20 ^a
Soya Milk	25.3±7.64 ^a	27.2±7.52 ^a
Soya Milk +M	21.5±8.33 ^a	24.2±7.13 ^a
Soy Isolate	24.5±10.1 ^a	22.5±10.2 ^a
Soy Isolate +M	26.2±2.90 ^a	25.2±4.66 ^a

Formula	Urea (mg/day)	
	10 day	20 day
Cow's Milk	868.0±317.7 ^a	872.5±263.3 ^a
Soya Milk	163.0±319.3 ^a	1052.2±433.8 ^a
Soya Milk +M	787.7±379.6 ^a	991.0±213.1 ^a
Soy Isolate	1127.8±494.5 ^a	1189.8±393.0 ^a
Soy Isolate +M	1097.5±339.7 ^a	1158.3±214.0 ^a

Means ± SD of six children. Means in the same column with different scripts differ significantly ($p < 0.05$)

DISCUSSION

There is no doubt that soybean products should be and will be more used as food for humans in many forms. Hydrolysate of isolated soy protein is a well balance source of amino acid used in human enteral nutrition (18). Rat bioassays, such as the protein efficiency ratio (PER), generally underestimates the protein quality of soy protein for humans because the rat have a higher relative amino acid requirements for sulfur amino acids, methionine and cystine, limiting amino acids of soy proteins. Soya formulated products are already used in several countries and their nutritive values compare well with those of more conventional foods. Soy foods should be considered not only good sources of protein, but also energy, some vitamins and minerals. Parameters used in our soya experiments are clinical findings, nitrogen balance trials and data on nitrogen metabolites in blood and urine (19).

The appropriateness of soy protein for children and infants was also evaluated by Torun (20,21), who conclude that well processed soya products have comparable protein quality to milk, for preschool children and adolescents. For full term infants it is generally accepted that soy protein formulas

promote growth to the same extent as do cows' milk formulas (20,21).

Nitrogen balances have been employed in most of these metabolic studies following standard techniques (19). However there has been some question regarding the validity of a 3-day balance period as against a 5 to 7 or more days trial. This reasoning, although logical, seems not practical. To keep a malnourished child in a metabolic bed for a period longer than 3 to 4 days seems unreasonable both from experimental and human point of view. On the other hand it seems of importance in nitrogen balance studies to carry along with any study of food protein value, a control group receiving a well know protein source, as it is cow's milk in the same experimental conditions. The level of protein in the diet given to the children seems to be another point of concern. Lower levels seem to be more sensitive than higher in bioassays for protein quality. In the present study we used a formula having a protein composition similar to mother's milk, because previous experience with soya milk containing 3.5% of protein did not show differences to cow's milk on the same protein level.

The importance and usefulness of different parameters in metabolic balance studies have been discussed and questioned. It has been accepted that changes in different nitrogen and protein values should bring better results. Urea nitrogen in serum of normal infants receiving adequate calories intake reflects recent intakes of dietary nitrogen and protein quality. Creatinine reflects muscle metabolism. Relationship among different nitrogen compounds have been used as indicators of protein nutriture.

Results obtained in the present study with malnourished children fed soya milk and soy isolate formulas having a composition similar to that of mother's milk showed that the acceptability of soya milk is independent of the addition of methionine. The soy isolate formula is not so well accepted, but the addition of different flavors increases its acceptability.

Analyzing the data of nitrogen balance shows variation of nitrogen intake in all groups of children, but nitrogen absorption were similar and the nitrogen retention of the children fed cow's milk formula was greater than that of the soya groups. The addition of methionine in the soya milk formula increased the protein retention. The soy isolate formula showed higher nitrogen retention, compared to soy isolate plus methionine. Feeding of soya milk formula to these malnourished children showed a lower nitrogen retention than cow's milk group. The effect of soya methionine supplementation is not clear. Methionine fortication of soya was not sufficient to bring the nitrogen retention to the same level as that of the cow's milk formula group.

Analyses of total protein, albumin and globulin values in serum did not change drastically during the study. However, in one of these children the albumin value increased three times during the period of cow's milk feeding. On the other hand, in a child receiving the soy isolate formula plus methionine the albumin value decreased. Concentrations of

urea and creatinine in serum were lower in the groups which received cow's milk and soya milk plus methionine formulas. Average urinary excretion of nitrogen and urea nitrogen were also lower in the same two groups. These were also the groups with better nitrogen balances. It is possible these results bear relationship to protein utilization. Higher values in urinary urea and creatinine were found in groups receiving soy isolate formula, with no relation to methionine supplementation. Serum concentrations of urea nitrogen are less when proteins of higher quality are fed than when equal intakes of nitrogen are provided from proteins of poor quality (1).

Larger variation in nitrogen retention was not reflected in excretion of nitrogen products in urine, probably because of the short study period.

Fomon and coworkers (10,22) studied in infants the effect of supplementing soybean formulas with 5 mg of L-methionine per gram of protein. Intakes were of the order of 2.4 g protein/kg/day. Methionine supplementation did not influence retention of nitrogen, growth rate or serum concentration of albumin. However, serum concentration of urea nitrogen was also lower, which may suggest an improvement in protein quality through supplementation, although it is difficult to judge the health significance of that finding (10,22).

Overall consideration of our children study showed a clear difference between the cow's milk formula as compared to the four soya formulas. A few points could be further discussed, such as the amount of methionine added, the period of the study and the biochemical parameters used. They could influence the results. Another aspect would be the level of protein in our formula. In our earlier studies, soya milk was formulated with a protein level similar to that of cow's milk (4). Lower level of protein as found in mother's milk could be more sensitive to demonstrate the nutritive value of food proteins. At the present lower level of intake the cow's milk protein showed higher nutritive value than our tested soya products, with or without added methionine. Addition of methionine to the soya milk formula tested increased its protein value. This was not found with the isolated soy protein.

In a recent review Young (11,23) conclude that well-processed soy protein products, such as isolated soy proteins have high nutritional value. Soy flour and soy isolates when they are the sole or major source of protein in diet containing adequate energy and others essential nutrients are fully capable of promoting adequate growth in young infants. He also concludes that methionine supplementation of soy protein is clearly unnecessary to adults. Soy proteins consumed as isolates or concentrates are excellent sources for meeting nitrogen and amino acid needs when consumed at physiologically intakes of total protein. Methionine supplementation of soy-based infants formulas may, however, be desirable, considering the small amount of methionine required to achieve higher utilization of soy protein (11,23).

This benefits of methionine supplementation could not always be true. This is not shown in our findings, considering

different soya products and several parameters. The use of two soy proteins, as the only source of protein at low level of intake to malnourished children, showed different results. Cow's milk protein produced better nitrogen utilization than the soya products. Methionine supplementation seems to improve the nutritive value of soya milk protein but not of soya isolated protein.

REFERENCES

1. Erdman JW & Fordyce EJ. Soy products and the human diet. *Am J Clin Nutr*, 1989; 49:725-737.
2. Hulse WE. Present and potential uses of soybean flour, grits and protein concentrates in foods. *proc Conf Soybean Products for Protein in Human Foods*. Peoria III USDA, 1961.
3. Dutra-de-Oliveira JE & Scatena L. Nutritional value of proteins from a soybean milk powder. *J Food Sci*, 1967; 32:592-7.
4. Dutra-de-Oliveira JE & Santos JE dos. Soybean products for feeding infants, children and adults under nutritional stress. *J Am Oil Chem Soc*, 1981; 58:366-370.
5. Dutra-de-Oliveira JE, Scatena L, Oliveira-Neto N & Duarte J. The nutritional value of soy milk and cow's milk in malnourished children: a comparative study. *J Ped*, 1966; 69:690-5.
6. Ronayne de Ferrer PA. Pasado y presente en el diseño de fórmulas infantiles. *Arch Latinoamer Nutr*, 1995; 45(4):265-273.
7. Olgún MC, Calderari SA, Posadas MD, Revelant GC, Gayol MC, Zingale MI, Vignale ME, Labourdette VB, Balseiro M, Torriggino AA. Evaluación química y nutricional de un alimento para adultos a base de soya y cereales. *Arch Latinoamer Nutr*, 1995; 45(3):187-192.
8. Osada K, Kodama T, Minehira K, Yamada K, Sugano M. Dietary protein modifies oxidized cholesterol-induced alterations of linoleic acid and cholesterol metabolism in rats. *J Nutr*, 1996; 1635-1643.
9. Beer WH, Murray E, Oh S-H, Pedersen HE, Wolfe RR, Young VR. A long-term metabolic study to assess the nutritional value of and immunological tolerance to two soy-protein concentrates in adults humans. *Am J Clin Nutr*, 1989; 50:997-1007.
10. Fomon SJ, Ziegler EE, Lloyd JF, Nelson SE & Edwards BB. Methionine fortification of a soy protein formula fed to infants. *Am J Clin Nutr*, 1979; 32:2460-2471.
11. Young VR. Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *J Am Diet Assoc*, 1991; 91:828-835.
12. Nielsen K, Kondrup J, Elsner P, Juul A, Jensen ES. Casein and soya-bean protein have different effects on whole body protein turnover at the same nitrogen balance. *Br J Nutr*, 1994; 72:69-81.
13. Munro HN, Fleck A. Analysis of tissue and body fluids for nitrogenous constituents. In Munro HN. *Mammalian protein metabolism*. New York, Academic Press 3a ed cap. 30, 1969.
14. Kingsley GR. The determination of serum total proteins, albumin and globulin by the biuret reaction. *J Biol Chem*, 1939; 131:131.
15. Clark LC, Thompson HL. Determination of creatine and creatinine in urine. *An Chem*, 1949; 21:1218-21.
16. Lima DA, Soares JB, Greco JB, Galizzi J & Cançado FJ. Método de Crocker modificado para dosagem de uréia. In: *Métodos de laboratório aplicados a clínica*. Ed. Guanabara Koogan. 1977.

17. Bradford Hill A. Principles of medical statistics, 8 th Edition. Oxford University Press. New York. 1966.
18. Marchini JS, Freitas O, Dutra de Oliveira JE. Avaliação bioquímica e nutricional de dois hidrolisados enzimáticos de proteína de soja. Ciên Tecnol Aliment 1985; 5(1):12-21.
19. Bodwell CE & Marable NL. Effectiveness of methods for evaluating the nutritional quality of soybean protein. J Am Oil Chem Soc, 1981; 58:475-483.
20. Torun B. Soybeans and soy products in the feeding of children. J Am Oil Chem Soc, 1981; 58:460-464.
21. Torun B, Viteri FE & Young VR. Nutritional role of soya protein for humans. J Am Oil Chem Soc, 1981; 58:400-406.
22. Fomon SJ & Ziegler EE. In: "Soy protein and human nutrition". Edited by HL Wilcke, DT Hopkins and DH Waggle, Academic Press, NY, 1979; pp. 79-99.
23. Young VR, Pellet PL. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. Am J Clin Nutr, 1994; 59 (suppl): 1203S-1212S.

Recibido: 27-01-1997

Aceptado:16-02-1998

Comparative study of beans from vine and bush type of vegetative growth. Effect of storage on cell wall components as factors in increasing cooking time

Ricardo Bressani, Eduardo Calderon, Carlos Chon

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)

SUMMARY. Four samples each of black beans representing two types of vegetative growth were collected from farmers' fields in four locations in Guatemala. Soon after collection, samples were stored at 4° and 38°C at ambient relative humidity and subsamples were withdrawn at 0, 45, 90 and 135 days of storage for determination of water absorption, cooking time and analysis of neutral- and acid detergent fiber, cellulose, hemicellulose and lignin. The fiber fraction analysis were done on samples of 0,45 and 90 days of storage. Water absorption for all 4 samples of the bush type was similar at both storage T, however the samples stored at 38°C and at 135 days absorbed more water than when stored at 4°C. The 4 vine types of beans showed different water absorption rates, with two showing patterns similar to those beans of the bush type and two which did absorbed water at a very slow rate. For both types of beans stored at 4°C, cooking time decreased from 0 to 135 days of storage. On the other hand for all bean samples of the two types cooking time increased when stored at 38°C. Analysis of variance showed highly significant effects due to plant type, days of storage, temperature and locality, and for some interactions. Analysis of variance of the fiber fractions showed high significant differences for days of storage for NDF, ADF, cellulose, hemicellulose, and lignin. Plant type gave significant differences for cellulose and hemicellulose. Highly significant differences for hemicellulose were found for the interactions of type x days, type x temperature, locality x type, and type x days x temperature. The rate of synthesis of the 5 fractions were calculated by simple regression analysis. For the bush type of beans some synthesis occurred at 4°C, but it was enhanced when stored at 38°C. For vine type of beans at 4°C relative high rates of synthesis were observed, which were higher at 38°C for NDF, hemicellulose and lignin. Cooking time and fiber fraction contents were subjected to regression analysis. The correlations at 38°C were higher than at 4°C for all fractions for both types of beans, but statistical significance was obtained only for NDF, ADF and cellulose for vine type of beans. These data show therefore that synthesis of cell wall structure fractions, and not only lignin formation, are responsible for the increase in cooking time observed upon storage at high temperature.

Key words: Beans, bush and vine type, storage, cell wall components, harvesting, cooking time.

RESUMEN. Estudio comparativo entre el frijol de crecimiento vegetativo de suelo y de enredo. Efecto de almacenamiento sobre el contenido de los componentes de la pared celular como factor en aumentar el tiempo de cocción. Cuatro muestras de frijol negro de cada uno de dos tipos de frijol de diferente crecimiento vegetativo fueron recolectados de los campos de agricultores en cuatro localidades en Guatemala. Inmediatamente después de la recolección, las muestras fueron almacenadas a 4°C y a 38°C a la humedad relativa ambiental y submuestras fueron tomadas a los 0, 45, 90 y 135 días de almacenamiento para determinaciones de absorción de agua, tiempo de cocción y los análisis de fibra neutro- y ácido detergente, celulosa, hemicelulosa y lignina. El análisis de las fracciones de la fibra se hicieron en las muestras de 0, 45 y 90 días. La absorción de agua de las 4 muestras de frijol arbustivo fue similar para las dos temperaturas de almacenamiento. Sin embargo las muestras almacenadas a 38°C y a los 135 días absorbieron más agua que las muestras almacenadas a 4°C. Las cuatro muestras de frijol de enredo mostraron diferentes tasas de absorción de agua, con dos de ellas mostrando un patrón similar a las muestras de frijol arbustivo y dos que absorbieron el agua lentamente. Para las muestras de los dos tipos de frijol almacenadas a 4°C, el tiempo de cocción disminuyó de 0 a 135 días de almacenamiento. Por el contrario todas las muestras de los dos tipos de frijol almacenadas a 38°C aumentaron en tiempo de cocción de 0 a 135 días. Análisis de varianza mostró efectos altamente significativos debido a tipo de planta, en almacenamiento, temperatura y localidad, y en algunos, interacciones. El análisis de varianza de las fracciones de la fibra mostraron diferencias altamente significativas para días de almacenamiento por NDF, ADF, celulosa, hemicelulosa y lignina. El tipo de planta mostró diferencias significativas para celulosa y hemicelulosa. Diferencias altamente significativas para hemicelulosa fueron encontradas para las interacciones de tipo planta x días, tipo de planta x temperatura, localidad x tipo de planta y tipo de planta x días x temperatura. La tasa de síntesis de las 5 fracciones de la fibra fueron calculadas por medio de regresión lineal. Una tasa baja de síntesis de las fracciones ocurrió a 4°C, que aumentó significativamente a 38°C para el frijol arbustivo. Para el frijol de enredo la síntesis a 4°C fue mayor que para el frijol arbustivo a una misma temperatura y aumentó en los frijoles de enredo almacenados a 38°C en particular para NDF, hemicelulosa y lignina. Asimismo, las fracciones de fibra y el tiempo de cocción fueron analizados por regresión lineal. Las correlaciones a 38°C fueron mayores que a 4°C de almacenamiento para todas las fracciones, pero significancia estadística sólo fue evidente para NDF, ADF y celulosa para el frijol de enredo. Los datos sugieren por consiguiente, que la síntesis de componentes de la estructura de la pared celular son responsables por el aumento en el tiempo de cocción que se observa durante el almacenamiento del frijol a la alta temperatura y no sólo lignina.

Palabras clave: Frijol, de suelo y de enredo, almacenamiento, componente de la pared celular, cosecha, tiempo de cocción.

As indicated in a previous paper, in certain areas of Latin America, farmers produce type IV bean (Vine type) as well as types II and III (bush type). Except for some differences in physical characteristics, such as 100 kernel weight, bean size distribution, seed coat percentage all higher in vine and, solids in cooking broth higher in bush type of beans, no other important differences in chemical composition and nutritive value were found (1). Farmers which produce the vine type claim that this type of bean does not become as hard upon storage as beans from the bush type. Seed hardening is an important post-harvest technology problem with grain legumes, particularly with *Phaseolus vulgaris* (2,3), which increases cooking time and consequently cost of preparation, and which may result in losses in nutritive value (4,5). The hard-to-cook problem has been studied extensively and various mechanisms have been proposed (2,3). Some researchers have attributed the defect to an increase in the adhesive proportions of components in the middle lamella (3). Several studies have suggested a possible role of lignin (6,18,19). However, Roso et al. (21) reported that acid detergent fibers, lignin and cellulose contents of bean cotyledons did not change when subjected to storage at 34°C and 80% RH or 40°C and 80% RH. Similar data was presented by Srisumo et al, 1989 (22). The chemical compounds studied are components of the cell wall which may not be static during bean storage.

In the present study, the claim by farmers that vine type of beans do not harden as fast as bush type was studied by measuring water absorption, cooking time and cell wall components of the two types of beans, when stored under different conditions.

MATERIALS AND METHODS

The bean samples used for the present study were those used previously (1). They represented 4 bean cultivars of type IV (vine type) collected in the following production areas in Guatemala. Chuarrancho, Pachalí, Parramos and Santiago Sacatepéquez. The other 4 bean cultivars representing types II and III (bush type) were collected from farmers in the same localities in the same growing season and year. All were *Phaseolus vulgaris* black seeded. A total of 15 kg of each sample were purchased in the field and placed at 4°C upon arrival to the laboratory.

Sub-samples weighing 200 g were taken for storage studies. A set of samples from each cultivar were stored at 4°C and analyzed at 0, 45, 90 and 130 days for water absorption, cooking time and fiber fractionation. Another set of samples from each cultivar were stored at 30°C with a relative humidity which varied between 55-60%. These were also analyzed as indicated above at 0, 45, 90 and 135 days of storage. Fiber fractionation was not conducted on 135 day stored samples.

For water absorption two groups of 25 seeds each from each samples were weighed and placed into a beaker with 75 ml of water at room temperature. The beans were weighed

again at the end of four hours after drying external water.

Cooking time was carried out using two groups of 100 seeds from each bean sample and placed in 400 ml of water. A total of 10 seeds were withdrawn every 20 minutes and each was pressed between the fingers. Cooking time was taken when 80% of the beans were easily pressed, gave a pasty consistency, and had no granules.

Fiber fractionation. All samples were finely ground. They were analyzed for their moisture content in a vacuum oven. For fiber fractionation a 0.60 g sample was first treated with Thermamyl in a Na phosphate buffer at pH 6.0 (7). After hydrolysis the pH was taken to 7.0 with 1N NaOH and fiber fractionation was conducted by the methodology of Goering and Van Soest (8).

RESULTS AND DISCUSSION

Data on water absorption of the two types of bean samples at 0° and 38°C are shown in Table 1. The behavior for all four bean samples of the bush type was similar at both storage temperatures, however, at 135 days of storage at 38°C the samples absorbed more water than at 4°C. For vine type beans, two samples showed high water absorption at both temperature of storage, while 2 samples gave very low water absorption, which improved to some extent when the samples were stored at 38°C at 90 and 135 days of storage. The water impermeability has been described before and it has been attributed to seed structure cuticularized layer, the hilum and the micropyle (9-12). The hard shell condition has been indicated to be reversible with storage time, which is what can be observed when two samples were stored at 38°C for 90 and 135 days (13). Statistical analysis of the data showed significant effect (F01) for bean type, days of storage and for the interactions of bean type x temperature, days of storage x temperature, locality and type x locality (Table 2).

The effect of storage on cooking time up to 135 days, at 4.0° and 38°C are shown in Table 3. The dry matter content of all samples varied from 86.7 to 90%. It is of interest to point out the decrease in cooking time when beans of all types were stored at 4°C up to 135 days. This observation confirms the findings of Hentges et al. (13) recently published. On the other hand, all bean samples, whether of the bush or vine type showed an increase in cooking time, which was more evident at 135 days of storage at a T of 38°C with a relative humidity of 55-60%. At this time of storage, the vine type of beans were hard-to-cook than the bush type, however, it is not of importance since cooking times for both was quite high. The data was subjected to analysis of variance and the results are summarized in Table 2. Cooking time was significantly affected by plant type, days of storage, temperature, locality and the interactions between type of plant x days of storage, type of plant and temperature of storage, days x temperature of storage, type x locality and type x days x temperature. Some of these effects were expected, and confirm results of other

workers. Based on studies with 3 bean cultivars, Quenzer et al. (14) reported that growing site influenced cooking time more than cultivar. Similar results were published by Proctor and Watts (15) with 3 cultivars grown in different locations. Paredes-López et al. (16) found that cooking time of 2 bean cultivars grown in 2 locations differing in soil Ca and Mg content, were higher for the beans grown in Ca rich soils.

TABLE 1
Percentage of water absorption

Storage time days	Chuarrancho	Pachalí	Santiago Sacatepequez	Parramos	Ave± S.D
Bush type					
4.0°C					
0	65.0	70.0	66.0	42.0	61.0±10.9
45	77.5	76.0	80.0	67.0	75±4.9
90	89.0	72.0	70.0	79.0	77±7.4
135	87.5	71.0	70.5	78.5	77±6.9
38°C					
0	65.0	70.0	66.0	42.0	61±10.9
45	46.0	38.0	42.5	21.5	37±6.2
90	90.0	81.5	81.0	70.5	81.0±7.9
135	91.0	88.5	91.5	91.5	91.0±1.3
Vine type					
4.0°C					
0	87.5	85	-	-	86.0±1.1
			6.0	4.5	5.0±1.0
45	90.5	92.5	-	-	91.0±1.1
			11.0	7.0	9.0±2.6
90	77.5	81.5	-	-	79.5±2.0
			11.0	1.5	6.2±5.2
135	81.5	95.0	-	-	88.2±6.7
			13.0	4.0	8.5±3.9
38°C					
0	87.5	85.0	-	-	86.2±1.2
			6.0	4.5	5.2±0.2
45	70.0	65.5	-	-	67.5±2.3
			9.0	10.0	9.5±4.5
90	94.5	100.0	-	-	97.2±2.7
			28.5	34.5	31.5±3.0
135	91.0	95.5	-	-	93.2±2.2
			61.0	58.0	59.5±1.5

Fiber fractionation data for bush bean samples at 4°C and 38°C of storage are given in Tables 4 and 5, while Tables 6 and 7 show the same data for vine type of beans stored up to 90 days. As indicated previously, samples at 135 days of storage were not analyzed. The fiber fractions of all bush bean samples stored at 4°C were similar (Table 4), therefore, average values were used for interpretation. NDF, ADF, cellulose and ligning showed an increase from 0 to 45 days and a decrease from 45 days to 90 days.

TABLE 2
Analysis of variance. Results

Source of variation	Water absorpt		Cook time		NDF		ADF		Cellulose		Hemi-cellulose		Lignin	
	F05	F01	F05	F01	F05	F01	F05	F01	F05	F01	F05	F01	F05	F01
Plant type	**		**			*			**		**			
Days storage	**		**		**		**		**		**		**	**
Type x days	*		**	*					*		**		**	**
Temperature			**						*		*			
Type x Temp	**		**								**		*	
Days x Temp	**		**											**
Type x Days x Temp			**				**		**		**		**	*
Locality	**		**	*							**		**	
Type x Locality	**		**											**
Type x Days x Local													*	
Temp x Local														*
Type x Temp x Local											*		*	
Type x Days x Temp x Local														

* Significant 0.05
** Significant 0.01

TABLE 3
Cooking time - minutes

Storage time days	Chuarrancho	Pachalí	Santiago Sacatepequez	Parramos	Ave± S.D
Bush type					
4.0°C					
0	145	125	120	140	132±10.3
45	140	130	110	140	130±12.2
90	110	115	105	110	110±3.5
135	95	95	100	105	99±4.1
38°C					
0	145	125	120	140	132±10.3
45	170	170	160	170	167±4.3
90	170	160	140	160	157±10.9
135	420	410	370	420	405±20.6
Vine type					
4.0°C					
0	115	145	145	150	139±3.8
45	120	130	140	140	132±8.3
90	110	115	115	125	119±6.1
135	107	110	102	110	107±3.5
38°C					
0	115	145	145	150	139±13.8
45	150	170	180	180	170±12.2
90	155	170	170	170	166±6.5
135	480	480	480	480	480±0

TABLE 4
Fiber fractions of bush bean samples stored at
4°C from 0 to 90 days

Storage time & temp.	Fiber fraction %	Parramos	Pachalí	Santiago Sacatepequez	Chuarrancho	Average ± S.D.
0 days	NDF	15.01	16.44	16.46	12.91	15.20±1.45
	ADF	6.02	6.66	7.60	6.45	6.68±0.58
	Hcel	8.99	9.78	8.86	6.46	8.52±1.74
	Cel	5.45	6.12	6.80	6.03	6.10±0.48
	Lignin	0.56	0.54	0.80	0.42	0.58±0.14
45 days	NDF	17.00	18.24	15.25	16.18	16.67±1.10
	ADF	9.51	9.20	9.36	10.51	9.64±0.51
	Hcel	7.49	9.04	5.89	5.67	7.02±1.36
	Cel	7.51	7.14	7.38	8.81	7.71±0.65
	Lignin	1.99	2.07	1.98	1.70	1.93±0.14
90 days	NDF	15.50	16.16	15.28	13.95	15.22±0.80
	ADF	7.28	7.99	7.54	7.34	7.54±0.53
	Hcel	8.22	8.17	7.74	6.61	7.56±0.67
	Cel	6.93	7.68	6.80	6.76	7.04±0.37
	Lignin	0.35	0.31	0.74	0.58	0.49±0.17

Hcel = NDF - ADF
ADF = Cel + Lig.

TABLE 6
Fiber fractions of vine bean samples stored at
4°C from 0 to 90 days

Storage time & temp.	Fiber fraction %	Parramos	Pachalí	Santiago Sacatepequez	Chuarrancho	Average ± S.D.
0 days	NDF	12.11	14.97	13.90	14.50	13.87±1.08
	ADF	6.59	7.02	7.36	6.94	7.04±0.38
	Hcel	5.52	7.95	6.54	7.56	6.89±0.94
	Cel	6.02	6.38	6.52	6.22	6.28±0.20
	Lignin	0.59	0.64	0.84	0.72	0.69±0.10
45 days	NDF	13.12	18.75	15.94	14.73	15.63±2.06
	ADF	8.42	9.20	7.87	8.34	8.46±0.48
	Hcel	4.70	9.55	8.07	6.39	7.18±1.81
	Cel	8.00	8.40	7.40	7.70	7.87±0.37
	Lignin	0.42	0.80	0.47	0.64	0.58±0.15
90 days	NDF	20.58	18.74	18.09	18.46	18.97±0.96
	ADF	8.35	10.11	9.28	9.24	9.24±0.62
	Hcel	12.23	8.63	8.81	9.22	9.72±1.46
	Cel	7.62	8.90	7.78	8.25	8.14±0.50
	Lignin	0.73	1.21	1.50	0.99	1.10±0.28

Hcel = NDF - ADF
ADF = Cel + Lig.

TABLE 5
Fiber fractions of bush bean samples stored
at 38°C from 0 to 90 days

Storage time & temp.	Fiber fraction %	Parramos	Pachalí	Santiago Sacatepequez	Chuarrancho	Average ± S.D.
0 days	NDF	15.01	16.44	16.46	12.91	15.20±1.45
	ADF	6.02	6.66	7.60	6.45	6.68±0.58
	Hcel	8.99	9.78	8.86	6.46	8.52±1.74
	Cel	5.45	6.12	6.80	6.03	6.10±0.48
	Lignin	0.56	0.54	0.80	0.42	0.58±0.14
38°C 45 days	NDF	16.20	20.63	16.50	16.23	17.39±1.87
	ADF	8.14	7.18	6.48	9.90	7.92±1.28
	Hcel	8.06	13.45	10.02	6.33	9.46±2.64
	Cel	7.41	7.04	6.40	7.89	7.18±0.54
	Lignin	0.73	0.14	0.08	2.01	0.74±0.77
38°C 90 days	NDF	19.20	22.64	19.61	19.02	20.12±1.47
	ADF	8.58	10.10	8.90	10.04	9.40±0.67
	Hcel	10.62	12.54	10.71	8.98	10.7±1.26
	Cel	7.68	8.02	8.16	8.65	8.13±0.35
	Lignin	0.90	2.08	0.74	1.39	1.38±0.52

Hcel = NDF - ADF
ADF = Cel + Lig.

TABLE 7
Fiber fractions of vine bean samples stored
at 38°C from 0 to 90 days

Storage time & temp.	Fiber fraction %	Parramos	Pachalí	Santiago Sacatepequez	Chuarrancho	Average ± S.D.
0 days	NDF	12.11	14.97	13.90	14.50	13.87±1.08
	ADF	6.59	7.02	7.36	6.94	7.04±0.38
	Hcel	5.52	7.95	6.54	7.56	6.89±0.94
	Cel	6.02	6.38	6.52	6.22	6.28±0.20
	Lignin	0.57	0.64	0.84	0.72	0.69±0.10
45 days	NDF	17.28	14.12	16.54	14.24	15.54±1.39
	ADF	13.38	11.14	11.98	8.42	11.23±1.81
	Hcel	3.90	2.98	4.56	5.82	4.31±1.03
	Cel	13.06	10.60	11.20	7.55	10.60±1.85
	Lignin	0.32	0.54	0.78	0.87	0.63±0.21
90 days	NDF	19.53	20.53	18.49	18.62	19.29±0.82
	ADF	9.27	9.66	8.61	8.44	9.00±0.49
	Hcel	10.26	10.87	9.88	10.18	10.30±0.36
	Cel	8.20	6.93	7.48	6.52	7.28±0.63
	Lignin	1.07	2.73	1.13	1.92	1.71±0.68

Hcel = NDF - ADF
ADF = Cel + Lig.

Hemicellulose on the other hand, decreased from 0 to 45 days and increased slightly from 45 to 90 days. When this group of samples were stored at 38°C (Table 5), NDF, ADF, hemicellulose, cellulose and lignin increased from 0 to 90 days of storage. The fiber fractions of the vine beans stored at

4°C (Table 6) increased with time of storage, as did also in the samples stored at 38°C over 90 days of storage (Table 7). Analysis of variance of the fiber fractionation data is shown in Table 2. NDF showed highly significant differences due to days of storage (F01) and significant differences for the interaction type of beans x days of storage and for locality (F05). ADF was affected in a highly significant way by days of storage and the interaction of days of storage and the interaction of days of storage x type of bean and temperature. Plant type gave significant differences for ADF. With respect to cellulose, highly significant differences were found for plant type, days of storage and the interaction of type x days x temperature. The interaction of type of beans x days of storage and temperature were significant (F05). Hemicellulose content appeared to be more affected by the variables of the study. Highly significant differences were obtained for plant type, days of storage, locality and the interactions of type x days, type x temperature, type x days x temperature, and type x locality. For lignin, days of storage gave highly significant differences, as well as the interaction of days x type and days x temperature.

The synthesis of the various fractions was calculated using linear regression analysis. These values are shown in Table 8. NDF formation under storage at 4°C for vine type of beans was 56.64 mg/day, while at 38°C it was 60.25 mg/day; ADF formation was 25.20 mg/day at 4°C, and 22.42 mg/day at 38°C, while lignin formation was 4.61 mg/day at 4°C of storage and 11.33 mg/day at 38.6°C. The rate of synthesis for H.C. at 4°C was 31.44 mg/day and increased to 37.83 mg/day at 38°C, however, cellulose rate of synthesis was 20.58 mg/day at 4°C and 11.11 mg/day at 38°C.

TABLE 8
Rate of synthesis of fiber fractions over time of storage (mg/day)

Bean type	Fiber fraction	Storage Temperature	
		4°C	38°C
Bush	NDF	0.194	54.58
	ADF	9.50	30.25
	Hcel	-9.30	24.33
	Cel	10.47	22.78
	Lignin	-0.94	7.75
Vine	NDF	56.64	60.25
	ADF	25.20	22.42
	Hcel	31.44	37.83
	Cel	20.58	11.11
	Lignin	4.61	11.33

Using the same approach (Table 8), NDF formation under storage at 4°C for bush type of beans was 0.194 mg/day, while at 38°C it was 54.58 mg/day; ADF formation was 9.5 mg/day at 4°C and 30.25 mg/day at 38°C. Lignin formation was -0.94 mg/day at 4°C and 7.75 mg/day at 38°C. Both cellulose and

HC rate of formation increased with storage temperature. These data show for most fiber fractions an increased rate of synthesis at the higher storage T, but the data suggest that this effect is different for both bean types. For the vine type, synthesis of NDF, hemicellulose and lignin was higher at 38°C of storage. These beans had a higher crude fiber content, of a higher seed coat percentage and had a higher initial cooking time than bush type of beans (1). Furthermore two of the four vine samples showed a very low water absorption. A factor which must be taken into consideration is the method of analysis. NDF contains cellulose, hemicellulose and lignin, while ADF is mainly cellulose and lignin. The difference between the two, gives hemicellulose. Therefore, errors in analysis could very well influence the calculation of the rate of synthesis. Lignification has been indicated to be a factor in the hard-to-cook problem (6) and the data from this study show high values of synthesis at 38°C, although not as high as those from NDF which contains lignin.

Regression equations of the influence of all fiber fractions on cooking time were also estimated, as shown in Table 9. NDF influenced cooking time for both types of beans, however, it was more evident for the vine type. The same can be observed for ADF for all bean types but particularly for the vine type. On the other hand, hemicellulose had only a small effect for both types of beans. The effect of cellulose was significant in increasing cooking time for all bean types but particularly for the vine type. Finally, lignin had some influence for the vine type, more so than hemicellulose.

TABLE 9
Correlations between changes in fiber fractions and cooking time

Bean type	Fiber fraction	Storage Temperature	
		4°C	38°C
Vine	NDF	-0.63*	+0.60*
		+0.04	+0.33
		-0.35	+0.37
Bush	ADF	-0.63*	+0.80**
		+0.07	+0.47
		-0.21	+0.67**
All	HC	-0.48	-0.06
		-0.04	+0.09
		-0.28	-0.10
Vine	Cellulose	-0.71**	+0.70**
		-0.09	+0.21
		-0.26	+0.61**
Bush	Lignin	-0.68*	+0.13
		+0.24	+0.29
		-0.05	+0.22

Various workers have suggested that the increase in cooking time of beans on storage is due to the lignification of the cell wall (3, 6).

At the storage T of 4°C, cooking time for all bean samples whether of the bush or vine type decreased, however, at 38°C cooking time increased over time of storage. At the same time, the rate of fiber fraction synthesis behaved differently. NDF rate of synthesis was higher for all beans at 38°C, as well as hemicellulose and lignin rate of synthesis, while ADF rate of synthesis was higher at 4°C of storage for vine beans. Statistical analysis showed that all fiber fractions had some influence on cooking time, which was significant in two instances at 38°C, but higher in all other cases than at 4°C. This suggests that the changes in fiber fractions, particularly in cellulose, have a role to play in increasing cooking time, although other factors are also probably involved. The role of lignin has already been described (1) and there is agreement that the hard-to-cook problem in beans is best explained on the basis of a multiple mechanism (3).

From the results of the present research it may be suggested that cellulose formation during storage is responsible to a very large extent for the increase in cooking time, probably more than lignin formation. The fiber fractions such as NDF and ADF which are made up of cellulose, hemicellulose and lignin and of cellulose and lignin respectively, resulted in significant positive correlations to cooking time as well as cellulose, while only small non-significant correlations were observed for hemicellulose and lignin, more so for the latter. At 38°C the rate of synthesis of the various fiber fractions was high, suggesting cell wall differentiation. Although the hard-to-cook condition in beans has been shown to be induced by various methods of treating the seeds, the most common has been storage at a high relative humidity with high temperature, with beans with relative high moisture content (18%), as well as high RH with high T with beans at lower moisture levels (12-14%). The first situation may lead to an aborted germination where degradation of complex organic compounds and rearrangement reactions of the products may take place, while the second, more applicable to the present study, the reactions taking place are more towards cell wall differentiation.

In future studies the changes in the cell wall components such as pectins and glycoproteins should be monitored. Likewise, the studies should be done on the cotyledon which would eliminate the interference of compounds present in the seed coat, even though it represents only about 10% of the weight of beans.

REFERENCES

- Bressani R, Benavides V, Calderón E, Ortiz MA & Chon C. Evaluation of bush and vine black beans for physical, chemical and nutritional characteristics. *Arch Lat Amer Nutr*, 1995; 45:140-144.
- El-Tabey Shehata AM. Hard-to-cook phenomenon in legumes. *Food Revs Intl*, 1992; 8:191-222.
- Hincks MJ & Stanley DW. Multiple mechanism of bean hardening. *J Food Tech*, 1986; 21:731-750.
- Antunes PL & Sgarbieri VC. Influence of time and conditions of storage on technological and nutritional properties of dry bean (*Phaseolus vulgaris*, variety Rosinha). *J Food Sci*, 1979; 44:1703-1706.
- Shelly-Dessert KC & Hosfield GL. Implications of genetic variability for dry bean cooking time and novel cooking methods for fuel wood conservation in Rwanda. *Ecology Food Nutr*, 1990; 24:195-211.
- Hincks MJ & Stanley DW. Lignification. Evidence for a role in hard-to-cook beans. *J Food Biochem*, 1987; 11:41-58.
- Asp, NG, CG Johansson, Hallmer H & Siljestrom H. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J Agr Food Chem*, 1983; 31:476-482.
- Goering HK & Van Soest PJ. Forage fiber analysis. *Agric Handbook No. 379. Agr Res Serv USDA*, 1970; p.1-12.
- Deshpande SA, Sathe SK & Salunkhe DK. Interrelationship between certain physical and chemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *Qual Plantarum. Plant Foods Human Nutr*, 1984; 34:53-65.
- Hughes JS & Swanson BG. Microstructural changes in maturing seeds of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Microstructure*, 1985; 4:183-189.
- Sefa-Dedeh S and Stanley DW. The relationship of microstructure of cowpeas to water absorption and dehulling properties. *Cereal Chem*, 1979; 56:379-386.
- Sefa-Dedeh S & Stanley SW. Microstructure of cowpea variety Adua Ayera. *Cereal Chem*, 1979; 56:367-371.
- Hentges DL, Weaver CM & Nielsen SS. Reversibility of the hard-to-cook defect in dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and cowpeas (*Vigna unguiculata*). *J Food Sci*, 1990; 55:1474-1476.
- Quenzer NM, Hoffman VL & Burns EE. Some factors affecting pinto bean quality. *J Food Sci*, 1978; 43:1059-1061.
- Proctor JP & Watts BM. Effect of cultivar, growing location, moisture and phytate content on the cooking time of freshly harvested navy beans. *Can J Plant Sci*, 1987; 67:923-926.
- Paredes-López O, Reyes-Moreno R, Montes Rivera R & Carabez-Trejo A. Hard-to cook phenomenon in common beans influence of growing location and hardening procedures. *Intl J Food Sci Tech*, 1989; 24:535-542.
- Heredía A, Guillén R, Jiménez A & Fernández-Bolaños J. Review: Estructura de la pared celular vegetal. *Rev Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1993; 33:113-131.
- Variano-Marston E & Jackson GM. Hard-to-cook phenomenon in beans: structure changes during storage and inhibition. *J Food Sci*, 1981; 46:1379-1385.
- Molina MR, Baten MB, Gómez-Brenes RA, King KW & Bressani R. Heat treatment: a process to control the development of the hard-to-cook phenomenon in black beans (*Phaseolus vulgaris*). *J Food Sci*, 1976; 41:661-666.
- Stanley DW & Agulera JM. A review of texture defects in cooked reconstituted legume -the influence of structure and composition. *J Food Biochem*, 1985; 9:277-323.
- Rozo C, Bourne MC, Hood LF & Van Soest PJ. Effect of storage time, relative humidity and temperature in the cookability of whole red kidney beans and on the cell wall components of the cotyledons. *Can Inst Food Sci & Technol J*, 1990; 23:72-75.
- Srisum N, Nammerschmidt R, Vebersax MA, Ruengsakulrach S, Bennink MR & Hosfield GL. Storage induced changes of phenolic acids and the development of hard-to-cook in dry beans (*Phaseolus vulgaris* var. Seafarer). *J Food Sci*, 1989; 54:311-318.

Recibido: 19-06-1997

Aceptado: 02-02-1998

Efecto de la cocción sobre la digestibilidad proteica del sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Agudelo R.A., Alarcón O.M., Fliedel G.

Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

RESUMEN. Los cambios en la digestibilidad de las proteínas que ocurren durante la cocción han interesado a muchos científicos. Por esta razón en el presente estudio se evaluó el efecto de la cocción en agua sobre la digestibilidad proteica in vitro (DPIV) de granos de sorgo sin taninos (SST) o con taninos previamente detoxificados (SPD) y se comparó con la del arroz y la del maíz. También se estudió la influencia de los sulfitos presentes en el agua de cocción sobre la digestibilidad proteica del sorgo. La DPIV de SST antes de la cocción fue del 71.1%, menor ($p < 0.05$) que la del SPD, la del maíz y la del arroz pulido, que presentaron respectivamente 80.4%, 80.8% y 90.6%. Todos los granos disminuyeron su digestibilidad después de ser cocidos en agua, la DPIV se redujo en 23.1%, 66.3%, 3.1% y 3.2% para el SST, el SPD, el arroz pulido y los endospermos de maíz, respectivamente. Los valores de la digestibilidad proteica para el SST y el SPD tratados con bisulfito de sodio (0.1M) fueron de 65.2 y 50.1% lo cual representa una disminución de la DPIV de 8.0 y 37.7%, respectivamente. Resultados similares se obtienen con el empleo de metabisulfito de sodio (0.1M) en el medio de cocción. Estos hallazgos demuestran que los sulfitos impiden la disminución brusca de la DPIV de los granos de sorgo sometidos a cocción y sugieren que estos compuestos pueden evitar la formación de los puentes disulfuro entre las moléculas de la γ -kafirinas (prolaminas) localizadas en la superficie de los cuerpos proteicos del sorgo. Sin embargo, no se descarta la existencia de otros factores que deberán ser estudiados en investigaciones ulteriores. En conclusión, puesto que los sulfitos previenen la formación de puentes disulfuros durante la cocción y hacen al sorgo más digerible por la pepsina, probablemente la formación de los puentes -S-S- es la responsable de la disminución de la digestibilidad proteica del sorgo cocido.

Palabras clave: Sorgo, digestibilidad proteica, taninos, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio.

INTRODUCCION

El sorgo, debido a su rusticidad, es de alto interés económico para las zonas semiáridas del planeta, ya que se puede cultivar en regiones cálidas y secas, que presentan condiciones desfavorables para el desarrollo de otros cereales tropicales, como el maíz y el arroz. Dentro de los cereales, algunas variedades de sorgo contienen taninos condensados que le confiere ventajas agronómicas (1-4) en aquellas regiones donde el ataque de pájaros constituye un verdadero problema económico, pero que disminuyen su calidad nutricional (5-7).

SUMMARY. Effect of cooking on the protein digestibility of sorghum. The changes in protein digestibility that occur during cooking have interested many scientists. In this study the effect of cooking sorghum in water on the in vitro protein digestibility (IVPD) was evaluated using sorghum grains not containing tannin (SST), and grains containing detoxified tannin (SPD). The results were compared with rice and maize. The effect of sulfitos present in the water used for cooking was also determined. The IVPD of sorghum excent of tannins before cooking was 71.1% smaller ($p < 0.05$) than that obtained for corn (80.8%), polished rice (90.6%) or sorghum with detoxified tannins (80.4%). After cooking in water the IVPD decreased to 23.1%, 66.3%, 3.1% and 3.2% for SST, SPD, polished rice and corn endosperms, respectively. The IVPD of SST and SPD treated with 0.1M sodium bisulfite was 65.2 and 50.1%, which corresponds to a decrease in IVPD of 8.0 and 37.7%, respectively. Similar results were obtained when 0.1M sodium metabisulfite is added to the cooking media. These findings demonstrate that sulfitos inhibit the sudden decrease of the IVPD of cooked sorghum grains, and suggest that these compounds may block the formation of disulfide bridges (-S-S-) among the γ -kafirins molecules located on the surface of the sorghum protein bodies or possibly other factors involved which will be later studied.

Key words: Sorghum, protein digestibility, tannins, sulfitos.

Por esta razón es necesario un tratamiento tecnológico que neutralice este efecto negativo de los taninos y, de esta manera, mejorar su utilización. Los granos sin taninos (detoxificados) se pueden procesar artesanal o industrialmente para elaborar diversos productos que tradicionalmente se obtienen del maíz (8-10).

El sorgo se consume en muchas regiones en forma de granos enteros cocidos, atoles, couscous, galletas, etc., preparaciones que necesariamente requieren de un tratamiento térmico para su elaboración. Sin embargo, Hamaker et al. (11) han señalado que los granos de sorgo con o sin taninos

disminuyen su digestibilidad proteica, en 24.5%, durante la cocción, debido posiblemente a la formación de puentes disulfuro (-S-S-) entre las moléculas de proteínas. Las kafirinas y las glutelinas son las principales proteínas presentes en el endospermo del sorgo. Las primeras se concentran en la superficie de los cuerpos proteicos, mientras que las segundas se localizan en la llamada matriz proteica (12). En relación a esto, Hamaker et al. (13), mediante la electroforesis en gel, demostraron que las kafirinas son la fracción proteica responsables de la disminución de la digestibilidad en el sorgo cocido. Por esta razón, los cambios que ocurren en las kafirinas durante la cocción son de gran interés y están siendo muy estudiados.

Las kafirinas pueden ser clasificadas en α -, β - y γ -kafirinas (14), en base a su composición de aminoácidos, su peso molecular y su solubilidad. En el endospermo vítreo, éstas representan 80-84%, 7-8% y 9-12% respectivamente (15), Shull et al. (16) han señalado que las γ -kafirinas poseen un alto contenido de cistina y se ubican en la periferia de los cuerpos proteicos, envolviendo su porción central, constituida básicamente por α -kafirinas.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la cocción en agua sobre la digestibilidad proteica de granos de "sorgo sin taninos" o "con taninos previamente detoxificados" y se comparó con la del arroz y el maíz. Simultáneamente se estudió como afecta a la digestibilidad proteica del sorgo, la presencia de sulfitos en el agua de cocción.

MATERIALES Y METODOS

Granos

Se utilizó granos de sorgo sin taninos (híbrido Chaguaramas III) y sorgos con alto contenido de estos polifenoles (híbrido Prosorgo 6) producidos en la estación experimental de Chaguaramas, Estado Guárico (Venezuela) por la firma Protinal C.A., a los cuales se les eliminó las glumas y se limpiaron cuidadosamente.

Los granos de híbridos Chaguaramas III se pelaron por abrasión hasta un rendimiento entre 75 y 80%; a este material se le denominó "sorgo sin taninos, pelado". El híbrido rico en taninos se detoxificó y se designó como "sorgo detoxificado".

Para comparar la digestibilidad proteica del sorgo con la de otros cereales tropicales se utilizó granos de arroz pulido, de una marca comercial venezolana, y endospermos de maíz blanco obtenidos en el comercio.

Detoxificación de los granos de sorgo ricos en taninos

Para eliminar los taninos, los granos de híbrido Prosorgo 6 se pelaron en una pulidora para arroz, tipo abrasiva (marca Suzuki), hasta un rendimiento comprendido entre 75 y el 80% y se humedecieron hasta 30% de agua con una solución de ácido acético (1% v/v), en una proporción del 25% (v/p) de la solución ácida en relación al peso total de los granos. Los granos de sorgo pelados y humedecidos se mantuvieron du-

rante 7 días a temperatura ambiente ($20 \pm 3^\circ\text{C}$), en recipientes herméticamente cerrados.

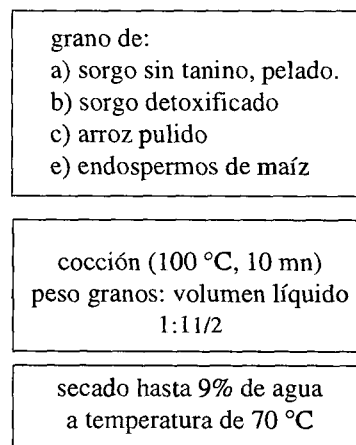
Los taninos se determinaron según el método de Price et al. (17) con cloruro de vanilina. Para la extracción sucesiva de los taninos a los granos finamente molidos se utilizó metanol puro (p. a.) y la mezcla metanol: HCl (99:1). A una alícuota del extracto se le añadió solución de vanilina y la intensidad del color desarrollado se leyó a 500 nm. La curva estándar se preparó a partir de catequina y los resultados se expresaron como equivalentes de catequina (EC).

Cocción de los granos

El procedimiento utilizado se esquematiza en la Figura 1. Los distintos cereales: "sorgo sin taninos, pelados", "sorgo detoxificado", "arroz pulido" y los "endospermos de maíz" se sometieron a cocción en agua destilada hirviendo a pH 7.0, durante 10 minutos. La proporción peso de granos y volumen de líquido de cocción fue de 1:1 1/2, respectivamente. Una vez cocidos, los granos se secaron hasta un 9% de humedad en una estufa a 70°C . En el caso de los granos de "sorgo sin taninos, pelados" y "sorgo detoxificado" también se utilizó como medios de cocción, soluciones de metabisulfito de sodio y de bisulfito de sodio 0.1M.

FIGURA 1

Cocción de los granos



Calidad nutricional

Para estimar la calidad nutricional se evaluó la digestibilidad de las proteínas in vitro (DPIV) por el método de Mertz et al. (18) modificado por Rom et al. (19). La muestra a analizar se molió finalmente, hasta lograr partículas inferiores a 0,4 mm, luego se sometió a la acción de la pepsina (1,5 mg/ml) durante 2 horas, a 37°C y a pH 2,0. Después de centrifugar, el contenido de proteínas no digerido por la acción enzimática se determinó por el método de Kjeldahl. La DPIV se expresó como el porcentaje de proteínas digerido en relación al contenido proteico total de la muestra. La DPIV se determinó en todas las muestras, antes y después de la cocción respectiva.

En el caso específico del híbrido Prosorgo 6, la digestibilidad se evaluó al iniciar y al finalizar el proceso de detoxificación.

Análisis estadístico

Cada experiencia se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como medias \pm desviación estándar. Los datos fueron sometidos al análisis de varianza de una vía y se compararon mediante la prueba de rango múltiple de Duncan, para un nivel de confiabilidad α del 5% (20,21).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se muestra que el proceso de detoxificación empleado eliminó completamente los taninos. El híbrido Prosorgo 6, que contenía 3,8% de EC antes del tratamiento, no presentó taninos al final del proceso. Por un lado, el pelado abrasivo removió buena parte de la capa periférica del grano o *testa*, donde se concentran los taninos condensados del sorgo (22). Después de pelados, los granos sólo mostraron 0,5% de EC. Por el otro, luego del almacenamiento en húmedo no se detectó la presencia de taninos en los granos, tal vez debido al hecho que éste produce una repolimerización entre los taninos, disminuyendo su capacidad para formar complejos con otras sustancias químicas (23). La eliminación de los taninos prácticamente triplicó la digestibilidad proteica del grano, que se incrementó desde 26,3% a 80,4%.

TABLA 1

Cambios en el contenido de taninos y en la digestibilidad proteica del híbrido Prosorgo 6, durante el proceso de detoxificación

	Taninos ¹	DPIV ²
Grano entero	3,8 \pm 0,1	26,3 \pm 0,2
Después del pelado abrasivo	0,5 \pm 0,1	35,2 \pm 1,0
Después del almacenamiento en húmedo	0	80,4 \pm 1,5

1 Taninos como Equivalentes de Catequina

2 Digestibilidad de proteínas in vitro.

En la Figura 2 se muestran la DPIV antes y después de someter los cereales a una cocción en agua. El "sorgo sin taninos, pelado" presentó una digestibilidad (71,1%) ligeramente inferior a la de los otros cereales. El "sorgo detoxificado", por su parte, mostró una digestibilidad (80,4%) similar a la de los endospermos de maíz (80,8%) y a la del arroz pulido (90,6%). Después de la cocción se observó una disminución de 66,3%, 3,1% y 3,2% para el sorgo detoxificado, el arroz pulido y los endospermos de maíz, respectivamente (Tabla 2).

FIGURA 2

Digestibilidad de las proteínas de los cereales antes y después de la cocción en agua

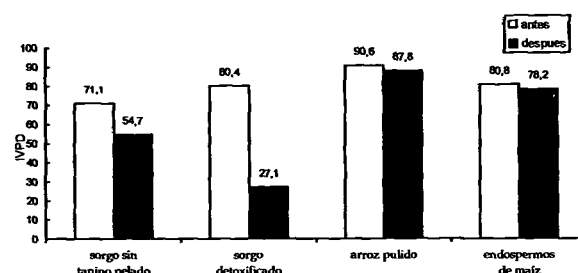


TABLA 2

Digestibilidad de proteínas in vitro antes y después de la cocción de los granos¹

	DPIV ² antes de la cocción	DPIV ² después de la cocción	Disminución de la DPIV ²
Sorgo sin taninos pelado	71,1 \pm 0,9 ^c	54,7 \pm 0,2 ^c	23,1%
Sorgo detoxificado	80,4 \pm 1,2 ^b	27,1 \pm 1,9 ^d	66,3%
Arroz pulido	90,6 \pm 1,4 ^a	87,8 \pm 1,4 ^a	3,1%
Endospermos de maíz	80,8 \pm 0,7 ^b	78,2 \pm 1,1 ^b	3,2%

1 Promedios seguidos por letras diferentes en una misma columna indican que son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

2 Digestibilidad de proteínas in vitro.

Estos resultados concuerdan, en parte, con los publicados por Mertz et al. (18) quienes demostraron que la digestibilidad enzimática de las proteínas del trigo (85,5%), del maíz (85,3%) y del arroz (83,8%) es superior a la del sorgo crudo (59,0%); sin embargo, el valor de esta digestibilidad proteica para el sorgo es significativamente inferior al observado en la presente investigación, para un sorgo sin taninos. Nuestros resultados demuestran que la cocción de los granos en agua disminuye su digestibilidad proteica, en especial en los "sorgos detoxificados" y en los "sorgos sin taninos, pelados", lo cual corrobora los trabajos previos de Hamaker et al. (13), aunque esta tendencia no se observó en el maíz, donde los valores se mantuvieron casi constantes. En base a estos resultados, Hamaker et al. (13) concluyeron que las proteínas del sorgo crudo son casi tan digeribles como las del maíz crudo. Sin embargo, con la cocción, las prolaminas del sorgo se hacen mucho menos solubles y menos digeribles por la pepsina que las prolaminas del maíz. Estos mismos autores (24) sugieren que la disminución de la digestibilidad proteica del sorgo después de la cocción se debe a la formación de puentes disulfuro entre las moléculas de prolaminas (γ -kafirinas), ubicadas en la superficie de los cuerpos proteicos, que impi-

den, de esta manera, la acción enzimática de la pepsina sobre las proteínas del interior. Otros mecanismos que pudieran explicar los resultados de la presente investigación, debidos a la cocción, incluyen: a) alteración (o cambios) de la estructura química de las proteínas del sorgo y disminución de su digestibilidad, y b) formación de polímeros proteicos insolubles (o poco solubles) unidos por puentes disulfuros que disminuyen la digestibilidad proteica.

Bookwalter et al. (25) también observaron una disminución de la DPIV cercana al 16%, una vez que los granos de sorgo sin taninos era cocidos en agua, siendo este fenómeno menos perceptible al realizarse sobre hojuelas de avena, harina de trigo o endospermos de maíz. En contraste, Serna-Saldivar et al. (26) encontraron una disminución significativa de la DPIV, tanto en el sorgo como en el maíz, una vez que estos cereales son sometidos a una cocción alcalina para la fabricación de tortillas tipo mexicanas. Hamaker et al. (24) consideran que a pesar de que el maíz y el sorgo pertenecen a la misma tribu botánica *Andropogoneae* y de que sus prolaminas son muy similares en cuanto a composición de aminoácidos, estructura y localización alto grado de secuencia peptídica y reactividad cruzada para los anticuerpos, éstas tienen un comportamiento distinto en la DPIV una vez que son cocidos en agua. El tratamiento térmico bajo presión o extrusión, contrariamente a la cocción a presión normal, aumenta la digestibilidad proteica del sorgo a valores superiores a las del grano crudo, con un cambio concomitante en las clases de prolaminas L-M en una proporción similar a las que se encuentran en el maíz y en el mijo (24).

En la Figura 3 se demuestra que la presencia de bisulfito de sodio, en el medio de cocción, atenúa la disminución de la DPIV en los granos de "sorgo sin taninos, pelado" y en los de "sorgo detoxificado", con valores de digestibilidad de 65,2% y 50,1%, respectivamente, que se corresponden con disminución del 8,0% y del 37,7%. Resultados similares se obtienen cuando se utiliza el metabisulfito de sodio como medio de cocción de los granos. En este caso, el "sorgo sin taninos, pelado" mostró una DPIV de 63,3% y el "sorgo detoxificado", una de 51,2%, lo que corresponde a reducciones en la digestibilidad de 11,0% y 36,6% respectivamente. No se detectaron diferencias significativas entre las DPIV de los tratamientos con bisulfito y con metabisulfito de sodio cuando se trata de un mismo tipo de sorgo (Tabla 3).

Nuestros resultados, en concordancia con los de Hamaker et al (11) indican que los agentes reductores presentes en el medio de cocción, al parecer, disminuyen la formación de puentes disulfuro entre las moléculas de kafirinas localizadas en la superficie de los cuerpos proteicos. Podemos finalmente indicar que a pesar de que los agentes reductores en el medio de cocción atenuaron la caída en la DPIV en los sorgos detoxificados, estos valores (50,1 y 51,2%) están muy por debajo de la digestibilidad obtenida en el presente estudio para el "sorgo sin tanino, pelado", lo cual sugiere una mayor

formación de puentes disulfuro (-S-S-) en la superficie de los cuerpos proteicos de estos granos.

FIGURA 3
Digestibilidad de proteínas in vitro antes y después de la cocción en los distintos medios

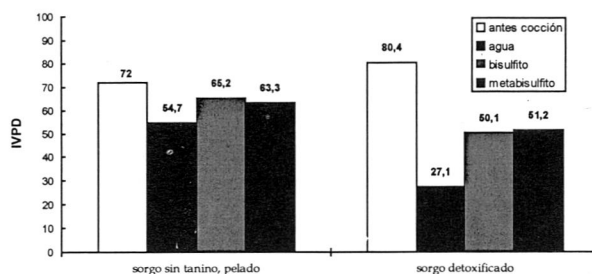
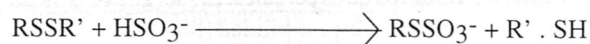


TABLA 3
Digestibilidad de proteínas in vitro antes y después de la cocción con sulfitos¹

	Sorgo sin taninos, pelado	Sorgo detoxificado
DPIV ² antes de la cocción	71,1±0,9a	80,4±01,2 ^a
DPIV ² después cocción en:		
agua	54,7±0,2 ^c	27,1±1,9 ^c
bisulfito de sodio	65,2±0,4 ^b	50,1±1,5 ^b
metabisulfito de sodio	63,3±1,7 ^b	51,2±1,1 ^b

- 1 Promedios seguidos por letras diferentes en una misma columna indican que son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).
- 2 Digestibilidad de proteínas in vitro.

En relación con el mecanismo de acción del bisulfito y del metabisulfito es interesante señalar que estos compuestos químicos con propiedades antioxidantes son ampliamente empleados como conservadores en la industria agroalimentaria y farmacéutica (27). El bisulfito, que no requiere ninguna activación metabólica, reacciona con gran número de componentes celulares. Según Petering y Shih (28), este compuesto reacciona reversiblemente in vitro con diversos aminoácidos, entre ellos la cistina y la cisteína. La reacción con cisteína o con las proteínas involucra la sulfitolisis de los puentes disulfuro:



La destrucción de diversos constituyentes celulares por las reacciones irreversibles de radicales libres asociados con la oxidación del sulfito a sulfato han sido reportados. Ejemplos son las reacciones con la metionina señalada por Inoue y Hayatsu (28). Un complejo proceso de cadena está compro-

metido en la oxidación del bisulfito a sulfato por el oxígeno, el cual genera especies tales como $\cdot\text{SO}_3^-$ y $\cdot\text{OOH}$. El proceso funciona efectivamente a concentraciones de HSO_3^- de aproximadamente 0.01 M. Cualquiera de estos mecanismos pudiera estar involucrado en el efecto de estos compuestos para atenuar la disminución en la DPIV en los sorgos detoxificados, o bien la existencia de otros factores deberá ser estudiada en investigaciones ulteriores.

En conclusión, los hallazgos de la presente investigación demuestran que los sulfitos impiden la disminución brusca de la DPIV de los granos de sorgo sometidos a cocción y sugieren que estos compuestos pueden evitar la formación de los puentes disulfuro entre las moléculas de las γ -kafirinas (prolaminas) localizadas en la superficie de los cuerpos proteicos del sorgo, por diversos mecanismos: sulfitólisis, reacciones de radicales libres, destrucción de componentes de la estructura proteica, etc. Sin embargo, no se descarta la existencia de otros factores que deberán ser estudiados en investigaciones ulteriores. Puesto que los sulfitos previenen la formación de puentes disulfuros durante la cocción y hacen al sorgo más digerible por la pepsina, probablemente la formación de los puentes -S-S- es la responsable de la disminución de la digestibilidad proteica del sorgo cocido.

REFERENCIAS

- Bullard RW, York JO y Dilburn SR. Polyphenolic changes in ripening bird-resistant sorghums. *J Agric Food Chem*, 1981; 29:973-981.
- Woodhead S, Padgham DE y Bernays EA. Insect feeding on different sorghum cultivars in relation to cyanide and phenolic acid content. *Ann Appl Biol*, 1980; 95:151.
- Harris HB y Burns RE. Relationship between tannin content of sorghums grain and preharvest seed moulding. *Agron J*, 1983; 65:957-959.
- Hahn DH, Faubion JM y Rooney LW. Sorghum phenolic acid, their high performance liquid chromatography separation and their relation to fungal resistance. *Cereal Chem*. 1983; 60:255-259.
- Maxon ED, Rooney LW, Lewis RD, Clark LE y Johnson JW. The relationship between tannin content, enzyme inhibition, rat performance, and characteristics of sorghum grain. *Nutr Rep Int*, 1973; 8:145-152.
- Mehansho H, Betler L y Carlson D. Dietary tannins and salivary proline rich proteins: interactions, induction and defence mechanisms. *Ann Rev Nutr*, 1987; 7:443-440.
- Strumeyer DH y Malin MJ. Identification of the amylase inhibition form seeds of Leoti sorghum. *Biochim Biophys Acta*. 1969; 184:643-645.
- Bedolla S, De Palacios MG, Rooney LW, Diehl KC y Khan MN. Cooking characteristics of sorghum and corn for tortilla preparation by several cooking methods. *Cereal Chem*, 1983; 60:263-268.
- Choto CE, Morad MM y Rooney LW. The quality of "tortillas" containing whole sorghum and pearled sorghum alone and blended with yellow maize. *Cereal Chem*, 1985; 62:51-55.
- Serna-Saldivar SO, Knabe DA, Rooney LW y Tanksley TD Jr. Effects of lime cooking on energy and protein digestibilities of maize and sorghum. *Cereal Chem*. 1987; 64:247-252.
- Hamaker BR, Kirleis AW, Butler LG, Axtell JD y Mertz ET. Improving the in vitro protein digestibility of sorghum with reducing agents. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 1987; 84:626-628.
- Seckinger HL y Wolf MJ. Sorghum protein ultra-structure as it relates to composition. *Cereal Chem*. 1973; 50:455.
- Hamaker BR, Kirleis AW, Mertz ET y Axtell JD. Effect of cooking on the protein profiles and in vitro digestibility of sorghum and maize. *J Agric Food Chem*. 1986; 34:647-649.
- Shull JM, Watterson JJ y Kirleis AW. Proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (kafirins) of *Sorghum bicolor* (L. Moench) based on molecular weight, solubility, and structure. *J Agric. Food Chem*. 1991; 39:83-87.
- Watterson JJ, Shull JM y Kirleis AW. Quantification of α , β - and γ -kafirins in vitreous and opaque endosperm of *Sorghum bicolor*. *Cereal Chem*. 1993; 70:452-457.
- Shull JM, Watterson JJ y Kirleis AW. Purification and immunocytochemical localization of kafirins in *Sorghum bicolor* (L. Moench) endosperm. *Protoplasma*, 1992; 171:64-74.
- Price ML, van Scoyoc S, Butler LG. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J Agric Food Chem*, 1978; 2:1214-1218.
- Mertz ET, Hassem MM, Cairns-Whittem C, Kirleis AW, Tu L y Axtell JD. Pepsin digestibility of proteins in sorghum and other major cereals. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 1984; 81:1-2.
- Rom DL, Shull JM, Chandrashekar A y Kirleis AW. Effects of cooking and treatment with sodium bisulfite on in vitro protein digestibility and microstructure of sorghum flour. *Cereal Chem*. 1992; 69:178-181.
- Snedecor GW y Cochran WG. Statistical methods. 7th ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa. 1973; pp. 221-222.
- Ducan BD. Multiple range and multiple F-test. *Biometrics*. 1955; 11:1-42.
- Rooney LW y Sullins RD. The structure and its relation to processing and nutritional value. In: Proceedings of the Symposium on Sorghum and Millet as Human Food. London: Tropical Products Institute. 1976; pp. 91-109.
- Mitaru BN, Reichert RD y Blair R. Kinetics of tannin deactivation during anaerobic storage and boiling treatments of high tannin sorghum. *J Food Sci*. 1984; 49:1566-1568.
- Hamaker BR, Mertz ET y Axtell JD. Effect of extrusion on sorghum kafirin solubility. *Cereal Chem*. 1994; 71:515-517.
- Bookwalter GN, Kirleis AW y Mertz ET. In vitro digestibility of protein in milled sorghum and other processed cereals with and without soy-fortification. *J Food Sci*. 1987; 52:1577-1578.
- Serna-Saldivar SO, Knabe DA, Rooney LW, Tanksley TD Jr y Sproule AM. Nutritional value of sorghum and maize tortillas. *J Cereal Sci*. 1988; 7:83-94.
- Perrin-Ansart MC, Hanh T. Sur les sulfites employés comme conservateurs. *Cah Nutr Diet*. 1989; 24(4):291-297.
- Petering DH, Shih NT. Biochemistry of bisulfite-sulfur dioxide. *Environm Res*. 1975; 9:55-65.
- Inoue M, Hayatsu H. The interaction between bisulfite and aminoacids. The formation of methionine sulfoxide from methionine in the presence of oxygen. *Chem Pharm Bull*. 1971; 19:1286-1289.

Recibido: 28-02-1997

Aceptado: 17-11-1997

Inactivación de lipoxigenasas e inhibidores de tripsina en un proceso de obtención de leche de soja por molienda directa y ultra alta temperatura (MD-UAT)

Hugo Geronazzo, Alberto Macoritto, Adela Mercado, María A. Toro, Carlos M. Cuevas

Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. La elaboración de leche de soja mediante un nuevo proceso de Molienda Directa de sémola de soja y Ultra Alta Temperatura (MD-UAT), ha sido objeto de estudios de laboratorio en sus etapas de molienda y tratamientos térmicos, a los efectos de evaluar la extracción de sólidos y proteínas, como así también la inactivación de lipoxigenasas e inhibidores de tripsina (IT). Para la determinación de IT en extractos y leche de soja se modificó el método clásico de Kakade (17). Los mayores rendimientos de extracción en la molienda se obtienen a 70°C durante 2 minutos. La inactivación de lipoxigenasas es notablemente más eficiente durante la molienda si se utiliza solución de carbonato de sodio 0,01M en lugar de agua como medio dispersante (actividad residual de 14% en carbonato frente a 46% en agua), reduciéndose así la generación de sustancias indeseables. Se completa la destrucción de lipoxigenasas con un breve calentamiento de 30 segundos con vapor desde 70 °C hasta la temperatura de ebullición a 96 °C. Por otra parte, los inhibidores de tripsina no son adecuadamente inactivados en la molienda ni tampoco en el tratamiento con vapor a 96°C durante varios minutos. Posteriormente, en la etapa de UAT a 139 °C durante dos minutos se logra la inactivación de los IT hasta los valores considerados aceptables, posibilitando la destrucción simultánea de microorganismos. Estas condiciones se logran sin dificultad en el proceso MD-UAT, cuya flexibilidad permite adecuar temperaturas y tiempos a requerimientos específicos.

Palabras clave: Leche de soja, inhibidores, tratamiento térmico.

INTRODUCCION

En un nuevo proceso de obtención de leche de soja por Molienda Directa y Ultra Alta Temperatura (MD-UAT), la extracción de sólidos y proteínas y la rápida inactivación de lipoxigenasas para reducir la generación de sustancias indeseables, se lleva a cabo mediante la molienda directa en caliente de sémola con agua o soluciones acuosas de carbonato de sodio, seguido de un tratamiento térmico con vapor. Luego de la separación de sólidos residuales y formulación, se completa el proceso con un tratamiento de UAT a los efectos de reducir a niveles aceptables la actividad residual de IT y lograr simultáneamente una eficiente destrucción de microorganismos.

En un trabajo anterior (1) se reportaron rendimientos de extracción de sólidos y proteínas y resultados de experiencias

SUMMARY. Lipoxigenases and trypsin inhibitors inactivation in a soymilk processing by direct milling and ultra high temperature (DM-UHT). Soymilk production by a new process based on Direct Milling of soy grits and Ultra High Temperature (DM-UHT) has been studied at laboratory scale in order to evaluate solids and protein extraction, lipoxigenases (LO) and Trypsin Inhibitors (TI) inactivation during milling and heat-treatment steps. For TI measurements in soy extracts and soymilk a modification of the classical Kakade method (17) was used. Highest extraction yields were accomplished at 70 °C and 2 minutes milling of soy grits. LO was appreciably inactivated when using, as dispersing medium for milling, 0.01M sodium carbonate (Residual Activity 14%) instead of water (Residual Activity 46%), so in this way lower levels of undesired substances can be generated. LO destruction in the resulting suspension was finished by a short heating (30 seconds) from 70 °C to boiling temperature (96 °C). On the other hand, TI were not fully inactivated in milling nor even in the steaming step at 96 °C for many minutes. The TI were inactivated to the accepted levels for soymilk in the final UHT step at 135 °C and 2 minutes, being possible at the same time to carry out the simultaneous microorganisms destruction.

Key words: Soymilk, inhibitors, heat-treatment.

comparativas con otros métodos de obtención de leche de soja, la mayoría de los cuales cuenta con una etapa inicial de hidratación de los granos enteros de soja seguido de una molienda en caliente (2-6). Se ha mencionado que una rápida hidratación térmica de soja descascarada mejora la calidad del producto (7-10).

La destrucción de microorganismos mediante un equipo UAT de planta piloto en leche de soja fue estudiada exhaustivamente en diferentes situaciones operativas (11), los resultados permiten suponer que es posible ajustar la operación del equipo UAT para lograr simultáneamente la inactivación de inhibidores de tripsina y la esterilización del producto. Los sólidos residuales, con un importante contenido de proteínas, pueden utilizarse en fórmulas alimenticias mediante un simple paso de secado e inactivación final (12).

En este trabajo se informa sobre resultados de laboratorio obtenidos en la inactivación de lipoxigenasas y de inhibidores de tripsina durante la preparación de leche de soja en condiciones de molienda directa y Ultra Alta Temperatura, tendientes a perfeccionar el desarrollo del proceso.

MATERIALES Y METODOS

Materia Prima

Se utilizaron granos de soja (*Glycine max*) variedad FT 11 de uso regional (proteínas 40,9%, grasa 19,3% y humedad 9,7%).

La sémola de soja se prepara por molienda de granos enteros en dos etapas consecutivas llevadas a cabo en molino de rodillos estriados. En la primera etapa, de molienda gruesa, se elimina la cáscara por aventado. En la segunda etapa se obtiene sémola de soja de malla 20, que se utiliza de inmediato como materia prima para preparar extractos o leche de soja, según se informa mas adelante.

Preparación de extractos de soja

En un homogeneizador de laboratorio a su máxima velocidad se somete a molienda una parte de sémola de soja de reciente preparación, con nueve partes de agua corriente o solución de carbonato de sodio 0,01M, a temperatura de 70 °C y 80 °C, de unos a tres minutos, y luego se trata la suspensión con vapor para completar la inactivación de lipoxigenasas, según se indica mas adelante. Los extractos de soja se obtuvieron por filtración a través de tela.

Ensayos de inactivación a 139° C

Muestras de 1 ml de los extractos se someten a calentamiento rápido de 15 segundos en baño de parafina hasta 139±1° C en tubos de acero inoxidable de 1.5 ml de capacidad con cierre hermético y se mantienen a dicha temperatura durante diferentes períodos, a los efectos de estudiar la inactivación de inhibidores de tripsina en el producto final (leche de soja) en condiciones de UAT.

En la Figura 1 se muestra el diagrama completo del proceso MD-UAT.

Métodos

Sólido totales y proteínas. Fueron determinados según los métodos 925.23 (extracto seco por gravimetría) y 991.20 (nitrógeno total Kjeldahl por factor 6,25) para leche de vaca de AOAC (13).

Actividad de lipoxigenasas. Se tomó como referencia el método de Al-Obaidy y col (16), que fue adaptado para extractos y leche de soja. Se trabajó a pH 8,9 para favorecer la actividad de la isoenzima L-1, la más activa y estable térmicamente del sistema de lipoxigenasas de la soja (14,15). Se emplea ácido linoleico como sustrato, siguiendo la reacción enzimática mediante lecturas de absorbancia a 234 nm en

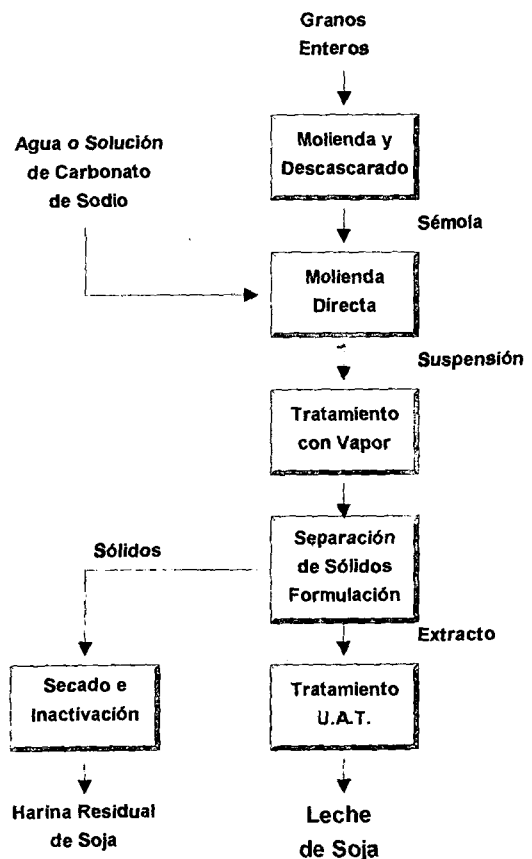
función del tiempo, en un espectrofotómetro de doble haz UV/Visible GBC Mod. 918.

1 Sustrato: Acido linoleico (Aldrich, 99% pureza). Se suspende 100 µl del ácido en 100 ml de buffer borato de pH 8,9 con 200 µl de Tween 20.

2 Técnica: En cada celda se incuban 3 ml de sustrato a 30° C durante 3 minutos y se lleva a cero de absorbancia. Se adicionan 20 µl de muestra filtrada y convenientemente diluida a la celda de medida, se mezcla rápidamente y se mide la absorbancia en función del tiempo a 234 nm. Se define 1 Unidad de Enzima (U.E.) como el incremento de 0.001 unidades de absorbancia por segundo a 234 nm bajo las condiciones del ensayo. En términos prácticos se define "Actividad de lipoxigenasas 100%" al valor de la pendiente en la zona lineal de la curva Absorbancia-Tiempo de la muestra sin tratamiento térmico.

FIGURA 1

Diagrama del proceso MD-UAT para leche de soja



Actividad de inhibidores de tripsina (IT). Para esta determinación se realizó una modificación del método de Kakade y otros (17), que empleaba BAPA (p-benzoil-DL-Arginina p-nitro anilida) como sustrato, en buffer Tris a pH 8,2 y 37° C y enzima tripsina. Los productos de la reacción se midieron en el espectrofotómetro GBC a 410 nm.

1 Sustrato: 50 mg de BAPA (N.B.S., U.S.A.) se disuelven en 2 ml de dimetilsulfóxido a 37° C y se llevan a 100 ml con buffer Tris de pH 8,2. El sustrato es estable durante 70 minutos a temperatura ambiente.

2 Enzima: 10 mg de tripsina de origen bovino, recristalizada y libre de sales (Sigma, U.S.A.) se disuelven en 4 ml de HCl 0,001 M.

3 Muestra sustrato-inhibidor (S-I): 50 µl de muestra (extracto o leche de soja) se adicionan a 9 ml de sustrato y se centrifugan 5 minutos a 3500 rpm. En el sobrenadante, muestra S-I, se determina la actividad antitripsina.

4 Técnica: (a) Standard: se incuban 3 ml de sustrato en cada celda a 37° C durante tres minutos y se ajusta a cero de absorbancia. Se adicionan 40 µl de solución de enzima a la celda de medida, se agita rápidamente y se mide la variación de Absorbancia vs Tiempo, a 410 nm. (b) Muestra sustrato-inhibidor: procediendo con la misma secuencia de pasos que en (a), se incuban 3 ml de muestra S-I en ambas celdas, se ajusta a cero de absorbancia, se adiciona 40 µl de la solución de enzima y se mide Absorbancia vs. Tiempo.

Se define "Actividad Residual de Inhibidores de Tripsina 100%" a la diferencia entre pendientes de Absorbancia vs. Tiempo, medidas en la zona lineal, del standard y la muestra S-I correspondiente al extracto de soja crudo, sin tratamiento térmico.

RESULTADOS Y DISCUSION

Extracción de sólidos y proteínas

En un trabajo anterior se determinó que la molienda directa de sémola de soja sin hidratación previa es más eficiente que la molienda de granos hidratados, no sólo por el alto contenido de sólidos solubles logrado, sino también porque su empleo eliminar la etapa de hidratación, simplificando el proceso y minimizando la oxidación de lípidos (1,18). Se ampliaron los estudios de molienda directa a los efectos de observar la influencia del tiempo y la temperatura de molienda en los rendimientos de extracción, empleando como medios dispersantes agua y solución de carbonato de sodio 0,01M. La solución de carbonato se ensayó teniendo en cuenta que en medio levemente alcalino aumenta notablemente la velocidad de inactivación del sistema de lipoxigenasas (3,19,20), efectos que también se han observado en inhibidores de tripsina (4,8). Los resultados de estos ensayos realizados en escala de laboratorio, se observan en la Tabla 1.

TABLA 1
Extracción de sólidos y proteínas en la molienda directa de sémola

Muestra y medio dispersante	Molienda T (°C) t (seg)	pH	Sólidos solubles ^a (g/100 ml)	Proteínas (g/100 ml)	Rendimiento de extracción ^b
1. Agua	70 60	6,65	7,40±0,05	—	62
2. Agua	70 120	6,65	8,30±0,06	3,70±0,06	70
3. Agua	70 180	6,63	8,31±0,05	—	70
4. Agua	80 120	6,60	7,31±0,09	3,30±0,09	61
5. CO ₃ ²⁻	0,01M ^c 70 120	7,80	8,10±0,09	—	68
6. CO ₃ ²⁻	0,01M ^c 80 120	7,70	7,22±0,09	3,20±0,05	60
7. CO ₃ ²⁻	0,02M ^c 70 120	8,40	8,12±0,09	—	68

a Valores promedios de determinación triplicada (± desviación estándar)

b Rendimiento de extracción = (masa sólidos extraídos / masa sémola inicial) x 100.

c Luego de la separación de sólidos residuales, el pH es ajustado a 6,8 con HCl 0,1N

Se puede apreciar la influencia notable de la temperatura de molienda en los rendimientos de extracción de sólidos. Por ejemplo, en agua a 70° C el rendimiento máximo es 70% (muestra 2 y 3), mientras que a 80° C el rendimiento disminuye hasta valores cercanos al 60% (muestra 4). En suspensiones de carbonato, a 70° C los resultados son algo menores a los del agua, para la misma intensidad de molienda. A 80° C los rendimientos de extracción caen notablemente en todas las muestras. El aumento de concentración de carbonato a 0,02M no mejora la extracción de sólidos.

De estos resultados se concluye que los mejores rendimientos de extracción en la molienda se obtienen a 70° C durante 120 segundos, ya sea en agua o en solución de carbonato de sodio 0,01M, condiciones que se emplean en adelante.

Inactivación de lipoxigenasas

En primer término, se estudió la inactivación de lipoxigenasas a 70° C durante un período de 10 minutos que incluye la etapa de molienda de la sémola en caliente. Se emplearon tres medios dispersantes, a saber: (a) agua; (b) agua con leche de vaca al 30%; (c) solución de carbonato de sodio 0,01M. El medio b se seleccionó en base a referencias sobre los efectos desestabilizantes de la caseína sobre el sistema de lipoxigenasas (21).

En la Figura 2 se observa que en agua, luego de los 2 minutos de molienda, la actividad residual de lipoxigenasas disminuye hasta 46% y alcanza valores cercanos al 10% al cabo de los 10 minutos de la experiencia.

Con el medio dispersante b no se observan diferencias significativas respecto del agua, a pesar del nivel relativamente alto de la leche de vaca en la mezcla.

En solución de carbonato se observa una mejora sustancial de la inactivación de lipoxigenasas, siendo su actividad residual 14% al término de la molienda (2 min.) y, determinada a los 4

minutos, dicha actividad es cero.

Los resultados muestran que al cabo de los 2 minutos de molienda a 70° C, aún en las condiciones más favorables ensayadas, no se destruyen totalmente las lipoxigenasas. Con los medios dispersantes a y b la inactivación completa se lograría prolongando excesivamente los tiempos de permanencia de las suspensiones a esa temperatura.

En razón de estos resultados, se estudió la etapa de tratamiento con vapor inmediata a la molienda en caliente para completar la inactivación de lipoxigenasas. Las experiencias, realizadas con agua y carbonato, muestran que es suficiente un calentamiento de las suspensiones con vapor de 1 atm., desde 70° C hasta su temperatura de ebullición (96° C), en 30 segundos para lograr la inactivación total de las lipoxigenasas, como puede observarse en la Tabla 2.

FIGURA 2

Inactivación de lipoxigenasas durante la molienda y el mantenimiento de las suspensiones a 70° C

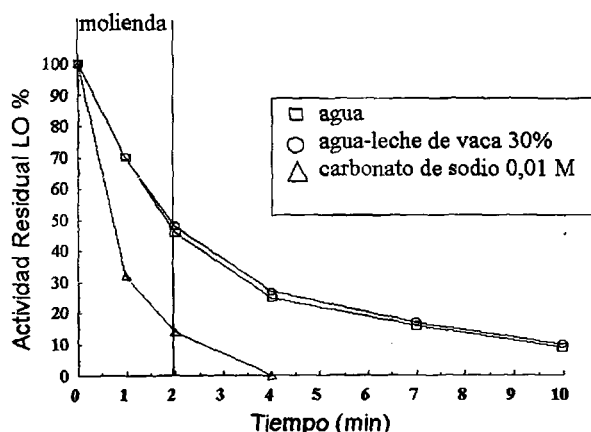


TABLA 2

Inactivación de lipoxigenasas luego de la molienda y calentamiento con vapor hasta 96°C. Medios dispersantes: agua y carbonato de sodio 0,01M

Muestra	Actividad residual de lipoxigenasas, %	
	Agua	Carbonato
Extracto crudo	100	100
Molienda directa, 70°C, 2 min.	46	14
Calentamiento de 70°C a 96°C	0	0

Los resultados se expresan como el promedio de dos determinaciones.

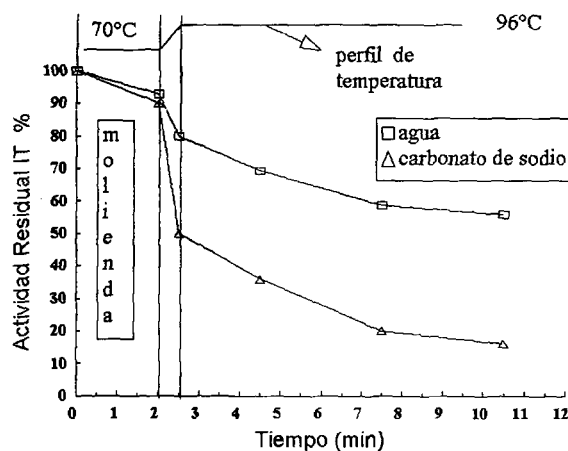
Inactivación de inhibidores de tripsina

Las experiencias se realizaron con el objeto de evaluar la actividad residual de inhibidores de tripsina luego de cada etapa térmica del proceso MD-UAT. En ellas se emplearon los medios dispersantes agua y carbonato de sodio 0,01M.

1 Etapas de molienda y de tratamiento con vapor:

FIGURA 3

Inactivación de inhibidores de tripsina en las etapas de molienda en caliente y de tratamiento con vapor



En la Figura 3 se observa que en la molienda la destrucción de inhibidores de tripsina ya sea en suspensiones de agua o de carbonato es mínima. Pero durante el breve período de calentamiento con vapor de 1 atm para llevar las suspensiones a 96°C (suficiente para completar la inactivación de lipoxigenasas), se logra reducir en forma sustancial la actividad de inhibidores de tripsina, especialmente cuando se empleó carbonato de sodio como medio dispersante durante la molienda. El mantenimiento de las suspensiones a 96°C mediante inyección de vapor durante 8 minutos disminuye la actividad residual hasta 56% y 16% en agua y carbonato, respectivamente. Significa esto que sería necesario emplear tiempos muy prolongados para alcanzar los valores finales aceptables de actividad residual en leche de soja, de alrededor del 10% (4,9).

Las mayores caídas de inhibidores de tripsina se observan en los primeros 5 minutos, tiempo mas que suficiente para la eliminación de volátiles indeseables que pudieran haberse generado por acción de las lipoxigenasas durante la molienda.

La labilidad de los IT a pH alcalinos (obsérvese los datos correspondientes a carbonato) es mayor debido a que los enlaces disulfuros intrapéptidos, que estabilizan a los IT, se tornan inestables en medio básico a temperaturas elevadas (4,22). La inactivación de inhibidores de tripsina también se ve favorecida porque la relación inicial de sémola de soja a fase acuosa está por arriba de 10 g/100 ml, nivel que, según se ha informado, mejora significativamente la inactivación térmica de los IT, probablemente como resultado de su interacción con sustancias de alto peso molecular y con grupos mercaptos libres, que reaccionan a la temperatura de inactivación con los puentes disulfuros de los inhibidores (23,24).

2 Etapa de UAT: La inactivación final de inhibidores de tripsina en el proceso MD-UAT se logra sometiendo muestras de los extractos a condiciones de temperatura y tiempo equivalentes a un tratamiento de ultra alta temperatura.

Para el análisis de esta etapa se seleccionaron muestras de extractos que han experimentado el tratamiento con vapor a 96°C durante dos minutos. Las muestras con carbonato se ajustaron previamente a pH 6,7 con HCl 0,1N, ya que luego del tratamiento por UAT se tiene el producto final, leche de soja, lista para su envasado.

En la Tabla 3 se observa que ambos extractos, con valores iniciales de actividad residual muy diferentes, alcanzan valores aceptables de inhibidores de tripsina al cabo de dos minutos a 139°C. Estas condiciones se logran sin dificultad en el proceso MD-UAT, cuya flexibilidad permite ajustar temperaturas y tiempos a requerimientos específicos de materia prima, medio dispersante o de otros parámetros de procesamiento.

TABLA 3
Inactivación de inhibidores de tripsina en condiciones de ultra alta temperatura a 139°C

Dispersante	Actividad residual de inhibidores de tripsina, %			
	Inicial	1 min.	2 min.	3 min.
Agua	70	32	11	6
Carbonato	36	26	9	5

Los resultados se expresan como el promedio de dos determinaciones.

CONCLUSIONES

1. La etapa de molienda directa de sémola de soja permite eliminar la hidratación previa de los granos, simplificando el proceso y minimizando la oxidación de lípidos. Se obtienen los mejores rendimientos de extracción de sólidos a 70°C durante dos minutos, ya sea empleando agua o solución de carbonato 0,01M como medio dispersante. Al término de esta etapa se logra una importante inactivación de lipoxigenasas, efecto que es muy notable en soluciones de carbonato.
2. En la etapa de tratamiento térmico con vapor, se completa la destrucción de lipoxigenasas en solo 30 segundos de calentamiento de 70°C a 96°C y se logra cierta reducción de inhibidores de tripsina si se mantienen las suspensiones a 96°C, especialmente cuando se emplea carbonato.
3. La etapa final de tratamiento térmico por el sistema UAT, luego de la necesaria separación de sólidos residuales, permite la inactivación de IT en la leche de soja hasta los niveles requeridos, posibilitando simultáneamente la destrucción de microorganismos.

REFERENCIAS

1. Geronazzo H, Macoritto A, Cuevas C, Mercado A, Toro M. Estudios de inactivación de inhibidores de tripsina y rendimiento de sólidos y proteínas en leche de soja obtenida por molienda en caliente y ultra alta temperatura. Anales del I Congreso Ibero-Americano de Engenharia de Alimentos, 1995 Nov 5-9; Campinas (Brasil). Valencia (España): Universidad Politécnica, 1997.
2. Bourne M. Recent advances in soybean milk processing technology. PAG Bull N° 10, 1970; 14-21.
3. Khaleque A, Bannatyne W, Wallace G. Studies on the processing and properties of soy milk. Part I. J Sci Food Agric, 1970; 21:579-83.
4. Wallace G, Bannatyne W, Khaleque A. Studies on processing and properties of soy milk. J Sci Food Agric, 1971; 22:526-31.
5. Nelson A, Steinberg M, Wei L. Illinois process for preparation of soymilk. J Food Sci, 1976; 41:57-61.
6. Johnson K, Snyder H. Soy Milk: a comparison of methods on yields and composition. J Food Sci. 1978; 43:349-53.
7. Wilkens W, Mattick L, Hand D. Effect of processing method oxidative off flavors of soybean milk. Food Technol. 1967; 21:86-9.
8. Johnson L, Deyoe C, Hoover W, Schwenke J. Inactivation of trypsin inhibitors in aqueous soybean extracts by direct steam infusion. Cereal Chem. 1980; 57(6):376-9.
9. Johnson L, Hoover W, Deyoe C, Erickson L, Johnson W, Schwenke J. Modeling the kinetics of heat inactivation of trypsin inhibitors during steam-infusion cooking of soymilk. Transactions of the ASE, 1980; 1326-9.
10. Tuitemwong P, Erikson L, Fung D, Tuitemwong K. Effect of processing temperatures on microbiological and chemical quality of soy milk produced by rapid hydration hydrothermal cooking. J Food Processing and Preservation. 1993; 17:153-75.
11. Geronazzo H, Macoritto A, Blesa O. Elaboración optimizada de bebidas analcohólicas no carbonatadas: una experiencia de transferencia tecnológica. La Alimentación Latinoamericana. 1993; N° 195, 41.
12. Robin J, Macoritto A, Geronazzo, Blesa O. Obtención de harina de soja por molienda húmeda. La Alimentación Latinoamericana. 1993; 197:58-60.
13. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis AOAC. 16th ed. 1995.
14. Hildebrand D, Hymowitz T. Two soybean genotypes lipoxigenase-1. JAOCS, 1981; 5:583-6.
15. Ostergaard A, Adler-Nissen J. Thermal denaturation of lipoxigenase from soya beans in the presence of its natural substrate. Lebensm Wiss u Technol. 1988; 21:8-12.
16. Al-Obaidy H, Siddiqui A. Properties of broad beans lipoxigenases. J Food Sci. 1981; 46:622-5.
17. Kakade M, Racki J, Mc Ghee J, Pusking G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. Cereal Chem. 1974; 51:376.
18. Wolf J. Lipoxigenase and flavor of soybean protein products. J Agr Food Chem. 1975; 23 (2):136-41.
19. Sessa D. Biochemicals aspects of lipid-derived flavor in legumes. J Agric Food Chem. 1979; 27 (3):234-9.

20. Kinsella J, Damodaran S. Flavor problems in soy proteins: origin, nature, control and binding phenomena. In: Charalambous G, editor. The analysis and control of less desirable flavor in foods and beverages. New York: Academic Press, Inc. 1980; 95-131.
21. Laakso S, Esa-Matti L. Milk casein inhibitor of lipoxygenase-catalyzed lipid peroxidation. *J Agric Food Chem*, 1982; 30:913-6.
22. Obara T, Watanabe Y. Heterogeneity of Soybean trypsin inhibitors. Heat inactivation. *Cereal Chem*. 1971; 48:523-6.
23. Ellenrieder G, Geronazzo H, Bondoni A. Thermal inactivation inhibitors in aqueous extracts of soybean, peanuts and kidney beans: presence of substances that accelerate inactivation. *Cereal Chem*. 1980; 57(1):25-7.
24. Ellenrieder G, Blanco S, Bondoni A. Thermal inactivation of inhibitors in aqueous extracts of soybean. Studies on substances that accelerate inactivation. *Cereal Chem*. 1981; 58(4):291-3.

Recibido: 14-11-1996

Aceptado: 17-11-1997

Métodos de extracción de quitina a partir de cáscara de camarón

*Araceli Pinelli Saavedra, Alma Rosa Toledo Guillén, Ingrid Rebeca Esquerro Brauer, Alma Rosa Luviano Silva,
Inocencio Higuera Ciapara*

Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora, México

RESUMEN. Los desechos de cáscara de camarón procedentes de las plantas congeladoras de Guaymas Sonora, Mex., fueron estudiadas como fuente de biopolímeros de quitina de alto valor agregado. En la Parte I, se estudió el efecto de las diferentes condiciones de aislamiento de la quitina y las características químicas. La proteína y materia mineral fueron eliminados con tratamiento álcali y ácido respectivamente.

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x2x3 para evaluar el efecto de las variables de proceso. Fueron utilizadas concentraciones de 0.4% y 2% de NaOH durante la desproteínización, HCl en concentraciones de 3% y 5% a temperaturas de 40, 50 y 60°C durante la desmineralización. En base al contenido de cenizas, quitina y rendimiento de quitina, las mejores condiciones de proceso de desproteínización fueron NaOH al 2%, y desmineralización con HCl al 5% a 50°C.

En la Parte II, se evaluaron los mejores métodos de aislamiento de quitina y quitosano reportados en la literatura, así como el mejor de aquellos usados en la parte I, para un escalamiento a planta piloto. La pureza de las muestras de quitina fueron analizadas en términos de contenido de proteína residual, cenizas y quitina. Dos procesos fueron establecidos para producir quitina de alta calidad (0,00% proteína, 0,01% cenizas, 99,99% quitina), y quitina de grado práctico (0,00% proteína, 0,09% cenizas, 99,13% quitina).

Ambos productos fueron considerados aceptables y su producción podría ser a escala piloto siempre y cuando se optimicen las condiciones de proceso.

Palabras clave: Cáscara de camarón, biopolímeros, desproteínización, desmineralización.

SUMMARY. Shrimp shell waste as a source of chitin biopolymers. Shrimp shell waste obtained from several industrial freezing-purchasing plants of Guaymas, Sonora, Méx., was studied as a source of value-added chitin biopolymers. In part I, the effect of different isolation conditions on the chitin yield and chemical characteristic, was investigated. Protein and mineral matter were removed with alkali and acid treatment respectively.

A 2x2x3 factorial a way of a completely randomized design was used in order to evaluate the effect of the process variables, namely, NaOH concentration (0.4 and 2%) during the deproteinization and HCl concentration (3 and 5%) carried out at 40, 50 and 60°C. The best processing conditions were desproteinization with 2% NaOH, and demineralization with 5% HCl at 50°C, in terms of final ash and chitin content and yield.

In part II, a selection of methods of isolation of chitin and chitosan was studied in order to establish the best conditions for scaling up a process to pilot plant level. The processing conditions were selected from reported methods as well as from those defined in part I. Purity of chitin samples was determined in terms of residual protein, ash and chitin each one to produce high quality chitin (0,00% protein, 0,01% ash, 99,99% chitin) and standard grade chitin (0,00% protein, 0,09% ash, 99,13% chitin).

Both products were considered as of adequate quality and their manufacture process could be scaled up by further optimization of the processing conditions.

Key words: Shrimp shell, biopolymers, deproteinization, demineralization.

INTRODUCCION

La quitina es el polisacárido natural más abundante en la naturaleza que contiene aminoazúcares, y está asociado con proteínas y minerales. En la actualidad este biopolímero se obtiene industrialmente aislándolo de desperdicios generados en el procesamiento de crustáceos, tales como caparazones de camarón y jaiba (1).

En México, el camarón proveniente del litoral del Pacífico se exporta en parte en la categoría pelado-desvenado, lo que genera una cantidad considerable de cáscara que es desechada, la cual contiene cantidades significativas de quitina que con un método y tecnología apropiada podría utilizarse con buenos resultados.

La quitina es un biopolímero de cadena larga constituido por unidades de N-acetilglucosamina, unida por enlaces β -1-4 y junto con su derivado deacetilado más importante quitosano, constituyen parte de la dieta alimenticia. Ambos están contenidos en mariscos, champiñones, levaduras y algunos quesos, por lo que se cree que estos polímero no son tóxicos. Recientemente se ha descubierto que además ofrecen una gran variedad de aplicaciones potenciales en la industria de los alimentos, y otras basadas en sus propiedades catiónicas, biológicas y químicas (2).

El propósito del presente trabajo fue estudiar la influencia de diversas condiciones de extracción sobre el rendimiento y características químicas de quitina de pureza relativamente alta (grado práctico), a partir de cáscara de camarón (*Penaeus*

sp), además de estandarizar metodologías reportadas en la literatura con la finalidad de establecer un proceso de producción para la obtención de quitina (grado práctico y alta calidad) a nivel piloto. Esto, ante la necesidad de incrementar la competitividad de la industria camaronesa nacional y dado el creciente número de aplicaciones que se han ido encontrando a estos biopolímeros en el mundo actual.

MATERIALES Y METODOS

Una muestra de cáscara de camarón del género *Penaeus*, proveniente de la operación pelado-desvenado, realizada en plantas congeladoras del Puerto de Guaymas, Sonora, México, se utilizó como materia prima en estos estudios. La cáscara se trató térmicamente a 80°C por 30 minutos con la finalidad de inactivar enzimas hidrolíticas. Posteriormente se secó en un secador túnel Proctor & Schwartz modelo KI6978 durante 18 horas a 70°C y se molió en un molino de martillo Wiley modelo 4 con tamaño de partícula 200 micras.

Se han reportado varios procedimientos para la extracción de quitina de origen marino (2-3). En el tratamiento químico, la proteína, el carbonato de calcio y la quitina pueden separarse y procesarse en distintas etapas, en las que se utilizan soluciones cáusticas para eliminar proteínas seguidas de ácidos para remover la materia mineral.

Este trabajo se llevó a cabo en dos partes, las cuales se describen a continuación:

Parte I

Desproteínización. A la cáscara seca se le extrajo la proteína utilizando una solución de NaOH al 0,4% y 2%, con una relación soluto: solvente de 1:7. Se mezcló con un agitador magnético a una temperatura de 60°C (± 1) durante 60 minutos, filtrándose y lavándose después con agua destilada hasta eliminar el NaOH (pH 7,0-7,5).

Desmineralización. Para remover la materia mineral presente en la cáscara se agregó HCl al 3% y 5% y se sometió a un tratamiento térmico por 120 minutos, a 40, 50 y 60°C. Posteriormente se hicieron varios lavados hasta eliminar el ácido y después se secó en una estufa de convección VWR modelo 1430, a 50°C por 18 horas.

Caracterización de Quitina. En todas las muestras obtenidas se llevaron a cabo determinaciones del contenido de quitina por el método de Black & Schwartz (4) y del porcentaje de cenizas por un período de 6 horas a 900°C en un mufla (5). El rendimiento de quitina para cada corrida se calculó de acuerdo a la relación:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Quitina obtenida (g)}}{\text{Quitina disponible en muestra original (g)}} \times 100$$

donde:

Quitina obtenida = (g quitina base seca) (% quitina determinada)

Quitina disponible = (g de cáscara) (0.39)*

*0.39 valor potencial de quitina en caparazones de mariscos (6).

El rendimiento se utilizó como una medida de eficiencia del proceso, ya que relaciona tanto la cantidad de quitina como de pureza en términos de materia mineral residual.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial (2 concentraciones de NaOH x 2 concentraciones de HCl x 3 temperaturas) con dos repeticiones por celda, los resultados fueron analizados por medio de un análisis de varianza (7).

Parte II

En la literatura publicada no se da una secuencia detallada del proceso de extracción de quitina con tiempos, temperaturas o relaciones soluto-solventes. Además, la información es de carácter general y aplicada a desperdicios de otros crustáceos, no se enfoca a camarón azul (*Penaeus stylirostris*) o café (*Penaeus californiensis*). Por lo anterior, se requirió probar ciertas variables de proceso, con el objeto de estandarizar las técnicas elegidas y la resultante en la Parte I, para así establecer un proceso de producción en planta piloto considerando dos grados de pureza, uno práctico y otro de alta calidad.

La desmineralización con ácido sulfuroso, empleada por Johnson y Peniston (8), es económicamente atractiva sólo en operaciones comerciales muy grandes, pues su principal ventaja la constituye un sistema de recirculación bastante costoso. Para operaciones comerciales de pequeña y mediana escala el HCl sigue siendo la única opción viable.

Con el propósito de eliminar el carbonato de calcio y sales inorgánicas presentes y proteínas se prefiere un procedimiento que incluye una etapa de desmineralización con HCl seguida de desproteínización con NaOH, y no el proceso combinado en el que se desmineraliza con EDTA y se desproteíniza con bacterias (9). Whistler (10) indicó que la desproteínización con álcali puede usarse y se prefiere cuando el producto final es quitosano. Basados en estos criterios se escogieron las extracciones que emplean soluciones acuosas de NaOH y HCl.

En todos los experimentos se desproteínizó antes de desmineralizar, con la ventaja de así maximizar el uso benéfico del álcali para mejorar el rendimiento y la calidad, así como para evitar la contaminación de proteína presente en los efluentes de la desmineralización (8).

En la etapa de decoloración se evaluó el uso de etanol en vez de peróxido de hidrógeno, de acuerdo a la técnica de Whistler (10, para la cual se hizo una comparación hedónica en aspecto y calidad, de las quitinas obtenidas con el peróxido de hidrógeno sugerido).

En la Tabla 1 se presentan las condiciones de extracción seguidas en la Parte II del trabajo de laboratorio.

TABLA 1
Condiciones de extracción seguidas en la parte II del trabajo de laboratorio

	Desproteínización	Desmineralización	Decoloración
T1 ^a	1 Tratamiento NaOH al 2% (1:7) ^d , t=1 hora T=60°C	1 Tratamiento HCl al 5% (1:7) ^d , t=2 horas T=50°C	1 Tratamiento H ₂ O ₂ al 3% (1:7) ^d , t=48 horas
W1 ^b	3 Tratamientos NaOH al 5% (1:7) ^d , t=30-45 min T=85-90°C	1 Tratamiento HCl al 5% (1:7) ^d , t=24 horas	1 Tratamiento H ₂ O ₂ al 3% (1:7) ^d , t=20 horas
W2 ^b	3 Tratamientos NaOH al 5% (1:7) ^d , t=30-45 min T=85-90°C	1 Tratamiento HCl al 5% (1:7) ^d , t=24 horas	2 Tratamientos C ₂ H ₅ OH al 95% (1:42) ^d , t ₁ =4 h. t ₂ =2 horas
W3 ^b	3 Tratamientos NaOH al 5% (1:6) ^d , (1:4) ^d , (1:4) ^d t=30-45 min T=85-90°C	1 Tratamiento HCl al 5% (1:7) ^d , t=24 horas	1 Tratamiento H ₂ O ₂ al 5% (1:10) ^d , t=6 horas
A1 ^c	2 Tratamientos NaOH 1N (1:50) ^d , t ₁ =6 horas t ₂ =30 horas, T=60°C	2 Tratamientos HCl 2N (1:50) ^d , t=24 horas	1 Tratamiento C ₂ H ₅ OH al 95% (1:42) ^d , t=6 horas
A2 ^c	2 Tratamientos NaOH 1N (1:50) ^d , t ₁ =6 horas t ₂ =30 horas, T=53°C	2 Tratamientos HCl 2N (1:50) ^d , t=24 horas	1 Tratamiento C ₂ H ₅ OH al 95% (1:42) ^d , t=6 horas

- a Modificación de la técnica establecida en la Parte I del Trabajo de Laboratorio (corrida 8).
b Modificación de la técnica de Whistler (1973).
c Modificación de la técnica de Shimahara et al. (1984).
d Relación soluto-solvente.

Caracterización química de quitina. Las quitinas aisladas se caracterizaron en términos de: contenido de proteína, conforme a la técnica de Takiguchi et al. (11), porcentaje de cenizas, de acuerdo a Rutherford et al. (12) y contenido de quitina según Naczky y Shahidi (13).

RESULTADOS Y DISCUSION

Parte I

Los resultados del aislamiento de quitina se analizaron por medio de un análisis de varianza. Para establecer las condiciones óptimas del aislamiento de quitina se consideraron el contenido de quitina, cenizas (materia mineral) y rendimiento como parámetros de calidad.

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos de contenido de quitina, cenizas y rendimiento.

TABLA 2
Contenido de quitina, cenizas y rendimiento.
Parte I del trabajo de laboratorio

Corrida	HCl g/100	NaOH g/100	Temperatura °C	Quitina g/100	Cenizas g/100	Rendimien- to g/100
1	3	0,4	40	84,76	6,83	85
2	5	0,4	40	73,60	0,48	74
3	3	2	40	83,61	6,43	97
4	5	2	40	82,83	0,10	88
5	3	0,4	50	71,91	9,60	83
6	5	0,4	50	81,15	0,36	65
7	3	2	50	76,24	3,10	79
8	5	2	50	83,88	0,41	94
9	3	0,4	60	76,87	13,45	86
10	5	0,4	60	66,60	0,02	70
11	3	2	60	88,55	4,55	90
12	5	2	60	66,17	0,16	72

La corrida en negritas fue seleccionada como la mejor

Quitina. Los resultados para este parámetro mostraron que las tres variables estudiadas tienen un efecto significativo ($p < 0,001$) en el proceso sobre la cantidad final de quitina. La interacción % HCl-temperatura de desmineralización resultó significativa ($p < 0,001$); resultando que la combinación óptima es la concentración alta de HCl (5%) a temperatura de 50°C.

Cenizas. Para este parámetro los resultados indican que hay un efecto significativo ($p < 0,001$) para los tres factores, para las tres interacciones dobles y para la interacción triple (% HCl-% NaOH-temperatura de desmineralización) indicando esta última que no es posible analizar aisladamente ninguna de las variables. En este caso únicamente se pueden seleccionar las quitinas provenientes de aquellas corridas que minimizan el contenido final de cenizas, que es menor al 1%, como reporta la literatura (14). Los resultados muestran claramente que la concentración alta de HCl (5%) favorece la eliminación de materia mineral.

Rendimiento. Los resultados para este parámetro mostraron la misma tendencia que los anteriores, ya que la interacción triple (% HCl-% NaOH-temperatura de desmineralización) resultó altamente significativa ($p < 0,001$).

Al conjuntar los datos obtenidos en las 12 corridas experimentales con los tres parámetros evaluados (quitina, cenizas, rendimiento) para seleccionar las condiciones óptimas de aislamiento de quitina grado práctico, las corridas 2, 4 y 8, se eligieron como las mejores (Tabla 2). Sin embargo, la corrida 8 al presentar un mayor rendimiento (94%), un contenido relativamente bajo de materia mineral (0,41%) y un alto contenido de quitina (83,88%) resultó la más adecuada para

producir quitina de grado práctico a mayor escala.

Parte II

Los resultados obtenidos, que permiten evaluar la pureza de las muestras de quitina obtenidas y la eficiencia en las etapas de extracción, se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3
Caracterización de las quitinas extraídas.
Parte II del trabajo de laboratorio

Método	Proteína g/100	Cenizas g/100	Quitina g/100
T	2,3	0,4100	84,7912
W1	0,0	0,0949	99,1310
W2	0,0	13,4035	84,9789
W3	0,0	0,1397	99,0116
A1	0,0	0,0101	99,9936
A2	0,0	0,0199	99,8597

Las corridas en negritas fueron las seleccionadas.

En los datos presentados se observa que en la corrida A₁ se obtuvieron resultados altamente satisfactorios, ya que presentan un mayor grado de pureza (proteína 0,00%; cenizas 0,01% y quitina 99,99%) comparados con los otros tratamientos, por lo que se seleccionó esta metodología para un posterior procesamiento en planta piloto de quitina de alta calidad.

En cuanto a la producción de quitina de grado práctico, es importante considerar para elección de los procedimientos de extracción a nivel piloto, además de la calidad del producto final, los gastos de procesamiento en plantas; con este criterio se seleccionó la corrida W₃. Esta corrida como se muestra en la Tabla 1 requirió de una menor cantidad de NaOH, por utilizar un a relación soluto-solvente más baja que las restantes en la etapa de desproteinización y por presentar resultados satisfactorios.

Los resultados para la obtención de quitina de alta calidad de la extracción A₁ fueron superiores en calidad en cuanto a contenido de proteína (0,00%) y cenizas (0,001%) comparados con los resultados reportados por Shimahara y Takigushi (9) para proteína (0,00%) y cenizas (0,1%). Con respecto a la quitina grado práctico de la extracción W₃ se obtuvo igualmente un resultado superior con el contenido de proteína que fue de 0,14% comparado con lo reportado por Whistler (10), que fue de 0,4%-0,5% de proteína.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que las características logradas en las extracciones A₁ y W₃ resultaron satisfactorias, y puede intentarse partir de estas quitinas aisladas para obtener las de productos comerciales existentes, si una vez incorporadas a un

escalamiento, se llevan a cabo corridas experimentales para lograr su estandarización y características adicionales.

Es importante señalar que en un procesamiento en planta se debe tener especial cuidado en la recolección de la cáscara de camarón, ya que se descompone fácilmente. Es por ello que se sugiere que la cáscara de camarón sea tratada en las plantas congeladoras, para su posterior transporte o bien la recolección deberá hacerse en las primeras y últimas horas del día para minimizar la exposición a altas temperaturas de la cáscara de camarón.

REFERENCIAS

- Knorr D. Use of chitinous polymers in food, a challenge for food research and development. *Food Technology*, 1984; 38:1-85.
- Roberts GA. *Chitin Chemistry*. Mac. Millan Press Ltd. London, 1992; p.54-58.
- Ashford NA, Hattis D, Murray A. Industrial prospectis for chitin and protein from shellfish wastes. MIT Sea Grant Program. Cambridge Mass. USA. 1987.
- Black MM & Schwartz HM. Estimation of chitin and chitin nitrogen in crawfish waste and derived products, *Analyst* 1950; 75:185.
- Muzzarelli RA. Chitin. En: *Natural chelating polymers*. Pergamon, Press. 1973; p.417-450.
- Allan G, Fox JR & Kong N. A critical evaluation of the potential sources of chitin and chitosan. En: *Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan*. Muzzarelli RA & Pariser ER (Eds) MIT Sean Grant Programm, 1978; p.p.64-78.
- Box GE, Hunter WG, Hunter JS. *Statistics for experiments*. John Wiley & Sons Inc. 1978; p.372-354.
- Johnson EL & Peniston QP. Utilization of shellfish waste for chitin and chitosan production. En: *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. Martin REW, Flick GJ & Ward DR (Eds). Westport, Conn, The AVI Publishing Co. 1982; p.417-423.
- Shimahara K & Takiguchi Y. Preparation of crustacean chitin. En: *Methods in Enzymology* (Ed). Academic Press, Inc. 1988; p. 417-423.
- Whistler R L. Chitin. En: *Industrial Gums, Polysaccharides and Their Derivatives* (Ed). Academic Press, Inc. 1988; p.417-423.
- Takiguchi Y, Ohkouchi K, Yamshita H & Shimahara K. A new method for quantitative determination of protein associated with crustacean chitin. *Nippon Nogei, Kagaku Kaishi*. 1987; 61:437.
- Rutherford FA & Austin PR. Marine chitin properties and solvents. En: *Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan*. Muzzarelli RA & Pariser ER (Eds). MIT Sean Grant Programm, 1978; p.182-192.
- Nacz M & Shahidi F. Chemical composition and chitin content of crustacean offal. En: *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability*. Voigt MN & Botta JR (Eds). Technomic Publishing Co., Inc. 1990; p.299-304.
- Muzzarelli RA. New derivates of chitin and chitosan. En: *New Developments in Industrial Polysaccharides*. Crescenze B, Dea ICM y Stivala SS (Eds). Gordon and Breach Science Publishers. 1985.

Recibido: 23-07-1996

Aceptado: 29-01-1998

A test to detect cane-sugar-honey

Patricia Vit

Departamento Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

SUMMARY. A manual procedure for simple detection of cane sugar honey is described in terms of a visual reaction of honey, water and diethyl ether mixtures. Analyses of 30 samples of genuine honey were contrasted with 30 samples of cane-sugar-honey from Venezuela, and discriminated correctly by the proposed method.

Key words: Cane sugar honey, genuine honey.

RESUMEN. Un test para detectar fraudes de miel de abejas a base de azúcar. Se describe un procedimiento manual para detectar miel de abejas preparadas a base de azúcar de caña. El método propuesto consiste en la producción y observación de una reacción visual de mezclas de miel, agua y éter dietílico. Se analizaron 30 muestras de miel genuina y 30 muestras de fraudes de miel de abeja en Venezuela, las cuales fueron identificadas en el grupo correcto por el método propuesto.

Palabras clave: Miel de abejas, azúcar de caña.

INTRODUCTION

Problems arising from evermore fraudulent foodstuffs in the market stimulate the expansion of food analysis methodology. Considerable ingenuity is required to develop effective tests which are economical and reliable. Honey frauds made with cane sugar are common in developing countries; they depress the market price of honey and damage the application of honey for natural folk medicine. The control of cane-sugar-honey is complex because a well coordinated action between official authorities and qualified laboratories is required.

Quality factors of commercial honeys from Venezuela were previously studied in 500 samples collected in 1985-1988 (1). Experimental observations of the hydroxymethylfurfural (HMF) extractive mixture were foreseen as a possible means to differentiate fraudulent and genuine honeys.

The objective of this work was to develop a kit to detect cane-sugar-honey to provide an easy, rapid and reliable test for honey consumers in Venezuela.

MATERIALS AND METHODS

Samples

The detection test was done in thirty cane-sugar-honey and thirty genuine honey of commercial origin, collected in the Venezuelan market. These samples were previously analysed for water content, acidity, reducing sugars, sucrose, ash, hydroxymethylfurfural, diastase and nitrogen, to confirm their nature (2). The honey sediment was mounted following the method of the International Commission of Bee Plants (3). Additional microscopic observations of the sediment following

the technique suggested by Kerkvliet et al. (4) agreed with the previous chemical characterisation, pollen was always present in genuine honeys while vessel rings were distinctive for cane-sugar-honey.

Design of a new instrument suitable for kit test

Accuracy and easy handling to measure fixed volumes of liquids or solids, to mix reagents and to observe the mixture, were the requirements of the tube to be included in the kit for honey analysis. The prototype used in the present work consisted of a three-mark glass tube with aluminium piston and cap provided with o-rings for air tight purposes.

Test

A fixed volume (1 mL) of either liquid or crystallised honey was diluted with the same volume of water. The piston enabled volumetric measurements and the required expansions for effective mixing inside the tube. A double volume (2 ml) of diethyl ether was added to the honey dilution and vigorously shaken with twenty up and down movements of the hand. The mixture was settled vertically and the number of phases was observed one minute later. The volume of the intermediate phase was measured with a calibrated scale

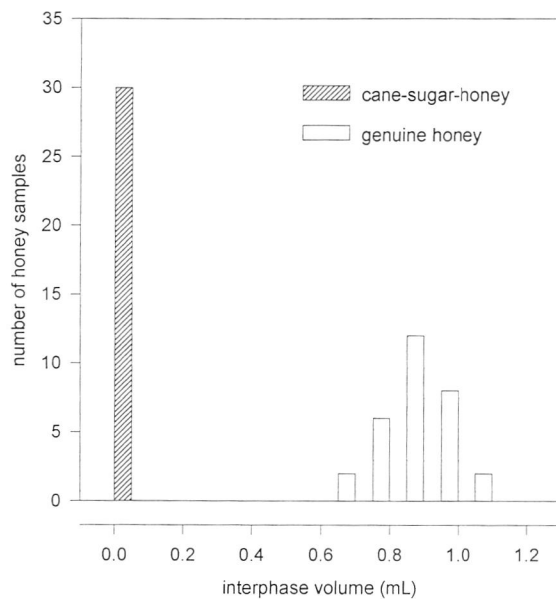
RESULTS

Volume variations of the intermediate phase are presented in Fig. 1. Cane-sugar-honeys presented two phases while genuine honeys presented three phases. The intermediate phase was lacking in cane-sugar-honeys, while this phase covered a range comprised between 0.7 mL and 1.1 mL in genuine honeys. This fact is better illustrated by the results of

the proposed test in Fig. 2a, where tube A contains the genuine honey and tube B contains the cane-sugar-honey. Fig. 2b is a micrograph of the intermediate phase, which was present only in genuine honey mixtures.

FIGURE 1

Variations of interphase volume in genuine honey and cane-sugar-honey

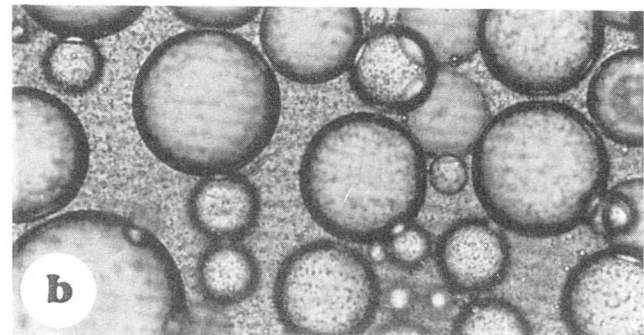
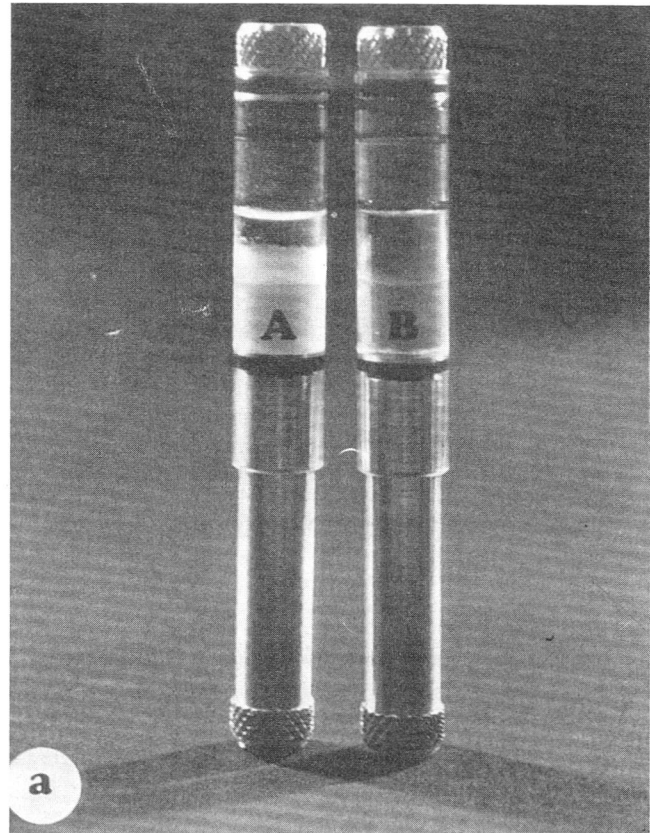


DISCUSSION

The presence or absence of the intermediate phase in honey, water and diethyl ether shaken mixtures, was distinctive according to the nature of honeys under examination (Fig. 2a). Cane-sugar-honeys never presented this phase, that was characteristic and varying in volumes for genuine honeys (Fig. 1). Since honey is a natural product, there are numerous constituents that can generate differences in rheological behaviour when compared with cane-sugar-honey, under the test conditions. A possible protein relation with this phenomenon is supported by the fact that the nitrogen content was significantly higher in genuine honey than in cane-sugar-honey (5). The proteins present in honey but not in fraudulent imitations, can therefore be involved in the films originated by liquid-air interactions, giving rise to bubbles that were stable for more than 24 hours in the test tube. These bubbles (Fig. 2b) followed a contraction and collapse pattern when a drop of the intermediate phase was mounted on an uncovered slide and was observed with light microscope.

FIGURE 2

a) Phase patterns observed in genuine honey (A) and cane-sugar-honey (B) mixtures. A lower aqueous phase and upper diethyl ether phase were present in both genuine and fraudulent honey, but the intermediate phase was formed only in genuine honey. b) Characteristic bubbles of the intermediate phase



100 μm

The main controversies for this test could be based on whether or not it will work for adulterated honey mixtures of cane-sugar-honeys with genuine honeys. Even if this is a serious problem for the honey market in several countries, this was not the problem for commercial honeys from Venezuela. This test can produce a false negative for such mixtures, but further research focusing to both the sensibility and the limits of the test should make it suitable to solve different problems concerned with fraudulent honey. It will be of great interest to extend this study in commercial honeys originated in other countries with similar problems to the Venezuelan market.

The measurement of a non conventional honey quality factor explored in this work, can be considered as a contribution to approach the detection of fraudulent honey in the market. Information on a larger number of honey components will increase the probability of detection of honey frauds (6). Both the absence of intermediate phase in honey, water and diethyl ether shaken mixtures studied here, and the presence of cane sugar tissue residues with the microscopic procedure described by Kerkvliet et al. (4), offer a broader range of cane-sugar-honey detection by consumers and qualified analysts, respectively.

The present study offers a proposal for simple detection of cane-sugar-honey, based on the differential behaviour of honey, water and diethyl ether mixtures. Work is in progress to facilitate observations of the test result by colouring the reagent.

ACKNOWLEDGMENTS

The work described above was supported by the Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico at the University of The Andes, Mérida, Venezuela. The author is indebted to Vanguardia de Industrias Tecnológicas (VITCA), Punto Fijo, Venezuela for the mechanical manufacture.

REFERENCES

1. Vit P, González de Martorrellu I & López-Palacios S. Clasificación de mieles comerciales venezolanas. Arch Latinoam Nutr 1994; 44:47-56.
2. Vit P. Miel de Abejas. Cuaderno de Ciencia de los Alimentos N° 1. Consejo de Publicaciones-Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 1993; p.97.
3. Louveaux J, Maurizio A & Vorwohol G. Methods of Melissopalynology. Bee World, 1978; 59:139-157.
4. Kerkvliet JD, Shresta M, Tuladar K & Manandhar H. Microscopic detection of adulteration of honey with cane sugar products. Apidologie, 1995; 26:131-139.
5. Vit Olivier P. Utilidad de la determinación del contenido de nitrógeno en el control de calidad de mieles venezolanas. Acta Científica Venezolana, 1987; 39:511-512.
6. White JW Jr & Rudyj ON. The protein content of honey. J Apicult Res, 1978; 17:234-238.

Recibido: 02-06-1997

Aceptado: 11-11-1997

Avaliação dos teores de ferro nos alimentos da cesta básica

Eliane Rose Serpe Elpo, Renato João Sossela de Freitas, Eliane Carneiro Gomes

Universidade Federal do Paraná

RESUMO. Determinou-se os teores de ferro nos alimentos da cesta básica adquiridos no comércio de Curitiba, utilizando-se como técnica analítica a espectrofotometria de absorção atômica. Os resultados obtidos registraram valores de ferro para as amostras de farinha de trigo (mg/kg): 9,40 a 17,60; pão francês, 7,04 a 12,80; café, 45,76 a 49,21; batata inglesa, 3,56 a 5,65; tomate, 6,94 a 15,10; banana caturra, 7,59 a 15,20; arroz, 5,49 a 11,06; feijão, 59,84 a 78,75; carne, 9,48 a 34,29; leite pasteurizado tipo C, 0,33 a 1,20; óleo de soja, 0,47 a 0,76; açúcar refinado, 1,02 a 1,53, e margarina, 1,50 a 2,06. Em relação ao ferro, a legislação brasileira não estabelece limite máximo de tolerância em alimentos, com exceção do óleo de soja e da margarina, com 1,50 mg/kg. Os conteúdos de ferro nas amostras analisadas apresentaram-se dentro da faixa de variação registrada por vários autores de diversos países.

Palavras chave: Ferro, alimentos.

SUMMARY. Evaluation of iron contents in foods of the basic diet. The components of the basic food diet available at the food markets in Curitiba were evaluated according to their contents of iron. The method used for this analysis was atomic absorption spectrophotometry. The results obtained for samples of wheat flour were (mg/kg): 9,40 to 17,60; bread 7,04 to 12,80; coffee 45,76 to 49,21; potato 3,56 to 5,65; tomato 6,94 to 15,10; banana 7,59 to 15,20; rice 5,49 to 11,06; bean 59,84 to 78,75; meat 9,48 to 34,29; pasteurized milk 0,33 to 1,20; soy-bean oil 0,47 to 0,76; refined sugar 1,02 to 1,53 and margarine 1,50 to 2,06. There is no specific legislation in Brazil defining an upper limit of tolerance of iron in the food, except for soy-bean oil and margarine with a maximum of 1,50 mg/kg. The levels of iron analysed here were within the scale of variation reported by several authors from other countries.

Key words: Iron, food.

INTRODUÇÃO

A disponibilidade biológica do ferro dos alimentos é muito variável. Em geral, o ferro dos alimentos de origem animal (Ferro hemático) é mais disponível biologicamente, podendo ser assimilado na proporção de 15 a 30% do total existente no alimento. Ao contrário, os alimentos de origem vegetal contêm principalmente ferro nas formas não hemáticas, e a porcentagem de biodisponibilidade do ferro nesses alimentos está em geral entre 5 e 10%, podendo variar entre 0 e 15% (1).

A fortificação alimentar tem sido vista como a melhor estratégia no combate à anemia. Como solução, foi desenvolvido um novo composto quelato, no qual os aminoácidos atuam como ligantes. Essa estrutura do quelato contém glicina-ferro-glicina com um conteúdo de 20% de ferro (2).

Estudos realizados por Pineda et al. (3), demonstraram que 30 mg de ferro aminoquelato foram tão efetivos em alimentar os níveis de hemoglobina como 120 mg de sulfato ferroso, além de não produzir alterações gastrointestinais.

Pesquisa em que a Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo utilizou leite fortificado com ferro aminoquelato, constatou diminuição significativa na prevalência da anemia ferropriva entre as crianças alimentadas com essa fórmula (4).

Fisberg et al. (5) também empregaram o ferro aminoquelato

(2 mg) na fortificação de queijo Petit-Suisse (90 g), que foi utilizado na merenda de pré-escolares, obtendo ao final de três meses diminuição significativa na porcentagem de crianças com deficiência de ferro, além de elevar os níveis de hemoglobina.

A utilização do ferro aminoquelato na fortificação de biscoitos e pão também são pesquisados, mostrando assim a elevada biodisponibilidade desse tipo de ferro.

Grandes quantidades de ferro são tóxicas. As quantidades de 2 a 10 g ingeridos de forma aguda são fatais. Geralmente, tais níveis são atingidos por ingestão acidental de ferro medicinal por crianças entre as idades de 12 a 24 meses ou através de tentativas de suicídio (6).

Existem raras condições patológicas caracterizadas por uma quantidade excessiva de ferro livre no organismo, a hemocromatose. É uma doença genética na qual há excesso de depósito de ferro no fígado, coração, pâncreas, pele e outros órgãos (1,6-8).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os níveis de ferro nos alimentos da cesta básica à disposição no mercado consumidor de Curitiba, utilizando-se como técnica analítica a espectrofotometria de absorção atômica.

MATERIAL E MÉTODOS

O teor de ferro foi determinado nos treze tipos de alimen-

da cesta básica, representados por três a seis amostras de cada product, de marcas ou procedências diferentes, obtidos no comércio de Curitiba, Paraná.

O método empregado foi baseado nas técnicas descritas pelas normas da AOAC (9), Freitas et al. (10) e Perkin-Elmer (11).

As determinações analíticas para o elemento em referência foram feitas no espectrofotômetro de absorção atômica com chama, modelo C.G. A-7000 BC, seguindo-se manual do aparelho (12).

RESULTADOS

O teor de ferro determinado nas amostras dos 13 tipos de alimentos analisados, pertencentes à cesta básica, pode ser visualizado na Tabela 1.

TABELA 1

Teor de ferro nas amostras de alimentos da cesta básica

Alimentos	Nº de amostras	Umidade %	Ferro (mg/kg)		
			Min	Max	Med
Farinha de trigo	06	14,83	9,40	17,60	14,21
Pão francês	04	22,37	7,04	12,80	8,92
Café	03	2,21	45,76	49,21	47,49
Batata inglesa	03	76,05	3,56	5,65	4,79
Tomate	05	95,09	6,94	15,10	10,66
Banana caturra	04	72,45	7,59	15,20	10,80
Arroz	03	12,72	5,49	11,06	7,92
Feijão	05	12,83	59,84	78,75	69,99
Carne	06	74,98	9,48	34,29	21,39
Leite pasteuriz. tipo C	06	87,15	0,33	1,20	0,72
Oleo de soja	03	0,50	0,47	0,76	0,59
Açúcar refinado	05	0,18	1,02	1,53	1,22
Margarina com sal	04	15,60	1,50	2,06	1,83

Segundo a legislação brasileira (13), em relação ao ferro, não há limite máximo de tolerância estabelecido para os alimentos, com exceção do óleo de soja e da margarina, com 1,50 mg/kg (14).

O nível máximo de ferro estabelecido pelo Codex Alimentarius é 1,5 mg/kg para óleos e gorduras comestíveis (15).

DISCUSSÃO

Franco (16) registrou valores de ferro para amostras de arroz, 13,00 mg/kg; açúcar, 0 mg/kg; banana, 9,00 mg/kg; batata, 10,00 mg/kg; café em pó, 33,00 mg/kg; carne, 32,00 mg/kg; farinha, 14,00 a 29,60 mg/kg; feijão, 43,00 a 86,00 mg/kg; leite, 1,00 mg/kg; óleo de soja, 0 mg/kg; pão, 12,00 mg/kg; tomate, 16,70 mg/kg e margarina, 0 mg/kg.

Belitz & Grosch (17) analisaram o ferro em amostras de

farinha de trigo, carne, leite, arroz, batatas e tomate, encontrando 11,00 e 19,50 mg/kg; 26,00 mg/kg; 0,46 mg/kg; 6,00 mg/kg; 8,00 mg/kg e 5,00 mg/kg respectivamente.

Os conteúdos de ferro de vários alimentos, registrados por Méranger & Smith (18), foram 1,20 (0,90 a 1,30) mg/kg para o leite; 29,50 (22,20 a 42,80) mg/kg para a carne; 26,20 (20,90 a 35,40) mg/kg para cereais; 14,40 (7,30 a 27,40) mg/kg para a batata; 10,10 (6,90 a 14,30) mg/kg para legumes; 3,90 (2,80 a 6,30) mg/kg para frutas; 9,20 (7,20 a 10,70) mg/kg para óleos e gorduras, e 8,30 (7,60 a 9,00) mg/kg para o açúcar.

Benzo et al. (19) registraram valores respectivos de 117 mg/kg, 132 mg/kg e 33 mg/kg de ferro para amostras de arroz, feijão preto e banana.

Os teores de ferro verificados por Robinson et al. (20) em amostras de café foram 53,00 e 85,00 mg/kg em base seca. Ferreira et al. (21) citaram valores que variaram de 30,03 a 86,45 mg/kg em variedades regionais de Angola.

Zook & Lehmann (22) analisaram níveis de ferro em bananas de diversos países, encontrando 1,72 mg/kg no Equador, 1,46 mg/kg na Guatemala, 2,16 mg/kg no Haiti, 1,38 mg/kg em Honduras, 1,92 mg/kg na Jamaica, e 1,33 mg/kg no Panamá.

Os conteúdos de ferro obtidos por Lopez et al. (23) em amostras de tomate foram 2,40 a 3,40 mg/kg.

O nível máximo de ferro nas amostras da margarina, encontrado por Viladrich Gonzalbez et al. (24) foi 2,01 mg/kg. Pihlaja (25) obteve 0,28 a 0,43 mg/kg de ferro, exceto para uma amostra, que apresentou 2,00 mg/kg.

Mahoney (26) encontrou valores de ferro de 17,40 mg/kg, 20,00 mg/kg, 24,20 mg/kg e 25,40 mg/kg para amostras de pão branco e 18,60 mg/kg para o arroz.

Os teores de ferro verificados por Fonseca et al. (27) em 14 variedades de feijão, dentre elas, o feijão preto, foram de 167,90 a 598,60 mg/kg.

Os valores de ferro analisados por Calapaj et al. (28) nas amostras de óleo de soja foram 0,11 mg/kg. Piccolo & O'Connor (29) observaram de 0,50 a 0,75 mg/kg.

Schroeder (30) determinou teores de ferro em amostras de farinha de trigo e pão branco, encontrando valores de 7,40 e 27,30 mg/kg, respectivamente.

Os níveis de ferro registrados por Jarret (31) para amostras de leite foram 0,37 (0,21 a 0,73) mg/kg; Gunshin et al. (32) encontraram 0,14 mg/kg, 0,16 mg/kg, 0,22 mg/kg e 0,35 mg/kg; Favretto & Marleta (33) apresentaram 0,47 mg/kg, 0,51 mg/kg, 0,52 mg/kg e 0,75 mg/kg; Franco et al. (34) obtiveram 0,33 (0,19 a 0,54) mg/kg e Casey (35), 0,33 mg/kg. Vários autores, mencionados por Jimenez et al. (36), citaram 0,25 a 0,36 mg/kg; 0,29 a 1,53 mg/kg.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, concluiu-se que:

1. Os valores de ferro encontrados nas amostras de óleo de

- soja enquadraram-se aos limites fixados pela legislação brasileira e ao padrão internacional estabelecido pelo Codex Alimentarius.
2. As amostras de margarina com sal apresentaram teores de ferro acima dos limites admissíveis pela legislação brasileira e pelo Codex Alimentarius.
 3. Os conteúdos de ferro nas amostras analisadas apresentaram-se dentro da faixa de variação registrada por vários autores de diversos países.

REFERÊNCIAS

1. Sgarbieri VC. Alimentação e nutrição. Campinas: UNICAMP, 1987; p.142-143.
2. Albion. As mais recentes pesquisas no campo da nutrição humana; fortificação de alimentos. Research Notes, São Paulo, 1994; v. 1, n.1. p.1-4.
3. Pineda O, Ashmead HD, Perez JM, Lemus CP. As mais recentes pesquisas no campo da nutrição humana; fortificação de alimentos. Albion Research Notes, São Paulo, 1994; v.1, n.1, p.1-4.
4. Queiroz SS, Torres MAA. Anemia carencial ferropriva: aspectos fisiopatológicos e experiência com a utilização do leite fortificado com ferro. *Pediatria Moderna*. v.31, edição especial, julho 1995; 11p.
5. Fisberg M, Braga JAP, Kliamca PE, Ferreira AMA, Berezowski M. Utilização de queijo Petit-Suisse na prevenção da anemia carencial em pré-escolares. *Clínica Pediátrica*, 1995; v. 19, n.6, p.14-24.
6. Smith Jr. LH, Thier SO. Fisiopatologia: os princípios biológicos da doença. 2 ed. São Paulo: Editorial Médica panamericana, 1990; p.440-441.
7. Hendler SS. A enciclopédia de vitaminas e minerais. Rio de Janeiro: Campus, 1994; p.134-144.
8. Coutinho R. Noções de fisiologia da nutrição. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica Ltda. 1981; p.227-240.
9. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14 ed. Washington, 1984; 1141p.
10. Freitas RJS, Daher ALK, Santos MAB, Tiboni EB, Cecato E. Técnicas analíticas de alimentos. Curitiba: Instituto de Tecnologia do Paraná, 1979; p.1-114.
11. Perkin-Elmer. Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. Connecticut, (S.M.) 1971.
12. Instrumentos Científicos C.G. Manual do equipamento C.G. AA 7000 BC, São Paulo, 1986.
13. Vigilância Sanitária: Coletânea de atos em vigor pertinentes à atual legislação sanitária. São Paulo: Organização Andrei, 1979; v.2, p.133-136, 177-178.
14. Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. Compêndio da legislação de alimentos: Consolidação das normas e padrões de alimentos, São Paulo, 1992; 2.v.
15. FAO/WHO. Food Standards Programme. Codex Committee on food additives and contaminants. Guideline levels for cadmium and lead in food. Rome, 1989; 4p.
16. Franco G. Tabela de composição química dos alimentos. 8 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992; 230p.
17. Belitz HD, Grosch W. Food chemistry. 2nd. ed. London: Springer Verlag, 1984; 727p.
18. Méranger JC, Smith DC. The heavy metal content of a typical canadian diet. *Canadian J Public Health*, 1972; v.63, p.53-57.
19. Benzo Z, Schorin H, Velosa M. Simultaneous quantitative determination of manganese, iron, copper and zinc by atomic absorption spectroscopy in tropical cereals, fruit and legume materials. *J Food Sc*, 1986; v.51, n.1, p.22-224.
20. Robinson MF, McKenzie JM, Thomson CD, Vanrij AL. Metabolic balance of zinc, copper, cadmium, iron, molybdenum and selenium in young New Zealand women. *Br J Nutr*, 1973; v.30, p.195-205.
21. Ferreira LAB, Fragoso MAC, Peralta MF, Rebelo MC, Silva MCC. Mineral constituents in coffees of Angola. In: Cinquieme colloque international sur la chimie des cafes, (1971: IISBONNE). Asic. Paris: (s.n.), 1973; p.51-62.
22. Zook EG, Lehmann J. Mineral composition of fruits. *Journal of the American Dietetic Association*, 1968; v.52, p.225-231.
23. Lopez A, Willians HL, Cooler FW. Essential elements in tomatoes and canned tomato juice. *J Food Sc*, 1986; v.51, n.4, 1071-1072.
24. Viladrich Gonzalbez E, Forcadell Berenger M, Buxaderas Sánchez S, Mariné-Font A. Determinación de cobre e hierro en grasas comestibles por espectrofotometria de absorción atómica y plasma acoplado por inducción. *Grasas y aceites*, 1986; v.37, p.77-80.
25. Pihlaja H. Determination of traces of metals in Finnish margarins by the flameless atomic spectrophotometry method. *Fette Seifen Anstrich Mittel* 83 Jahrgang, 1981; n.8, p.294-296.
26. Mahoney AW. Mineral contents of selected cereals and baked products. *Cereal Foods World*, 1982; v.27, n.4, p.147-150.
27. Fonseca H, Sarruge JR, Arzolla JDP. Componentes minerais e orgânicos de algumas variedades de feijão. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"-USP*, 1974; v.31, p.509-517.
28. Calapaj R, Criricosta S, Saija G, Bruno E. Method for the determination of heavy metals in vegetable oils by graphite furnace atomic absorption spectroscopy. *Atomic Spectroscopy*, Jul/Aug. 1988; v.9, n.4, p.107-109.
29. Piccolo B, O'Connor RT. Atomic Absorption spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1968; v.45, p.789-792.
30. Schroeder HA. The role of chromium in mammalian nutrition. *Amer J Clin Nutr* 1968; v.21, n.3, p.230-244.
31. Jarret WD. A review of the important trace elements in dairy products. *Austr J Dairy Tech*, 1979; v.34, n.1, p.28-34.
32. Gunshin H, Yoshikawa M, Doudou T, Kato N. Trace elements in human milk, cow's milk and infant formula. *Agric Biol Chem*, 1985; v.49, n.1, p.21-26.
33. Favretto LG, Marletta GP. Contenido di metalli pesanti nel latte e nei prodotti di trasformazione. *La Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione*, 1984; v.13, n.3, p.237-243.
34. Franco MA, Balestrieri F, Sabbatini M, Serra A. Valutazione della concentrazione di ioni metallici presenti nel latte prodotto in Sardegna. *La Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione*, 1981; v.10, n.1, p.35-40.
35. Casey CE. Concentrations of some trace elements in human and cow's milk. *Proceedings of the University of Otago Medical School*. 1976; v.54, p.7-8.
36. Jimenez AM, Herrador MA, Navas MJ, Asuero AG. Elementos traça en alimentos. *Alimentaria*, 1984; n.155, p.51-59.

Recibido: 10-09-1996

Aceptado: 30-10-1997

Presencia de coliformes totales, *Escherichia coli* y *Listeria* sp. en fórmulas enterales

Ma. Laura Arias, Rafael Monge, Julia Rodríguez

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

RESUMEN. Se evaluó la presencia de coliformes totales, *E. coli* y *Listeria* sp. en 65 muestras de fórmulas enterales provenientes de servicios de alimentación hospitalarios costarricenses. En más del 75% de las muestras de licuados a base de verduras cocidas, frutas o caldo de carne se evidenciaron niveles promedio de coliformes totales iguales a 10^4 unidades formadoras de colonias/g (UFC/g). Entre el 12 y 31% de las diferentes fórmulas presentaron *E. coli* en valores que oscilaron entre 3.0×10^2 y 2.1×10^4 UFC/g. Las fórmulas elaboradas a partir de frutas, así como aquellas preparadas a base de caldo de carne presentaron ese bacilo con mayor frecuencia y en mayor cantidad. *Listeria* sp. se evidenció en el 17% de los licuados de frutas y en las fórmulas a base de leche. *L. grayi*, *L. welshimeri* y *L. innocua* fueron las especies encontradas.

Palabras clave: Coliformes totales, *Escherichia coli*, *Listeria* sp., nutrición enteral.

SUMMARY. Presence of total coliforms, *Escherichia coli* and *Listeria* sp. in enteral formulas. The presence of total coliforms, *Escherichia coli* and *Listeria* sp. was evaluated in 65 samples of enteral nutrition formulas. In more than the 75% of the samples made up from cooked vegetables, fruits or meat broth, the score level of total coliforms was of 10^4 UFC/g. In 12-31% of the different enteral food formula, *E. coli* was isolated in levels ranging from 3.0×10^2 to 2.1×10^4 UFC/g. Enteral nutrition formulas made out of fruits and those elaborated with meat broth presented this agent more frequently and in bigger quantities. *Listeria* sp. was isolated in 17% of the fruit preparations and in enteral formulas made with milk. *L. grayi*, *L. welshimeri* and *L. innocua* were the species found.

Key words: Total coliforms, *Escherichia coli*, *Listeria* sp., enteral nutrition.

INTRODUCCION

Algunos individuos enfermos, pero con tracto gastrointestinal funcional, son incapaces de satisfacer sus requerimientos nutricionales a causa de la inadecuada ingesta de energía y nutrientes (1). Esto, aunado a la inhabilidad o incapacidad de ingerir alimentos o bien a raíz de mala digestión o malabsorción (2). Ante esta situación, la alimentación enteral es la estrategia dietética para proporcionar la cantidad requerida de energía, macro y micronutrientes (1,2). Para tal efecto, se administran soluciones nutricionales artesanales o comerciales, con una densidad energética de 1.0-1.5 kcal/cc (1,2), por vía nasogástrica, nasoyeyunal, gastrostomía o yeyunostomía, dependiendo del estado del paciente y del tiempo requerido para su recuperación (2).

Entorno al uso de la alimentación enteral, se han propuesto una serie de recomendaciones sobre las técnicas adecuadas para su seguridad y transferencia al paciente (2,3). Entre éstas, sobresale el uso de los métodos adecuados para su elaboración, pues se requiere que las fórmulas presenten una calidad microbiológica óptima. Esto debido a que diversos estudios señalan que cerca del 50% de las infecciones en pacientes hospitalizados son causadas por organismos intrahospitalarios que han colonizado el canal alimentario del enfermo (4,5).

A pesar de lo anterior, parece haber una insuficiente apreciación de la importancia de los alimentos como fuente de microorganismos responsables de infecciones intrahospitalarias. No obstante, alimentos como las fórmulas enterales son de riesgo debido al importante contenido de nutrimentos que poseen, así como por las vías de administración utilizadas, pues en algunos casos la sonda evade la barrera ácida del estómago y lleva el alimento directamente a un pH alcalino en duodeno o yeyuno (2). En este medio, los microorganismos contaminantes pueden proliferar y colonizar el intestino, cuya resistencia ha sido disminuida significativamente por el uso sistémico de antibióticos (5,6), y generar complicaciones gastrointestinales.

El objetivo de este estudio es evaluar la presencia de bacterias indicadoras de contaminación fecal y mala higiene, *Escherichia coli* y *Listeria* sp. en fórmulas enterales distribuidas en servicios nutricionales hospitalarios costarricenses.

MATERIAL Y METODOS

En el período comprendido entre marzo y abril de 1996 se analizaron sesenta y cinco muestras de fórmulas enterales elaboradas a partir de la mezcla de diferentes alimentos cocidos o crudos. Las muestras fueron tomadas al azar de los

servicios nutricionales hospitalarios costarricenses, a partir de la comida que diariamente se suministra a los pacientes que necesitan este tipo de alimentación.

El recuento de coliformes totales y de *E. coli* se determinó utilizando "Petrifilm" de la Casa 3M. Para esto, se pesaron 25 g de cada muestra y se diluyeron en agua peptonada estéril (APE) 0.1%. Se prepararon diluciones consecutivas que fueron inoculadas en Petrifilm 3M e incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente, se efectuó el recuento de colonias típicas, rosadas para coliformes totales y rosadas con centro azul para *E. coli*.

La presencia de *Listeria sp.* se determinó utilizando la metodología descrita por Vanderzant y Splittstoesser (7). Brevemente, de cada una de las muestras se transfirió una alícuota de 25 ml a 225 ml de caldo UVM (University of Vermont Medium) y se incubó a 37°C por 24 h. Luego de este período, se tomó 0.5 ml del caldo y se pasó a caldo Frazer, incubándose por 24 h a 37°C. Posterior a esto, se realizó un plaqueo selectivo en agar Oxford y se incubó por 24 h a 37°C. La identificación bioquímica de *Listeria sp.* se efectuó usando

las pruebas de hemólisis en agar sangre, prueba de CAMP con eritrocitos de carnero, Luz de Henry, fermentación de carbohidratos, catalasa y movilidad.

RESULTADOS

El 100% (n=65) de las muestras evaluadas fueron fórmulas enterales artesanales; es decir, licuados de alimentos cocidos (como leche, verduras, galletas y arroz) o de alimentos crudos como frutas. El 37% (n=24) de las muestras correspondió a licuados de fruta, el 26% (n=17) a fórmulas preparadas a partir de leche pasteurizada y alimentos cocidos y el 25% (n=16) a preparaciones elaboradas a base de caldo de carne y alimentos cocidos. El 12% (n=8) restante de las muestras evaluadas fueron licuados de verduras cocidas.

La temperatura promedio de las fórmulas estudiadas, al momento de la toma de muestra, osciló entre 27± 2°C y 30± 2°C. El pH de las mismas varió de 3.89 en los licuados de fruta a 6.3, en promedio, en las fórmulas a base de leche, caldo de carne y vegetales cocidos (Tabla 1).

TABLA 1
Porcentaje de muestras de alimentación enteral positiva por coliformes totales, *Escherichia coli* y *Listeria sp.*

Tipo de licuado	n (# de muestras)	pH promedio	Coliformes totales n (%)	<i>Escherichia coli</i> n (%)	<i>Listeria sp.</i> n (%)	Recuento promedio coliformes totales UFC/g	Recuento promedio <i>E. coli</i> UFC/g
Frutas	24	3.89	21 (87.5)	6 (25)	4 (16.7)	2.1 x 10 ⁴	1.6 x 10 ³
Leche	17	6.65	9 (52.9)	3 (17.6)	3 (17.6)	2.1 x 10 ⁴	8.4 x 10 ²
Caldo de carne	16	6.22	11 (68.7)	5 (31.3)	0 (0)	2.4 x 10 ⁴	2.1 x 10 ⁴
Vegetales	8	6.10	6 (75)	1 (12.5)	0 (0)	1.4 x 10 ⁴	3.0 x 10 ²

La distribución porcentual de las muestras según los microorganismos contaminantes se presentan en la Tabla 1. En más del 75% de los licuados a base de verduras cocidas, frutas o caldo de carne se evidenciaron niveles promedio de coliformes totales de 10⁴ UFC/g. Entre el 12 y 31% de las diferentes fórmulas presentaron *E. coli* en valores que oscilaron entre 3.0 x 10² y 2.1 x 10⁴ UFC/g. No obstante, la presencia de este bacilo se determinó con mayor frecuencia y en mayores niveles en las fórmulas enterales preparadas a partir de frutas o a base de caldo de carne y alimentos cocidos (Tabla 1).

Listeria sp. se evidenció en cerca del 17% (n=7) de los licuados de fruta y en aquellos elaborados a partir de leche pasteurizada y alimentos cocidos. Las especies de *Listeria* identificadas fueron en el 71.4% de los casos (n=5) *L. grayi*, en el 14.3% (n=1) *L. welshimeri* y en el 14.3% restante *L. innocua*.

DISCUSION

En Costa Rica, la prevalencia de las infecciones intrahospitalarias es un problema emergente. El origen de estas infecciones puede ser múltiple, aunque normalmente no se consideran los alimentos como posible causa. No obstante; los niveles de coliformes totales *E. coli* hallados en este estudio, señalan a las fórmulas enterales como vehículos potenciales de microorganismos patógenos. Esta situación se agrava al considerar que el pH cercano a 7 de la mayoría de las fórmulas, así como la temperatura a la que se distribuyen estos alimentos son factores que favorecen la multiplicación de los microorganismos contaminantes.

La manipulación inadecuada parece ser el factor responsable de las deficientes características sanitarias halladas, pues en las fórmulas enterales elaboradas a partir de alimentos que han recibido tratamiento térmico, no hay razón justificable para encontrar *E. coli*, un bacilo termolábil. Además, los altos niveles de coliformes totales (10³/g) y la presencia de *Listeria*

sp. confirman las inadecuadas prácticas de manipulación, pues aún cuando estos microorganismos constituyen parte de la flora normal de leche cruda, vegetales y frutas (8,9), no deben encontrarse en los alimentos cocidos. Así mismo, en aquellos alimentos crudos que han sido adecuadamente lavados, desinfectados y manipulados debe evidenciarse su ausencia.

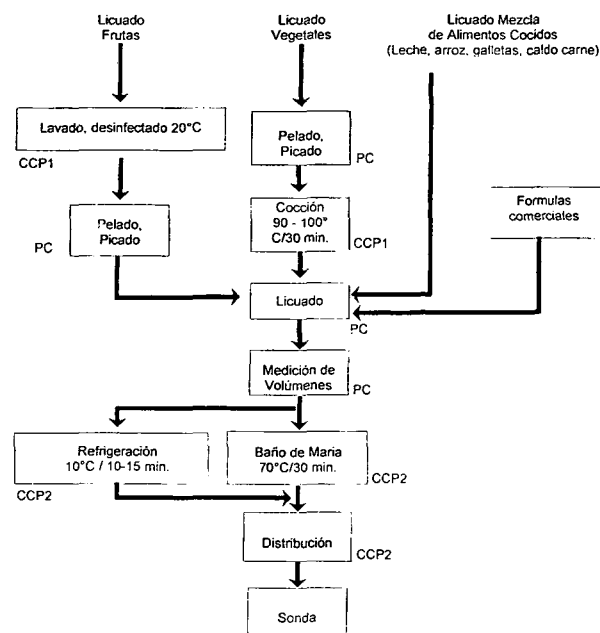
Por otro lado, la presencia de *L. welshimeri* y *L. grayi*, señala el riesgo potencial de patogenicidad de las fórmulas enterales, pues aunque universalmente se considera a *L. monocytogenes* como la principal especie patógena (9), algunos informes han confirmado infecciones humanas causadas por *L. welshimeri* (10). De igual modo, la existencia de *E. coli* constituye un factor de riesgo importante, pues ésta sugiere la presencia de otros microorganismos enteropatógenos (8).

La gravedad de esta contaminación es mayor al considerar que algunos pacientes que reciben alimentación enteral, como aquellos con administración sistémica de antibióticos, presentan una reducida resistencia a la colonización del intestino delgado (5,6), por lo que las dosis infectantes determinadas para individuos sanos probablemente puede reducirse hasta un 50% en ellos, tal y como se ha sugerido en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* (5,6). Una situación similar ocurre en inmunosuprimidos, ancianos y desnutridos.

Ante esta situación, se hace imprescindible identificar los puntos de contaminación de los alimentos en estudio (Figura 1). Al analizar el flujo del proceso de preparación de los diferentes licuados se visualizan las acciones de pelado y picado de las frutas, licuado y medición de volúmenes como los posibles puntos de contaminación (PC). Así mismo, se identifican los procesos de refrigeración, conservación en Baño María y distribución como puntos que al controlar disminuyen, aunque no eliminan, el riesgo de contaminación (CCP2). Únicamente, la cocción en el licuado de vegetales y la desinfección en el de frutas son procesos que eliminan el riesgo de contaminación (CCP1) por lo que el manejo óptimo posterior a estos tratamientos es fundamental para evitar la recontaminación. Además, con este mismo propósito, debe evitarse el ingreso de corrientes de aire a las áreas de preparación de las fórmulas enterales, pues tales favorecen el ingreso de microorganismos ambientales, entre ellos algunos miembros del grupo coliforme.

Frente a esta realidad, es necesario y urgente que los nutricionistas de los diferentes servicios de nutrición, así como las direcciones hospitalarias analicen la factibilidad económica de utilizar solamente fórmulas comerciales, mejorar sustancialmente la infraestructura de las áreas destinadas para la elaboración de la alimentación enteral y ejercer un control estricto sobre las prácticas de manipulación. Para esto se sugiere la adopción de los principios del sistema de control de calidad preventivo HACCP, "Análisis de Riesgo y Control de Puntos Críticos", pues por medio de éste se detectan errores en la manipulación y en los procedimientos de elaboración, se efectúa una corrección pronta de estos y se definen las estrategias preventivas de futuros problemas.

FIGURA 1
Flujograma de la elaboración de los diferentes tipos de alimentación enteral, preparados en los hospitales costarricenses



PC= Punto de contaminación

CCP1= Punto que al controlar, elimina el riesgo de contaminación

CCP2= Punto que al controlar, disminuye el riesgo de contaminación

REFERENCIAS

- Ontario Dietetic Association. Nutritional Care Manual. 6th Ed. The Ontario Hospital Association: Ontario, 1989;509-520.
- Anónimo. Nutritional support of adult patients. JPEN 1993;17:136-205.
- Nelson JK, Palumbo PJ, O'Brien PC. Home enteral nutrition: observations of a newly established program. Nut Clin Pract 1986;1:193-199.
- Wright C, Kominos S, Yel R. Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* recovered from vegetables salad. Appl Environ Microbiol 1976;3:453-454.
- Shootes R, Faiebs M, Cooke M, Bredes A, O'Favel S. Isolation of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella* from food in hospital, canteens and schools. Lancet 1971;21:390-392.
- Remington J, Schimpff S. Please don't eat the salads. Lancet 1981;7:433-434.
- Vanderzant C & Splittstoesser D. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington. Ed APHA 1992;p. 637.
- Mehlman I. Coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli*. En: Spedk M. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2nd. Ed. APHA: Washington 1984;265-285.
- Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes* a food borne pathogen. Microb Rev. 1991;55:476-511.
- Andre P, Genicot A. First isolation of *Listeria welshimeri* from human beings. Zentralbl Bakteriol hyg A. 1987;263:605-606.

Recibido: 01-04-1997

Aceptado: 30-10-1997

Composición lipídica de huevos de gallinas alimentadas con productos grasos y proteicos marinos

Carola García, Cecilia Albala

Unidad de Epidemiología Nutricional, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos (INTA),
Universidad de Chile, Santiago, Chile

RESUMEN. Con el propósito de determinar la influencia de la alimentación habitual de las gallinas en Chile -la que podría producir huevos comparables a los denominados "enriquecidos" en otros países- sobre la composición química de los huevos, se analizaron huevos de producción industrial, provenientes de gallinas alimentadas con harina de pescado y grasas marino-vegetales y huevos de gallinas alimentadas sólo con alimentos de origen vegetal, a modo de grupo control. Se determinaron los ácidos grasos de la yema y contenidos de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos de los lípidos de la yema, además de la composición en macronutrientes. Los huevos de gallinas alimentadas con productos de origen marino contienen significativamente menos colesterol, más triglicéridos y menos fosfolípidos que aquellos provenientes de gallinas alimentadas sólo con productos de origen vegetal. Aún cuando no hubo diferencias en contenidos de ácidos grasos de la serie n-3 ($7,13 \pm 0,83$ para el grupo con productos marinos vs. $1,77 \pm 0,55$ g/100g, para el grupo con productos vegetales) y de la serie n-6 ($15,71 \pm 2,51$ para el grupo con productos marinos vs. $20,88 \pm 2,32$ g/100g, para grupo con productos vegetales). Estas observaciones sugieren que los huevos que habitualmente se producen en Chile, presentan características análogas a las de los huevos enriquecidos, las que permiten replantear su valor nutricional, especialmente en grupos poblacionales vulnerables.

Palabras clave: Huevos, composición química, colesterol.

INTRODUCCION

El consumo de huevos en las sociedades occidentales ha decrecido en las últimas décadas, pese a la disminución que ha experimentado el precio real de éstos. El consumo per cápita estimado por la FAO (1) muestra que, excepto en algunos países africanos y asiáticos que históricamente han tenido niveles bajos de consumo, entre 1987 y 1992, éste ha disminuido en muchos países del mundo.

Una razón que ha sido sugerida para explicar este fenómeno, es el aumento de la conciencia de los consumidores respecto del contenido de colesterol de los huevos y sus efectos adversos sobre la salud, habiéndose llegado incluso a cuantificar la magnitud del peso de esta variable sobre el consumo de huevos, en cifras de entre 14 y 25% de este descenso (2-3). La información de la FAO (1) muestra que el consumo per cápita anual en los EEUU, disminuyó de 14,9 a 13,7 kg entre 1987 y 1992, mientras que en Chile éste sólo alcanzaba valores de 6,6 y 6,3 kg/

SUMMARY. Lipid composition of shell eggs from hens fed marine protein and fat products. This study describes the composition of shell eggs produced by hens fed marine sources of feeds and eggs from hens fed only vegetable ingredients, as a control group. The nutritional characteristics of eggs, yolk fatty acids profile and their cholesterol, triglyceride and phospholipid contents, were determined. Hens fed marine feeds produced eggs with significantly less cholesterol and more triglycerides and phospholipids, than those produced by hens fed only vegetable feeds. Even though there were no significant differences between saturated, mono and polyunsaturated fatty acids, marine products significantly increased n-3 fatty acids ($7,13 \pm 0,83$ in marine fed hen's eggs vs. $1,77 \pm 0,55$ g/100g in vegetable fed hen's eggs) and n-6 fatty acids ($15,71 \pm 2$ in marine fed hen's eggs vs. $20,88 \pm 2,32$ g/100 in all vegetable fed hen's eggs). The eggs produced from hens fed marine products compares favorably with eggs known as "enriched" can have an important place in the diet especially for high risk population groups.

Key words: Eggs, chemical composition, cholesterol.

año en 1990 y 1992, respectivamente.

Pese a su contenido de colesterol, el huevo es un alimento ampliamente conocido, que contiene proteínas de calidad prácticamente "ideal" a un bajo precio, que puede ser producido bajo muchas condiciones de manejo doméstico e industrial y que presenta posibilidades culinarias fáciles y variadas. Un alimento con estas características, constituye una fuente de nutrientes valiosa y barata, especialmente para poblaciones pobres, cuyo consumo de proteínas de origen animal es usualmente bajo debido al alto precio relativo de las carnes y los productos lácteos. Es más, se puede hipotetizar que los fosfolípidos que contienen los huevos, podrían minimizar los efectos negativos del consumo de colesterol.

El costo de los alimentos de origen marino utilizados en alimentación animal en Chile y su disponibilidad, hacen que éstos sean una importante fuente de nutrientes en las dietas de las gallinas ponedoras y que, en consecuencia, más del 75% de las granjas avícolas empleen en sus esquemas alimentarios

harina de pescado como principal fuente de proteínas y lípidos marinos -o mezclas de grasas marinas y vegetales- como aportadores parciales de energía. La alimentación de las gallinas ponedoras con harina de pescado y mezclas de ácidos grasos de origen marino y vegetal, se plantea como una alternativa de modificación de la composición en ácidos grasos y colesterol de los lípidos de la yema de los huevos producidos por ellas.

La base proteica de las dietas para gallinas ponedoras en Chile, descansa fundamentalmente en harina de pescado de producción local, la que contiene aproximadamente 66-68% de proteína de alta calidad y 8 a 10% de grasa. Los principales componentes energéticos de estas dietas son el maíz, otros cereales y subproductos de molinería y fuentes de grasa (98% de lípidos) compuestas de proporciones variables de aceites marinos y vegetales, subproductos de la industria aceitera.

Recientemente, debido al olor que los productos de origen marino pueden traspasar a los huevos, se está empleando harina de soya en reemplazo de la harina de pescado, a un costo relativamente mayor, el que limita el uso de dichos huevos a la fabricación de alimentos manufacturados con alto valor agregado, del tipo galleta y otros productos de pastelería, altamente diferenciados.

Estudios relacionados con la composición de la yema y su posible modificación (4-13), han centrado su interés en el contenido de colesterol. Otros autores han estudiado el enriquecimiento de huevos con ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), mediante manipulaciones de las dietas de las gallinas: Nwokolo (14) incluyó cebada y semillas de canola; Jiang y cols. (7) trabajaron con dietas ricas en ácidos oleico, linoleico y linoléico; Hargis y cols. (6) usaron aceite de sábalo y Shafey y cols. (8) incorporaron trigo, triticale, centeno y aceite de soya; todos ellos señalan haber encontrado niveles altos de AGPI en los lípidos de la yema.

A base de esta información, puede proponerse como hipótesis que los huevos provenientes de gallinas alimentadas con productos de origen marino, presentarían perfiles de ácidos grasos ricos en AGPI, probablemente de la serie n-3, como un reflejo de los patrones alimentarios de éstas. De ser así, los huevos producidos bajo el esquema alimentario habitual en Chile, serían una fuente potencial de ácidos grasos con efectos benéficos sobre la salud, tal como ha sido establecido por Edington y cols. (15-16) Oh y cols. (17), Garwin y cols. (18), y Jiang y Sim (19), quienes trabajando con sujetos humanos, encontraron que el consumo de huevos enriquecidos en ácidos grasos n-3, produce efectos benéficos sobre el nivel plasmático de colesterol y otros indicadores de metabolismo lipídico.

Este estudio se realizó con el propósito de describir la composición química de los huevos y el perfil lipídico de la yema, específicamente en relación con el efecto del uso de fuentes marinas de proteína y grasa, bajo condiciones de producción comercial.

MATERIAL Y METODOS

Para satisfacer el objetivo del estudio, se analizaron muestras de huevos (blancos, de primer ciclo de postura) representativas de dos tipos de manejo industrial utilizados en Chile.

El manejo alimentario en la mayor parte de las granjas avícolas en el país, considera el uso de maíz, otros cereales, harina de pescado (HP) y mezclas de aceites marinos y vegetales, como ingredientes principales de las dietas de las gallinas ponedoras. Unas pocas granjas, reemplazan la HP con otras fuentes proteicas como soya, gluten de trigo, lupino o harina de langostinos, y no utilizan fuentes grasas como aportadores directos de energía. Consecuentemente, el principal aspecto considerado en este estudio, fue la inclusión de HP y mezcla de aceites marinos y vegetales (grupo 1, marino) y la total exclusión de estos ingredientes (grupo 2, vegetal) en las fórmulas de las gallinas productoras de los huevos analizados.

Cada grupo fue conformado por un número igual y representativo de huevos, provenientes de las principales granjas avícolas del país (300 huevos de cada una), las que producen una muy alta proporción de los huevos que se consumen en Chile.

En la Tabla 1 se entrega el promedio de incorporación de los principales ingredientes en las fórmulas alimenticias de las gallinas de las que provenían los huevos estudiados. Todas ellas contenían aditivos, convenientemente formulados de acuerdo a normas estándar (conchuela, minerales, vitaminas, etc).

TABLA 1
Principales ingredientes de las dietas de las gallinas ponedoras según patrón de alimentación (promedio, % de incorporación en las fórmulas alimenticias) *

Grupo N°	Patrón de alimentación	Maíz (%)	Harina de pescado (%)	Mezclas de grasas (%)	Harina de soya (%)
1	Productos marinos	56,7	9,4	2,5	11,8
2	Productos vegetales	64,6	-	-	18,1

* Corresponde al promedio de las granjas avícolas de las que provinieron los huevos analizados.

Se evaluó la composición química y el perfil de ácidos grasos de los lípidos de la yema, además de los contenidos de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos.

La composición química se estableció por medio de Análisis Químico Proximal (20) y fue efectuada en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Chile. Las muestras fueron secadas al horno a 60°C hasta peso constante, para determinar su contenido de materia seca. La proteína se cuantificó por el método de Kjeldahl, después de una hidrólisis ácida. La grasa fue extraí-

da por éter en un extractor Goldfish. Las muestras se calcinaron en una mufla a 600°C, para determinar su contenido de cenizas. Los resultados se presentan expresados en base a 100% de materia seca.

La determinación de la composición de la grasa de la yema, se realizó después de haber sido extraídos los lípidos por el método de Folch (21) y consistió en la determinación de colesterol total, triglicéridos y fosfolípidos. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica de Lípidos del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA) de la Universidad de Chile. El colesterol total y los fosfolípidos fueron determinados de acuerdo a las técnicas establecidas por Tercyak (22) y Rouser (23), respectivamente. En el caso de la determinación de colesterol, la técnica se validó empleando un patrón de referencia de huevo en polvo con 19,0±0,2 g/kg de colesterol (USDA, Standard Reference Material 1845, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Md 20899, U.S.A.). Los triglicéridos fueron cuantificados por el método enzimático GPO-PAP, utilizando un kit Wiener Lab.

El perfil de ácidos grasos de la yema, se determinó por cromatografía líquido gaseosa en el Laboratorio de Cromatografía del INTA. El proceso de separación de los ácidos grasos se efectuó luego de ser extraídos los lípidos por el método de Folch (21). Los ácidos grasos fueron esterificados con trifluoruro de boro en metanol al 14% antes de ser cuantificados en un cromatógrafo Hewlett Packard HP 5890 (serie 2, ionización de llama, columna capilar omega wax 250 de 30 mt), utilizando hidrógeno como portador. La composición en ácidos grasos se expresó como porcentaje del total de ácidos grasos presentes en el extracto lipídico de la yema.

Los resultados obtenidos, para todas las variables estudiadas, fueron sometidos a la prueba de t de Student para comparación entre promedios (24).

RESULTADOS

La Tabla 2, muestra la composición química (base seca) de los dos tipos de huevos estudiados. Cuando se compara el contenido de nutrientes -proteína total, grasa y cenizas- en base seca, no se observan efectos significativos del patrón de alimentación de las gallinas.

La Tabla 3 muestra el efecto del patrón alimentario de las gallinas sobre la composición de los lípidos de la yema de los huevos. El contenido de colesterol total de la yema es significativamente menor en los huevos provenientes de gallinas alimentadas con productos marinos ($p < 0,05$). Los contenidos de triglicéridos y fosfolípidos son significativamente inferiores cuando se emplean productos marinos ($p < 0,05$); el mayor contenido de fosfolípidos del grupo 2 puede ser atribuido a que -en promedio- las dietas de las gallinas de dicho grupo, contenían alrededor de 8% más harina de soya, alimento especialmente rico en fosfolípidos.

TABLA 2

Composición química de los huevos (promedio ± desviación estándar, g/100 g, base 100% materia seca) *

	Tipo de huevos según patrón de alimentación de las gallinas	
	Grupo 1 (marino)	Grupo 2 (vegetal)
Proteína total (g/100 g)	53,3 ± 0,8	55,4 ± 4,5
Extracto etéreo (g/100 g)	35,1 ± 2,1	34,0 ± 2,9
Cenizas (g/100 g)	3,5 ± 0,2	3,7 ± 0,3

TABLA 3

Composición general de los lípidos de la yema (promedio ± desviación estándar, g/100 g yema) *

	Tipo de huevos según patrón de alimentación de las gallinas	
	Grupo 1 (marino)	Grupo 2 (vegetal)
Colesterol total (g/100g yema)	0,92 ± 0,17 ^a	1,29 ± 0,12 ^b
Triglicéridos (g/100 g yema)	8,8 ± 0,8 ^a	11,6 ± 0,5 ^b
Fosfolípidos (g/100g yema)	3,9 ± 0,5 ^a	5,3 ± 0,2 ^b

* Los promedios con diferente superscripto difieren significativamente (prueba de t de Student; $p < 0,05$).

En la Tabla 4, se presenta el perfil de ácidos grasos de los lípidos de la yema; los ácidos grasos se presentan agrupados de acuerdo a su nivel de saturación. Separadamente, se presentan los niveles de ácidos grasos de las series n-3 y n-6 totales y de los ácidos eicosapentaenoico (EPA, C20:5, n-3) y docosahexaenoico (DHA, C22:6, n-3), por la importancia que éstos tienen en relación con los objetivos del estudio y con la nutrición humana (28,30).

TABLA 4

Perfil de ácidos grasos de los lípidos de la yema (promedio ± desviación estándar, g/100g) *

Acidos grasos	Tipo de huevos según patrón de alimentación de las gallinas (*)	
	Grupo 1 (marino)	Grupo 2 (vegetal)
Saturados	43,26 ± 1,11	43,80 ± 2,15
Monoinsaturados	31,67 ± 2,13	32,23 ± 1,08
Poliinsaturados	23,07 ± 1,82	22,98 ± 2,88
• Serie n-3, total	7,13 ± 0,83 ^a	1,77 ± 0,55 ^b
20:5 n-3 (EPA)	0,57 ± 0,25 ^a	0,33 ± 0,02 ^b
22:6 n-3 (DHA)	5,96 ± 0,59 ^a	1,40 ± 0,44 ^b
• Serie n-6, total	15,71 ± 2,51 ^a	20,88 ± 2,32 ^b

* Los promedios con diferente superscripto difieren significativamente (prueba de t de Student; $p < 0,05$).

Las proporciones de ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados de los dos tipos de huevos no difirieron

significativamente; sin embargo, cuando se comparan los contenidos de ácidos grasos de las series n-3 y n-6, se observa que con la incorporación de grasas de origen marino, aumenta significativamente la proporción de ácidos grasos de la serie n-3 y disminuye la de la serie n-6 ($p < 0,05$).

En relación con el contenido de EPA, éste es significativamente superior cuando las dietas de las gallinas incluyen productos de origen marino ($p < 0,05$). También el contenido de DHA es significativamente más alto cuando se incorpora este tipo de productos ($p < 0,05$).

DISCUSION

El consumo de huevos, como producto de la información masiva respecto de los efectos negativos del consumo de colesterol sobre la salud, ha disminuido notablemente. Entre otros autores, Putler (2) y Brown y Schrader (3), han modelado el efecto que la información acerca del consumo de colesterol ha ejercido sobre el consumo de huevos. Putler (2), concluyó que en los EEUU, un 14% del descenso en el consumo de huevos, entre 1969 y 1980, es atribuible a dicha información, mientras que Brown y Schrader (3), entregaron cifras de 16 a 25%, dependiendo del período considerado. Sin embargo, el bajo costo de este alimento y su excelente calidad proteica ameritan investigar más en profundidad opciones productivas que podrían modificar su composición.

La alimentación de las gallinas en los criaderos en Chile, se realizan de acuerdo a normas muy bien estandarizadas, lo que valida -en un estudio de tipo descriptivo como éste- el hacer comparaciones entre ellos, sin controlar de forma externa la variable alimentación de las gallinas. Por su parte, los patrones alimentarios de las gallinas permiten suponer que la calidad de los huevos producidos masivamente en Chile, es comparable con la de aquellos que, en otros países, son considerados como huevos "enriquecidos" y como tales se recomienda su consumo en forma menos restringida a la habitual.

Los valores observados para las variables de composición química analizadas en este estudio, son comparables con cifras obtenidas en el laboratorio donde se realizaron los análisis y con valores tabulares nacionales (25) y de otras fuentes (26).

Un aspecto destacable de los huevos provenientes de gallinas alimentadas con productos marinos, analizados en este estudio, es su bajo contenido de colesterol; es así como, si se estima el contenido de colesterol de un huevo del grupo 1 (marino), del tamaño y peso promedio de los analizados en este estudio (50 g y aproximadamente 15 g de yema), éste aporta cerca de 145 mg de colesterol, valor inferior al encontrado por otros autores (10,12-13), a los valores que entregan algunas tablas de composición de alimentos chilenas y extranjeras, lo que varían entre 200 y 300 mg por yema de peso semejante (26-27) y al de los huevos del grupo 2 (vegetal), en los que éste alcanza a 194 mg por yema de 15 g de peso. El

menor contenido de triglicéridos del grupo alimentado con productos marinos sugiere un efecto específico de la incorporación de estos productos marinos, fundamentalmente de la mezcla de ácidos grasos marino-vegetales y de la grasa de la HP, sobre la composición de los lípidos de la yema.

Cuando los valores de ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados totales de ambos grupos, se comparan con cifras de tablas nacionales (27) y extranjeras (28), se observa que el contenido de AGPI totales es superior, en desmedro del contenido de ácidos grasos saturados, hecho que puede atribuirse a la alta proporción de AGPI que caracteriza a las dietas de las gallinas ponedoras en Chile. Estos resultados, concuerdan con aquellos de Nwokolo y Sim (14), Jiang y cols. (7), Hargis y cols. (29) y Shafey y cols. (8), en el sentido que la incorporación de AGPI en las dietas de las gallinas, modifica el perfil de ácidos grasos de la yema del huevo, aumentando el contenido de AGPI, fundamentalmente aquellos de la serie n-3 cuando las gallinas son alimentadas con productos marinos y de la serie n-6 cuando son alimentadas con productos vegetales ricos en AGPI.

El aumento de la proporción de ácidos grasos de la serie n-3, en los huevos del grupo 1 (marino), es un reflejo de la composición en ácidos grasos de los alimentos incorporados a la dieta de las gallinas. Estos ácidos grasos, junto con los de la serie n-6, tienen gran importancia en la mantención de la estructura de las membranas celulares y como precursores de eicosanoides; estos últimos compuestos presentan funciones muy variadas y diversos efectos favorables sobre las células de los tejidos blandos, la agregación plaquetaria, la permeabilidad y contractilidad de los vasos sanguíneos y en los procesos inflamatorios y respuesta del sistema inmunológico (30).

Las recomendaciones recientes respecto de la cantidad y calidad de las grasas que deben ser consumidas (30), destacan la importancia de la ingesta de ácidos grasos esenciales de las series n-3 y n-6 por los adultos. En el caso de mujeres gestantes y lactantes, su ingestión es importante, dado que durante estas etapas fisiológicas se requiere de AGPI de cadena larga para el normal desarrollo de la placenta, el feto y el niño; existen numerosos estudios, realizados en animales y seres humanos, que destacan la importancia de la alimentación pre y postnatal sobre la composición de los lípidos cerebrales y el aprendizaje (31), que señalan que déficit específicos de ácidos grasos de la serie n-3 afectan la integridad neural (32), que el DHA es esencial en la alimentación de lactantes (33) y otros que enfatizan su importancia sobre la adquisición de habilidades visuales y de aprendizaje en los recién nacidos (34). Debido a su relación con menor riesgo de aparición de enfermedades cardiovasculares, su consumo también es deseable en el caso de adultos en general (35), sobre todo de aquellos que presentan algunos factores de aumento del riesgo de presentar estas patologías.

En relación con el contenido de ácidos grasos saturados y colesterol de las dietas para seres humanos, estas mismas recomendaciones (30,35), sugieren que su consumo debe ser

restringido; si, en adición al menor contenido de ellos en los huevos de gallinas alimentadas con productos de origen marino, se consideran los numerosos aspectos positivos que éstos presentan como alimentos, parece de interés el promover su consumo, hecho que se vería favorecido por las características que los huevos presentan en Chile. Estas observaciones son avaladas por numerosos estudios internacionales efectuados con huevos enriquecidos en AGPI y su efecto sobre el perfil lipídico de sujetos sanos y por un estudio efectuado por nosotros con huevos de gallinas alimentadas con HP y otras fuentes de grasas marinas, en el que no se observaron diferencias en los perfiles lipídicos de sujetos adultos sanos que consumieron cero, uno o dos huevos diarios durante seis semanas en adición a sus dietas habituales (36). Estas observaciones sugieren que los huevos que habitualmente se producen en Chile, presentan características análogas a las de los denominados como "enriquecidos", las que permiten replantear su valor nutricional, especialmente en grupos poblacionales vulnerables, tales como embarazadas, nodrizas, lactantes y niños en crecimiento y adultos en riesgo cardiovascular.

REFERENCIAS

1. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Balance Sheets, Agrostat Data Bank. 1994.
2. Putler DS. The effect of health information on shell egg consumption. Dep Agr an Resour Econ Work Pap N° 448, California Agr Exp Sta U.S.A. 1987.
3. Brown DJ an Schrader LF. Cholesterol information and shell egg consumption. American Journal of Agricultura Economics 1990; 72:548-555.
4. Waldroup PW, Ndiye LI, Hellwig HM, Hebert JA and Berrio L. Influence of probucol (4,4'-isopropylidene dithio)-bis (2,6-dit-butyl-phenol) on egg yolk cholesterol content and performance of laying hens. *Poult Sci*, 1986; 65(10):1949-1954.
5. Hargis PS. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl: a review. *W.P.S.A.J.* 1988; 44:17-29.
6. Hargis S, van Elswyck ME and Hargis BM. Dietary modification of yolk lipid with menhaden oil. *Poult Sci*, 1991; 70(4):874-883.
7. Jiang Z, Ahn DU and Sim JS. Effects of feeding flax and two types of sunflower seeds on fatty acid composition of yolk lipid classes. *Poult Sci*, 1991;70(12):2467-2475.
8. Shafey TM, Dingle JG and Mc. Donald MW. Comparison between wheat, triticale rye, soybean oil and strain of laying bird on the production and cholesterol and fatty acid contents of eggs. *Br Poult Sci*, 1992; 33(2):339-346.
9. Griffin HD. Manipulation of egg yolk cholesterol: a physiologists view. *W. P.S.A.J.* 1992; 48:101-112.
10. Elkin R, Rogler J, Lee H and Watkins B. Effect of B, B Tetramethyl-substitute hexadecanedionic acid on laying hen performance and egg yolk lipid composition. *Br Poult Sci*, 1992; 33:677-681.
11. Hall LM and McKay JC. Variation in egg yolk cholesterol concentration between breeds of the domestic fowl. *Br Poult Sci*, 1992; 33:941-946.
12. Beyer RS and Jensen L. Influence of orotic acid on performance, liver lipid content and egg cholesterol level of laying hens. *Poult Sci*, 1991; 70(11):2322-2328.
13. Beyer RS and Jensen LS. Reduced plasma cholesterol and lipoprotein in laying hens, without concomitant reduction of egg cholesterol in response to dietary sorbose. *Poult Sci*, 1993; 72(1):88-97.
14. Nwokolo E and Sim J. Barley and fullfat canola seed in layer diets. *Poult Sci*, 1989; 68(11):1485-1489.
15. Edington J, Geekie M, Carter R, Benfield L, Fisher K, Ball M and Mann J. Effect of dietary cholesterol on plasma cholesterol concentration in subjects following reduced fat, high fibre diet. *Br Med J Clin Res. Ed.* Feb 7, 1987; 294(6568):333-336.
16. Edington J, Geekie M, Carter R, Benfield L, Ball M and Mann J. Serum lipid response to dietary cholesterol in subjects fed a low fat, high fibre diet. *Am J Clin Nutr*, 1989; 50(1):58-62.
17. Oh Sy, Ryue J, Hsieh CH and Bell DE. Eggs enriched in omega-3 fatty acids and alterations in lipid concentrations in plasma and lipoproteins and blood pressure. *Am J Clin Nutr*, 1991; 54(4):689-695.
18. Garwin JL, Morgan JM, Stowell RL, Richardson MP, Walker MC and Capuzzi DM. Modified eggs are compatible with a diet that reduces serum cholesterol concentration in humans. *J Nutr*, 1992; 122:2153-2160.
19. Jiang Z and Sim JS. Consumption of n-3 polynsaturated fatty acid-enriched eggs and changes in plasma lipids of human subjects. *Nutrition*, 1993; 9(6):513-518.
20. Official Methods of Analysis, Eggs and egg products. Chapter 34. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. 1997.
21. Folch J, Lees M and Stanley GSH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 1957; 226:497-509.
22. Tercyak AM. Determination of cholesterol and cholesterol esters. *J Nutr Biochem*, 1991; 2:281-292.
23. Rouser A. Quantitative analysis of phospholipids by thin layer chromatography and phosphorus analysis of spots. *Lipids*, 1966; 1:85-86.
24. Sokal RR and Rohlf FJ. Biometry. 2nd. de W.H. Freeman and Company, New York, 1981.
25. Schmidt-Hebbel H, Pennacioti I, Masson L y Mella MA. Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos. Octava Edición. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago, Chile, 1990.
26. Stolpher Bloch A and Shils M. Editors. Nutrition Facts Manual: a quick reference. Williams and Wilkins, USA, 1996.
27. Mason L y Mell MA. Materias grasas de consumo habitual y potencial en Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago, Chile, 1985.
28. Uauy R and Valenzuela A. Marine oils as a source of omega-3 fatty acids in the diet: how to optimize the health benefits. *Progress in Food and Nutrition Science* 16:199-243.
29. Hargis S and van Elswyck ME. Modifying yolk fatty acid composition to improve the health quality of shell eggs. *Poult Sci Dept, Texas University System. College Station Texas 77843*, 1992.
30. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations and WHO. World Health Organization. 1994. Fats and oils in human nutrition. Report of a joint expert consultation. Roma, 19-26, october 1993. FAO Food and Nutrition 57.
31. Galli C and Socini A. Dietary lipids in pre- and post- natal

- development. In Perkins EG and Wisek WJ (eds). Dietary Fats and health. Proceedings of American Oil Chemists Society Conference. Chicago, U.S.A. 1983; 16:278-301.
32. Budowsky P, Leighfield MJ and Crawford MA. Nutritional encephalomalacia in the chick: an exposure of the vulnerable period for cerebellar development and the possible need for both w-3 and w-6 fatty acids. *Brit J Nutr*, 1987; 58:511-520.
33. Uauy R, Birch E and Birch D. Visual and brain function measurements in study of n-3 fatty acid requirements of infants. *J Ped*, 1990; 120:s168-180.
34. Wheeler TG, Benolken RM and Anderson RE. Visual membranes: Specificity of fatty acid precursors for the electrical response to illumination. *Science*, 1975; 188:1312.
35. Pooling Project Research Group. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities incidence of major coronary events: final report of the Pooling Project. *Journal of Chronic Diseases*, 1978; 31(4):201-306.
36. Albala C, García C y Yáñez M. Influencia del consumo de huevos sobre el perfil lipídico en hombres adultos sanos. *Rev Chil Nutr*, 1996; 24(2):103-113.

Recibido: 28-08-1997

Aceptado: 15-01-1998

Valor nutritivo y aceptabilidad de la carne de chinchilla

Silvia Rocío Echalar, María Joaquina Morón Jiménez, Adriana Noemí Ramón

Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires, República Argentina

RESUMEN. El objetivo fue estudiar el valor nutritivo de la carne de chinchilla (*Eriomys lanigera* y *brevicaudata*) sometida a distintos tratamientos térmicos y su aceptabilidad. Se utilizaron chinchillas en cautiverio de la Provincia de Jujuy. Se dividieron en tres grupos: crudas y tratadas por calor húmedo y seco; a las muestras se les efectuaron los siguientes análisis: humedad, proteínas, extracto etéreo, cenizas, hierro (A.O.A.C.), colesterol (método enzimático), Razón Proteica Neta (RPN), digestibilidad (D) y test de aceptabilidad. El contenido de humedad de la chinchilla cruda fue de 68,24 g/100 g y de las tratadas térmicamente fueron de 65,09 y 62,49 g/100g (calor húmedo y seco respectivamente). El porcentaje proteico de la carne cruda fue de 20,03 g/100g, entre las tratadas térmicamente no se observaron diferencias significativas. Igual tendencia se observa con el contenido de extracto etéreo (11,26; 12,00 y 12,92 g/100g para carnes crudas y tratada por calor húmedo y seco respectivamente). En el porcentaje de cenizas no se observa diferencias entre las tratadas térmicamente y cruda. Los miligramos de hierro de la carne cruda fueron mayores (13,76 mg/100g) a las tratadas por calor húmedo y seco (12,43 y 12,37 mg/100g respectivamente). La RPN y Digestibilidad de las carnes tratadas térmicamente fueron 5,26 y 5,65; 96,75 y 96,84 respectivamente, similares y mayores al del patrón (caseína). La aceptabilidad de la carne de chinchilla tratada por calor húmedo (94%) fue mayor que la de calor seco (90%). Se concluye que la carne de chinchilla tratada térmicamente presenta un buen valor nutritivo y aceptabilidad.

Palabras clave: Valor nutritivo, chinchilla, aceptabilidad.

SUMMARY. Chemical, biological y and acceptability of chinchilla's meat. (*Eriomys lanigera* y *brevicaudata*) Food value and acceptability of chinchilla's meat with different thermic treatments were studied. Chinchilla's in captivity of the Province of Jujuy were used. They were divided into three groups: raw and treated with dry and wet heat and the following analysis were carried out: moisture, protein, ether extract, ashes, iron (A.O.A.C.), cholesterol (enzymatic method), Net Protein Ratio (NPR), Digestibility and acceptability tests were also done. Moisture content of raw chinchilla's meat was 68,24 g/100 g and the meat treated with wet and dry heat had moisture of 65,09 g and 62,49 g/100 g respectively. Protein percentage of raw chinchilla's meat was 20,03 g/100 g, no significant differences were observed in the meat thermally treated. The same tendency was observed concerning the ether extract content (11,26; 12,00 and 12,92 g/100 g for raw meat and the one treated with wet and dry heat respectively). No difference was observed among the three types of meat as far as the ash content is concerned.

The mg of iron in raw meat were higher (13,76 mg/100 g) than in thermally treated meat (12,43 and 12,37 mg/100 g for wet and dry heated respectively). NPR and digestibility of thermally treated meat were 5,26 and 5,65; 96,75 and 96,84 (for wet and dry heated meat respectively); both were similar to and higher than casein. The acceptability of chinchilla's meat treated with wet heat (94%) was higher than that treated with dry heat (90%). It can be concluded that chinchilla's meat thermally treated has both good food value and acceptability.

Key words: Nutritive value, chinchilla, acceptability.

INTRODUCCION

La chinchilla (*Eriomys lanigera* y *brevicaudata*) se caracteriza por ser un roedor histricomorfo con pelaje fino, largo y tupido (1). Su hábitat natural es entre 400-4500 mts de altura, es originario de la cordillera de los Andes del Perú, Bolivia, Argentina y Chile (2).

En estado adulto pesa aproximadamente 450-900 g, la hembra es más grande que el macho (3). La importancia de estos animales es en la industria peletera, por lo cual existen criaderos en distintos países americanos y europeos (3).

En el Norte Argentino, la cría de este animal se encuentra ampliamente difundida pero su carne se consume ocasionalmente, ya que la mayoría de las veces son desechadas en la industria peletera por desconocimiento por parte de los productores de la importancia que podría tener la misma en la alimentación humana.

Teniendo en cuenta que esta carne es factible de obtener en cualquier época del año y que podría considerarse como una importante alternativa en la introducción de nuevos hábitos alimentarios, se plantea la necesidad de producir información sobre su composición química.

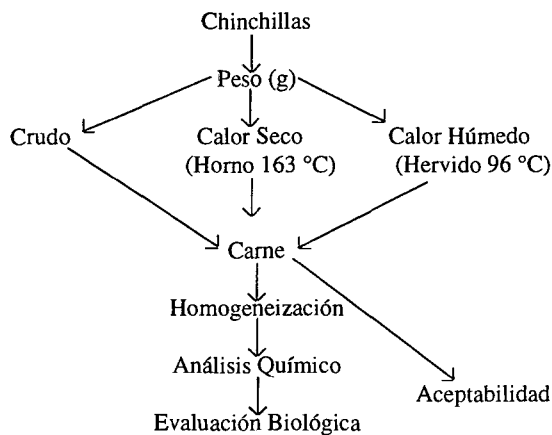
El objetivo del presente trabajo fue estudiar el valor nutritivo y aceptabilidad de la carne de chinchilla cruda y sometida a diferentes tratamientos térmicos.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron chinchillas de criaderos de la Provincia de Jujuy, República Argentina.

Se formaron tres grupos de 12 animales, uno de ellos se destinó para el análisis en crudo y los restantes fueron sometidos a tratamientos térmicos (calor seco y húmedo) (Diagrama 1).

DIAGRAMA 1
Flujo de trabajo



La cocción por calor húmedo se realizó a 96 °C durante 25 minutos y por calor seco a 163 °C durante 30 minutos.

Cada uno de los animales fueron pesados antes y después de la cocción. Se separó la parte comestible de los huesos tanto para la carne cruda como las tratadas térmicamente y se determinó el peso. Se homogenizaron y realizaron los siguientes análisis: humedad, cenizas, nitrógeno, extracto etéreo por A.O.A.C. (4) y colesterol (método enzimático) (5).

La calidad proteica de la carne de chinchilla tratada térmicamente se evaluó mediante el método de Razón Proteica Neta (NPR) (6) y Digestibilidad (7). Se utilizaron ratas cepa Wistar con peso aproximado de 48±2 g y el nivel proteico de las dietas fue 8%.

Con la carne de chinchilla se elaboraron dos productos: escabeche y paté, cuya formulación se observa en los Diagramas 2 y 3.

DIAGRAMA 2
Elaboración de chinchilla al escabeche

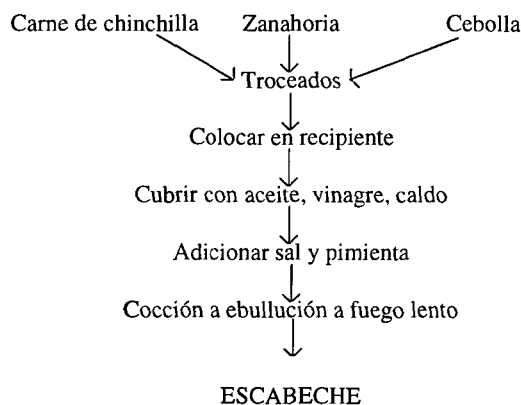
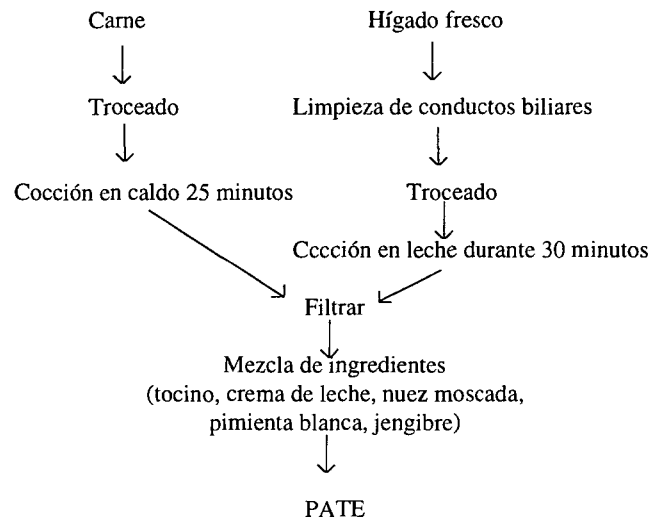


DIAGRAMA 3
Elaboración de paté de chinchilla



La aceptabilidad de las carnes tratadas térmicamente por calor seco y húmedo y de los productos elaborados (paté y escabeche) fueron realizadas por un panel de 30 jueces no entrenados, utilizando una escala hedónica de 9 puntos (8).

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante análisis de varianza (9,10) y prueba de Duncan (9).

RESULTADOS Y DISCUSION

El peso de los animales (despellejados) en crudo y de las carnes tratadas térmicamente se observa en la Tabla 1.

TABLA 1
Peso promedio de la carne de chinchilla cruda y sometida a distintos tratamientos térmicos

Tratamientos	Antes de tratamiento (g)	Después (g)	Carne (g)	Rendimiento después de la cocción (%)
Cruda	240	—	200	
Calor seco (Hervida)	260	160	125	48
Calor húmedo (Horno)	270	180	150	55

Los porcentajes de rendimiento cárnico después de la cocción fueron mayores en las sometidas a calor húmedo (55%) que en las tratadas por calor seco (48%). Esta diferencia puede deberse a la temperatura y tiempo de cocción utilizados en el tratamiento produciéndose una mayor deshidratación.

La composición química de la carne de chinchilla cruda y tratada térmicamente se observa en las Tablas 2 y 3.

TABLA 2
Contenido de humedad, proteínas y extracto etéreo de la carne de chinchilla cruda y sometida a distintos tratamientos térmicos (g / 100 g base húmeda)

Carne	Humedad	Proteína	Extracto etéreo
Cruda	68,24 ± 0,14 ^a	20,03 ± 0,14 ^d	11,26 ± 0,09 ^f
C. húmedo (Hervida)	65,09 ± 0,04 ^b	22,75 ± 0,00 ^e	12,00 ± 0,00 ^g
C. Seco (Horno)	62,49 ± 0,46 ^c	23,50 ± 0,00 ^e	12,92 ± 0,01 ^g

* X ± D.E.

P < 0,01

Las cifras con letras distintas en una columna son significativamente diferentes entre sí.

TABLA 3
Contenido de cenizas y hierro de la carne de chinchilla cruda y sometida a distintos tratamientos térmicos

Carne	Ceniza (g/100 g) *	Hierro (mg/100 g)*
Cruda	1,19 ± 0,01 ^{**}	13,76 ± 1,62
Calor húmedo (Hervida)	1,02 ± 0,01	12,43 ± 2,23
Calor seco (Horno)	1,13 ± 0,11	11,37 ± 0,27

* Base húmeda

** X ± D.E.

P < 0,01

No presentaron diferencias significativas en cada una de las columnas.

El contenido de humedad de la carne de chinchilla cruda fue de 68,24 g/100 g (Tabla 2). Las carnes tratadas térmicamente disminuyeron su porcentaje acuoso con respecto a la cruda, siendo menor en la tratada por calor seco (62,49 g/100 g), esto se debe a la temperatura y tiempo de exposición del alimento al calor debido a la evaporación del agua de constitución, deshidratación y retracción de la fibra muscular (11).

Estadísticamente se encontraron diferencias altamente significativas (P ≤ 0,01) entre las muestras.

El porcentaje proteico de la carne cruda fue de 20,03 g/100 g (Tabla 2). En las carnes tratadas térmicamente (calor húmedo y seco) fueron de 22,75 y 23,50 g/100 g respectivamente, esto se debe a una disminución de la capacidad de retención de agua (12) y una concentración de este nutriente, debido a la formación de la costra de tostación que impide la pérdida de la proteína al medio (12).

En el análisis de la varianza se observaron diferencias altamente significativas (P ≤ 0,01) entre las muestras. En la

prueba de Duncan no se encontraron diferencias entre las carnes tratadas térmicamente.

El valor de extracto etéreo en la carne cruda fue de 11,26 g /100 g (Tabla 2). En las carnes tratadas térmicamente el contenido de extracto etéreo fue mayor que la carne cruda debido a la liberación de los glóbulos grasos de la membrana de la célula y concentración donde el colágeno fue hidrolizado por acción del calor (12). Estadísticamente se observaron diferencias altamente significativas (P ≤ 0,01) entre las muestras. En la prueba de Duncan se observó diferencias entre la carne cruda y la sometida a tratamiento térmico, y no se observó diferencias significativas entre estas últimas.

En la Tabla 3 se observa que el contenido de cenizas para la carne cruda fue de 1,19 g/100 g, y la tratada por calor húmedo fue menor (1,02 g/100 g) que la de calor seco (1,13 g/100 g) debido a que los minerales solubles pudieron haber pasado al medio de cocción (12).

Estadísticamente no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos y la carne cruda.

El porcentaje de hierro para la carne fresca fue de 13,76 mg/100 g (Tabla 3). Las carnes tratadas térmicamente disminuyeron su valor con respecto a la cruda. Estadísticamente no presentaron diferencias significativas.

En la Tabla 4 se observa la composición química, de la carne de chinchilla comparada con otras carnes. El contenido proteico de esta carne es más elevado que el de vaca, cerdo y pollo. Los valores de grasa son similares a los de pollo, aunque mayores a los de la vizcacha. El contenido de hierro es mayor en la carne de chinchilla, esto podría deberse al tipo de alimentación balanceada recibida.

TABLA 4
Contenido de macronutrientes, hierro y colesterol en carnes de chinchilla, vizcacha, vaca, cerdo y pollo

	Chinchilla	Vizcacha (a)	Vaca (b)	Cerdo (c)	Pollo (c)
Humedad *	68,24	75,87	62,10	59,70	65,90
Proteínas *	20,03	20,21	18,70	16,70	18,60
Grasa *	11,26	2,40	18,20	22,60	11,10
Cenizas *	1,19	1,06	1,00	—	—
Hierro **	13,76	2,91	3,20	0,90	0,90
Colesterol **	64,40	50,00	75,00	98,00	75,00

* g/100 g alimento

** mg/100 g alimento

Fuente: a Leal, N. 1990 (13); b INCAP - INCNND.1961 (14); c Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubiran. 1992 (15)

El nivel de colesterol en la carne de chinchilla fue de 64,40 mg/100 g, en tanto que en la carne de vaca es de 75 mg/100 g (15).

El N.P.R. de las carnes tratadas térmicamente por calor

húmedo y seco (5,26 y 5,65 respectivamente) fueron mayores al del patrón (caseína 4,76). De acuerdo al análisis de la varianza, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 5).

TABLA 5

Razón proteica neta y digestibilidad de la carne de chinchilla cruda sometida a diferentes tratamientos térmicos

Dietas	N.P.R.**	Digestibilidad**
Calor húmedo (Hervida)	5,26 ± 0,01	96,75 ± 0,02
Calor Seco (Horno)	5,65 ± 0,02	96,84 ± 0,02
Caseína	4,76 ± 0,36	92,62 ± 0,68

* X ± D.E.

P (0,01

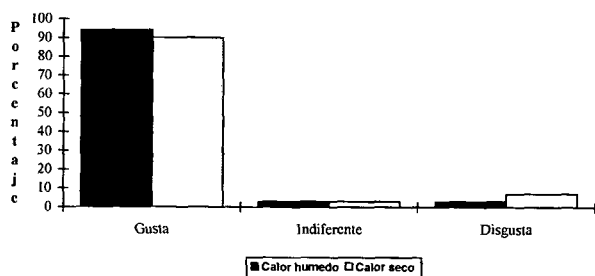
** No presentaron diferencias significativas.

La digestibilidad de las carnes fue de 96,84 (calor seco) y 96,75 (calor húmedo), mayor que la de caseína (92,62) (Tabla 5). Estadísticamente no se observaron diferencias significativas entre las muestras.

La aceptabilidad de la carne de chinchilla tratada por calor húmedo (94%) fue mayor que la calor seco (90%) (Gráfico 1).

GRAFICO 1

Porcentaje de aceptabilidad de la carne de la chinchilla tratada térmicamente



En los productos elaborados a base de carnes del chinchilla, la aceptabilidad fue de 100% para el escabeche y un 82% para el paté (Gráfico 2). Demostrando que estas carnes pueden ser utilizadas en la industria conservera.

Se concluye que la carne de chinchilla tratada térmicamente tiene un buen valor nutritivo y aceptabilidad, destacando que los productos elaborados (Escabeche y Paté) presentaron buena aceptabilidad.

GRAFICO 2

Porcentaje de aceptabilidad de los productos a base de la carne de chinchilla



REFERENCIAS

1. Anbrosini G. La Chinchilla, su Cría y Explotación. Barcelona (España). Editorial Aedos. 1968; pp. 72-76.
2. Olrog C.C. y Lucero MM. Guía de los Mamíferos Argentinos. Ministerio de Cultura y Educación. Fundación Miguel Lillo. San Miguel de Tucumán (República Argentina) 1980; pp. 46-47.
3. Santivañez Morales J. Crianza Moderna de Chinchillas. Editorial Ciencias Veterinarias. México (D.F.) 1971; pp. 13-42.
4. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. 16 th Edition. Washington D.C. 1995. (Compact Disc).
5. Trinder P. Ann Clin Biochem. 6:24 (1969), (Original no consultado compendiado en Widman, S.W. y L., Jrett. Métodos Diagnósticos del Laboratorio Clínico. Tomo I, 8va. ed. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires (Argentina) 1983.
6. Sarwar G. and Leaughlan JM Mc. "Relative Net Protein Ratio Methods for Evaluation Protein Quality". Nutr Resp Int, 1981; 6 (23):1107-1166.
7. Pellett LP y Young RV. "Some rat and Human Bioassay Procedure". Nutritional Evaluation of Protein Foods. The United Nations University, ed. Japón. 1980; pp. 104-112.
8. Watts BM, Ylimaki GL, Jeffery LE y Elías LG. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Ed. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Ottawa. Canadá. 1992.
9. Box GP, Hunter WG y Hunter JS. Estadística para Investigadores. Introducción al diseño de Experimentos, Análisis de datos y construcción de modelos. Ed. Reverté. S.A. Barcelona. España. 1988.
10. Varkevisser CM, Pathmamathan J y Brownlee A. Análisis de datos y redacción de informes. Ed. Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo. Ottawa, Canadá. 1995.
11. Hultin HD. "Caracteres del tejido muscular". En: Fennema, OR. Introducción a la Ciencia de los Alimentos. Editorial Reverté S.A. Barcelona. España Tomo II. 1985; pp. 678-718.
12. Cheftel JC, Louq J y Lorient D. Proteínas alimentarias (Traducido del original en inglés por F López Capont). Zaragoza (España). Editorial Acribia. 1989; pp. 160-163.
13. Leal Natividad, Morón Jiménez MJ, Margalef MI y Herrera SA. "Composición química y evaluación sensorial de la carne de

- vizcacha". Tesis Licenciatura en Nutrición. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta. (Argentina) 1990; pp. 20-34.
14. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y Comité Interdepartamental de Nutrición para Defensa Nacional (ICNND). Tabla de Composición de Alimentos para uso en América Latina. INCAP-ICNND. Guatemala (C.A). 1961; p9. 55-74.
 15. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubiran. Comisión Nacional de Alimentación. Tablas de Uso Práctico del Valor Nutritivo de los Alimentos de Mayor consumo en México. 2° Ed. Zonal. México. 1992.

Recibido: 21-11-1996

Aceptado: 27-10-1997

Notas

Premio 1999 en honor de Fred L. Soper (1893-1976) para trabajos publicados en el campo de la Salud Interamericana

Por la presente se anuncia el Premio 1999 en honor de Fred L. Soper, Director que fue de la Organización Panamericana de la Salud (Oficina Regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud) de 1947 a 1959, y se solicita la presentación a concurso de candidaturas.

Además de los servicios prestados en la OMS/OPS, el Dr. Soper desempeñó un importante papel en la lucha contra la fiebre amarilla y otras enfermedades infecciosas en el Brasil, como parte de su trabajo con la Fundación Rockefeller en los años treinta y cuarenta, así como en la lucha contra el tifo en el Africa septentrional e Italia durante la segunda guerra mundial. El Dr. Soper fue una de las figuras más destacadas del siglo en el campo de la salud interamericana.

Este premio se concede cada año al autor o autores de una contribución científica original que aporta nueva información o nuevas ideas sobre el amplio campo de la salud pública, con especial hincapié en América Latina y el Caribe. Este trabajo podrá tratarse de un informe basado en el análisis de nuevos datos, obtenidos mediante estudios experimentales o de observación, o bien un análisis novedoso de datos que ya existen. Se concede prioridad a los estudios que abarcan más de una disciplina y a los trabajos relacionados con las enfermedades infecciosas, uno de los principales campos de interés del Dr. Soper durante toda su vida.

Solo pueden acceder a concurso los trabajos ya publicados en revistas científicas que figuran en el *Index Medicus* o en las revistas oficiales de la Organización Panamericana de la Salud. Además, este premio solo se concede a contribuciones de autores cuya principal vinculación es a instituciones docentes, de investigación o de servicio ubicadas en países de América Latina y el Caribe (incluidos los Centros de la Organización Panamericana de la Salud).

El Fondo del Premio es administrado por la Fundación Panamericana de la Salud y Educación, la cual recibe contribuciones voluntarias asignadas con este fin y las deposita en un fondo aparte. El premio consiste en un diploma y un monto de EUA\$1,000 dólares. Un Comité del Premio, integrado por representantes nombrados por la OPS y la PAHEF, designa al ganador o ganadores del premio; la selección final la realiza el Directorio de PAHEF.

Puede concursar al Premio Fred L. Soper trabajos presentados por sus autores o en nombre de ellos. A efectos del Premio 1999, solo podrán concursar trabajos publicados durante el año 1998; todos los trabajos presentados a concurso tienen que haberse recibido a más tardar el 31 de marzo de 1999 en la siguiente dirección:

Secretario Ejecutivo
PAHEF
525 23rd Street N.W.
Washington, DC 20037, EUA

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 PREVA 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 Kathleen 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 Lægeforening, The Western Journal of Medicine e Index Medicus.*

³ *Artículo original publicado en el Bol of Sanit Panam 116(2):146-59, 1994.*

de un estudio, aunque la redacción se cambie. Una posible justificación es la publicación secundaria en otro idioma, siempre y cuando se cumplan las siguientes condiciones:

1. Se informará cabalmente a los directores de las dos revistas involucradas; el director de la publicación secundaria tendrá en su poder una fotocopia, reimpresso o manuscrito de la versión primaria.
2. Se respetará la precedencia de la publicación primaria dejando transcurrir un intervalo de por lo menos dos semanas antes de sacar a la luz la versión secundaria.
3. El artículo secundario estará dirigido a un grupo diferente de lectores y no será simplemente una traducción del primario; incluso, a menudo basta con una versión resumida.
4. La versión secundaria reflejará fielmente los datos y las interpretaciones de la primaria.
5. Mediante una nota colocada al pie de la primera página de la versión secundaria, se informará a los lectores, los colegas de los autores y los organismos de documentación que el artículo se ha editado y se destina a un público nacional en paralelo con la versión primaria, basada en los mismos datos e interpretaciones. Este podría ser un texto apropiado para dicha nota: "El presente artículo está basado en un estudio que se dio a conocer primero en (título de la revista y referencia completa)".

Los directores no aceptarán la publicación múltiple que discripe de la definición anterior. Si los autores transgreden esta regla, tendrán que atenerse a las medidas editoriales del caso.

La divulgación preliminar, generalmente por conducto de los medios de comunicación de masas, de la información científica contenida en un artículo ya aceptado pero aún sin publicar representa una infracción de las normas de muchas revistas. En contadas ocasiones, y sólo mediante previo acuerdo con el director, puede aceptarse la diseminación preliminar de datos; por ejemplo, cuando se trata de prever 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. Escríbase 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. Utilícese para este propósito los términos de la lista *Medical Subject Headings* (MeSH) [Encabezamientos de materia médica] del *Index Medicus*; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en los MeSH, podrán usarse las expresiones corrientes.

TEXTO

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que 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

Expresé el propósito del artículo. Resuma el fundamento lógico del estudio u observación. Mencione las referencias estrictamente pertinentes, sin hacer una revisión extensa del tema. No incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.

Métodos

Describa claramente la forma como se seleccionaron los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos los testigos). Identifique los métodos, aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Proporcione referencias de los métodos acreditados, incluidos los de índole estadística (véanse más adelante); dé referencias y explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos; describa los métodos nuevos o sustancialmente modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos los medicamentos y productos químicos utilizados, sin olvidar nombres genéricos, dosis y vías de administración.

Ética

Cuando informe sobre experimentos en seres humanos, señale si los procedimientos seguidos estuvieron de acuerdo con las normas éticas del comité (institucional o regional) que supervisa la experimentación en seres humanos o con la Declaración de Helsinki de 1975, enmendada en 1983. No use el nombre, las iniciales ni el número de clave hospitalaria de los pacientes, especialmente en el material ilustrativo. Cuando dé a conocer experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución, las del Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos o cualquier ley nacional acerca del cuidado y el uso de animales de laboratorio.

Estadística

Describa los métodos estadísticos con detalle suficiente para que el lector versado en el tema y que tenga acceso a los datos

originales pueda verificar los resultados informados. Siempre que sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de error o incertidumbre de la medición (por ej., intervalos de confianza). No dependa exclusivamente de las pruebas de comprobación de hipótesis estadísticas, tales como el uso de los valores *P*, que no transmiten información cuantitativa importante. Analice la elegibilidad de los sujetos de experimentación. Proporcione los detalles del proceso de aleatorización. Describa los medios utilizados para enmascarar las observaciones (método ciego), indicando los resultados que dieron. Informe sobre las complicaciones del tratamiento. Especifique el número de observaciones. Mencione las pérdidas de sujetos de observación (por ej., las personas que abandonan un ensayo clínico). Siempre que sea posible, las referencias sobre diseño del estudio y métodos estadísticos serán de trabajos vigentes (indicando el número de las páginas), más bien que de los artículos originales donde se describieron por vez primera. Especifique cualquier programa de computación de uso general que se haya empleado.

Las descripciones generales de los métodos utilizados deben aparecer en la sección de métodos. Cuando resuma los datos en la sección de resultados, especifique los métodos estadísticos que se emplearon para analizarlos. Limite el número de cuadros y figuras al mínimo necesario para explicar el tema central del artículo y para evaluar los datos en que se apoya. Use gráficas en vez de los cuadros subdivididos en muchas partes; no duplique los datos en las gráficas y los cuadros. Evite el uso no técnico de términos de la estadística, tales como “al azar” (que entraña el empleo de un método de aleatorización), “normal”, “significativo”, “correlación” y “muestra”. Defina los términos, las abreviaturas y la mayor parte de los símbolos estadísticos.

Resultados

En el texto, los cuadros y las ilustraciones, presente los resultados siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto los datos de los cuadros o las ilustraciones; destaque o resuma tan solo las observaciones importantes.

Discusión

Haga hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de ellos. No repita con pormenores los datos u otra información ya presentados en las secciones de introducción y resultados. Explique en la sección de discusión el significado de los resultados y sus limitaciones, incluidas sus consecuencias para la investigación futura. Relacione las observaciones con otros estudios pertinentes. Establezca el nexo de las conclusiones con los objetivos del estudio, pero absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que no estén completamente respaldadas por los datos. No reclame ningún tipo de precedencia ni mencione trabajos que no estén terminados. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales. Cuando sea apropiado, puede incluir recomendaciones.

AGRADECIMIENTOS

En un lugar adecuado del artículo (como nota al pie de la primera página o como apéndice del texto; véanse los requisitos de la revista) una o varias declaraciones especificarán a) las colaboraciones que deben ser reconocidas pero que no justifican la

autoría, tales como el apoyo general del jefe del departamento; b) la ayuda técnica recibida; c) el agradecimiento por el apoyo financiero y material, especificando la índole del mismo; d) las relaciones financieras que puedan suscitar un conflicto de intereses.

Las personas que colaboraron intelectualmente pero cuya participación no justifica la autoría pueden ser citadas por su nombre, añadiendo su función o tipo de colaboración; por ejemplo, "asesor científico", "revisión crítica de la propuesta para el estudio", "recolección de los datos", "participación en el ensayo clínico". Estas personas deberán conceder su permiso para ser nombradas. Los autores se responsabilizan de obtener la autorización por escrito de las personas mencionadas por su nombre en los agradecimientos, pues los lectores pueden inferir que estas respaldan los datos y las conclusiones.

El reconocimiento por la ayuda técnica recibida figurará en un párrafo separado de los testimonios de gratitud por otras contribuciones.

REFERENCIAS

Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. En este, en los cuadros y en las ilustraciones, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Las referencias citadas solamente en cuadros o ilustraciones se numerarán siguiendo una secuencia que se establecerá por la primera mención que se haga en el texto de ese cuadro o esa figura en particular.

Emplee el estilo de los ejemplos que aparecen más adelante, los cuales están basados en el formato que la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos usa en el *Index Medicus*. Abrevie los títulos de las revistas de conformidad con el estilo utilizado en dicha publicación. Consulte la *List of Journals Indexed in Index Medicus* [Lista de revistas indizadas en Index Medicus], que se publica anualmente como parte del número de enero y como separata.

Absténgase de utilizar los resúmenes como referencias. Tampoco cite como referencias las "observaciones inéditas" y las "comunicaciones personales". En cambio, puede usted insertar en el texto (entre paréntesis) las referencias a comunicaciones escritas, no verbales. Asimismo, incluya en las referencias los artículos aceptados aunque todavía no estén publicados; en este caso, indique el título de la revista y agregue "En prensa". La información sobre manuscritos presentados a una revista pero que aún no han sido aceptados cítelos 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, Pestarino A, Piccini R, Gambini C. Localisations palmaires purpuriques de la dermatite herpétiforme. *Ann Dermatol Venerol* 1987;114:1545-7.

5. **Suplemento de un volumen:**

Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 Suppl 5:75-8.

6. **Suplemento de un número:**

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Paine SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

7. **Parte de un volumen:**

Hanly C. Metaphysics and innateness: a psycho-analytic perspective. *Int J Psychoanal* 1988;69(Pt 3):389-99.

8. **Parte de un número:**

Edwards L, Meyskens F, Levine N. Effect of oral isotretinoin on dysplastic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1989;20(2 Pt 1):257-60.

9. **Número sin volumen:**

Baumeister AA. Origins and control of stereotyped movements. *Monogr Am Assoc Ment Defic* 1978;(3):353-84.

10. **Sin número ni volumen:**

Danoek K. Skiing in and through the history of medicine. *Nord Medicinhist Arsb* 1982;86-100.

11. **Paginación en números romanos:**

Ronne Y. Ansvarsfall. Blodtransfusion till fel patient. *Vardfacket* 1989;13:XVI-XXVII.

12. **Indicación del tipo de artículo, según corresponda:**

Spargo PM, Manners JM. DDAVP and open heart surgery [letter]. *Anaesthesia* 1989;44:363-4.

Fuhrman SA, Joiner KA. Binding of the third component of complement C3 by *Toxoplasma gondii* [abstract]. *Clin Res* 1987;35:475A.

13. **Artículo que contiene una retractación:**
Shishido A. Retraction notice: Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retraction of Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. In: Jpn J Med Sci Biol 1979;32:53-65]. Jpn J Med Sci Biol 1980;33:235-7.
14. **Artículo retirado por retractación:**
Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retracted by Shishido A. In: Jpn J Med Sci Biol 1980;33:235-7]. Jpn J Med Sci Biol 1979;32:53-65.
15. **Artículo que contiene un comentario sobre otro trabajo:**
Piccoli A, Bossatti A. Early steroid therapy in IgA neuropathy: still an open question [comment]. Nephron 1989;51:289-91. Comment on: Nephron 1988;48:12-7.
16. **Artículo que ha sido comentado en otro trabajo:**
Kobayashi Y, Fujii K, Hiki Y, Tateno S, Kurokawa A, Kamiyama M. Steroid therapy in IgA nephropathy: a retrospective study in heavy proteinuric cases [see comments]. Nephron 1988;48:12-7. Comment in: Nephron 1989;51:289-91.
17. **Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas:**
Schofield A. The CAGE questionnaire and psycho-logical health [published erratum appears in Br J Addict 1989;84:701]. Br J Addict 1988;83:761-4.

Libros y otras monografías

18. **Individuos como autores:**
Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2nd rev ed. London: S Paul, 1986.
19. **Directores o compiladores como autores:**
Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlar, 1988.
20. **Organización como autor y editor:**
Virginia Law Foundation. The medical and legal implications of AIDS. Charlottesville: The Foundation, 1987.
21. **Capítulo de libro:**
Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974:457-72.
22. **Actas de conferencias:**
Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.
23. **Artículo presentado a una conferencia:**
Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, editors. Indoor air and human health. Proceeding of the Seventh Life Sciences Symposium; 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985:69-78.
24. **Informe científico o técnico:**
Akutsu T. Total heart replacement device. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Heart and Lung Institute; 1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-69-2185-4.
25. **Tesis doctoral:**
Youssef NM. School adjustment of children with congenital heart disease [dissertation]. Pittsburgh (PA): Univ of Pittsburgh, 1988.
26. **Patente:**
Harred JF, Knight AR, McIntyre JS, inventors. Dow Chemical Company, assignee. Epoxidation process. US patent 3,654,317. 1972 Apr 4.

Otros trabajos publicados

27. **Artículo de periódico:**
Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. The Washington Post 1989 Aug 7;Sect A:2(col 5).
28. **Material audiovisual:**
AIDS epidemic the physician's role [videorecording]. Cleveland (OH): Academy of Medicine of Cleveland, 1987.
29. **Archivo de computadora:**
Renal system [computer program]. MS-DOS version. Edwardsville (KS): Medi-Sim, 1988.
30. **Documentos legales:**
Toxic Substances Control Act: Hearing on S776 Before the Subcomm. on the Environment of the Senate Comm. on Commerce, 94th Congr., 1st Sess. 343 (1975).
31. **Mapas:**
Scotland [topographic map]. Washington: National Geographic Society (US), 1981.
32. **Libro de la Biblia:**
Ruth 3:1-18. The Holy Bible. Authorised King James version. New York: Oxford Univ Press, 1972.
33. **Diccionarios y obras de consulta semejantes:**
Ectasia. Dorland's illustrated medical-dictionary. 27th ed. Philadelphia: Saunders, 1988:527.
34. **Obras clásicas:**
The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. Londond: Rex, 1973.

Trabajos inéditos

35. **En prensa:**
Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. Science. In press.

CUADROS

Mecanografía o imprema cada cuadro a doble espacio y en hoja aparte. No presente los cuadros en forma de impresiones fotográficas. Numérelos consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada uno. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilídense los símbolos siguientes en la secuencia que se indica:

*, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡,

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como

la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros.

Cerciórese de que cada cuadro sea citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde.

Incluir un número excesivo de cuadros en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto.

Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para ser publicados, queden depositados en un servicio de archivo, como el National Auxiliary Publications Service (NASP) [Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares] en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Sea como fuere, dichos cuadros se presentarán junto con el artículo.

ILUSTRACIONES (FIGURAS)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan 127×173 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*.

El desayuno:

el alimento más importante del día.

El desayuno es el alimento más importante del día. Existe suficiente evidencia científica para sustentar esta declaración. Sin embargo es necesario utilizar esta evidencia para promover el consumo del desayuno en la población general.

Hay evidencia científica que demuestra que un desayuno bajo en grasas, colesterol, y alto en fibra, aunado a un estilo de vida saludable, puede llegar a reducir los factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y obesidad en adultos.

El desayuno no sólo es importante para una buena nutrición y salud, sino también para un buen desempeño matutino.

El impacto del desayuno en el desempeño cognoscitivo es particularmente importante en los escolares por varias razones. Primero, los escolares no tienen acceso a muchos alimentos durante la mañana, y segundo las labores que los niños realizan en la escuela requieren el uso de una variedad de habilidades cognoscitivas y de comportamiento.

Los niños que omiten el desayuno no son tan eficientes en la selección de información crítica para la solución de problemas como sus compañeros que si consumen esta comida. La habilidad para recordar y utilizar información nueva, la fluidez verbal y el control de la atención son las funciones más afectadas.

La importancia del desayuno en las funciones cognoscitivas ha sido demostrada en adultos jóvenes y ancianos. Investigaciones acerca del papel del desayuno en el rendimiento mental han encontrado que los niveles de glucosa están asociados con la función de memoria. La función cerebral es sensible a las variaciones en la disponibilidad de suministro de nutrientes y energía.

El desayuno es importante para lograr las recomendaciones dietarias de nutrientes. Algunos estudios han demostrado que la omisión del desayuno provoca una inadecuada ingesta diaria de vitaminas y minerales, y que los nutrientes que no son consumidos durante el desayuno pueden no ser consumidos en otros alimentos durante el día.

Cumpliendo nuestro compromiso en la nutrición
Kellogg's®

Sociedad Latino Americana de Nutrición

S.L.A.N.

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada hace más de 25 años con el fin de integrar los esfuerzos de profesionales calificados para promover y mejorar el conocimiento de los problemas nutricionales de los países de la región y de las alternativas de prevención y tratamiento que ofrece la nutrición como ciencia.

Cualquier persona que se encuentre profesionalmente activa o que haya contribuido de manera significativa al avance de la nutrición o disciplinas afines, puede asociarse a SLAN, para lo cual debe enviar una carta de solicitud avalada por dos Socios Activos y su curriculum actualizado. Debe igualmente anexar la documentación que pruebe la publicación de por lo menos, dos trabajos en revistas de nivel internacional en los últimos cinco años.

La solicitud puede dirigirse a la Presidencia de la Sociedad, en Ciudad de Guatemala, a los Vocales representantes de Area o a los Capítulos de SLAN en los respectivos países.

El Consejo Directivo está integrado por: Hernán L. Delgado (Presidente), Alejandro O'Donnell (Presidente Electo), Rafael Flores (Secretario), María Teresa Menchú (Tesorera), Esther Casanueva, Elizabeth Vargas de Frias, Manuel Grillo, Zayda Gotera de Prado, Héctor Araya, Olga María Amancio y Carlos Hernán Daza (Vocales).

Los Socios deben pagar una cuota anual de US \$30, que incluye la suscripción de la revista.

El órgano oficial de SLAN es la conocida revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN), la cual vuelve a ser editada desde 1992 en Caracas, Venezuela. Los manuscritos para publicación deben ser enviados al Editor General, Dr. Virgilio Bosch, o al Editor Asociado, Dr. José Félix Chávez.

La correspondencia destinada a la SLAN debe dirigirse al Dr. Hernán L. Delgado, INCAP, Apartado Postal 1188. Guatemala, C.A. (Fax: 502-2. 736529) y la de ALAN al Apartado 62.778, Chacao, Caracas 1060, Venezuela o a su número de Fax: (58-2) 2848543.

¿CAMBIO DE DOMICILIO?

¿CHANGING YOUR ADDRESS?

Por favor, escriba su nueva dirección abajo y envíela al Departamento de Suscripciones de ALAN, adjuntando la etiqueta de un sobre de envío. Le rogamos avisarnos con 60 días de anticipación/Please print your new address below and return to the Journal Subscription Dept. with our label. Please advise 60 days in advance.

Nombre/Name:

Calle/Street:

Ciudad/City:

Estado, País/State, Country:

Código Postal/Postal Code:

Por favor enviar ALAN a mi nueva dirección a partir de: / Date new address effective:

Sociedad Latino Americana de Nutrición

S.L.A.N.

SOLICITUD DE INSCRIPCION

Nombre: _____

Título Profesional: _____

Estudios de Postgrado: _____

Cargo: _____

Lugar de trabajo: _____

Dirección del trabajo: _____

Código Postal: _____ Ciudad: _____

Teléfono: _____ Fax: _____ Télex: _____

Dirección Postal: _____

Código Postal: _____ Ciudad: _____ País: _____

Teléfono: _____ Fax: _____ Télex: _____

Fecha de la solicitud: ____ / ____ / ____

Anote las referencias bibliográficas de dos de sus publicaciones más recientes:

1. _____

2. _____

Socios de SLAN que le postulan

Nombre:

Firma:

Adjunte su Curriculum Vitae actualizado.

La cuota anual de SLAN es de \$30 con la revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición y de \$10 sin la revista.
Los cheques deben ser emitidos en US \$ a nombre de: SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION.

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

SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION (SLAN)

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada el 10 de Noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental. El actual Consejo Directivo de la SLAN está constituida por los siguientes miembros:

Presidente	Dr. Alejandro O'Donnell
Presidente Electo	Dr. Adolfo Chávez V.
Secretario	Dr. Esteban Carmuega
Tesorero	Dr. Raúl Uieich
Vocal	Dr. Armando Rodríguez Suárez
Vocal	A confirmar por el Capítulo
Vocal	"
Vocal	"
Vocal	"
Vocal	"
Vocal	"
Presidente Saliente	Dr. Hernán L. Delgado

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Editor General	Dr. José Félix Chávez
Editor Asociado	Dra. Maritza L. de Jiménez

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL PERIODO 1998-2000

Dr. Guillermo Arroyave	Dr. Reynaldo Martorell
Dr. Juan de Dios Alvarado	Dr. Manolo Mazariegos
Dr. Héctor Araya	Dr. Luis A. Mejía
Dr. José Alfredo G. Areas	Dr. Rafael Monge R.
Dr. Jaime Ariza M.	Dra. Josefina Morales
Dr. Daniel Barrera Arellano	Dr. Santiago Muzzo
Dr. José María Bengoa	Dr. J.E. Dutra de Oliveira
Lic. Adriana Blanco M.	Dra. Rosa María Ortega A.
Dr. Héctor Bourges R.	Dra. Nelly Pak
Dr. Ricardo Bressani	Dr. Ernesto Pollitt
Dr. Jesús Bulux	Dra. Myriam Puig A.
Dr. Benjamín Caballero	Dra. María Ester Río
Dr. Germán Camejo	Dra. Lilia Masson Salaué
Dra. Sara J. Ciosa	Dra. María Elena Sambucetti
Dr. Adolfo Chávez V.	Dr. Nilson E. de Sousa
Dr. Omar Dary	Dra. Nora Slobodianik
Dr. Luiz G. Elías	Dr. Noel W. Solomons
Dra. Patricia R. de Ferrer	Dr. Luiz C. Trugo
Dra. Marisa Guerra M.	Dr. Ricardo Uauy D.
Dr. Werner G. Jaffé	Dr. Helio Vannucchi
Dra. Gladys Henríquez P.	Dra. Mirtha E. Valencia
Dra. Elena Hurtado	Dr. Mauro Valencia J.
Dra. Susana J. Icaza	Dra. Yolanda H. de Valera
Dra. Maritza L. de Jiménez	Dr. Tomás Walter
Dr. Miguel Layrisse	Dra. Carolyn Jane Wyatt
Dr. Irvin E. Liener	Dra. Dorothy Wilson
Dra. María L. P. Martín de Portela	Dr. Enrique Yáñez S.
Dr. Julio Sergio Marchini	

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Contenido

	Páginas
EDITORIAL	5
ARTICULOS GENERALES	
γ-Oryzanol: Un importante componente del aceite de salvado de arroz Eliete Malfatti Serra Scavariello, Daniel Barrera Arellano	7
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Peso para la talla en adultos: comparación de clasificaciones con y sin corrección por contextura Rosa Armenia Hernández Hernández, Yolanda Hernández de Valera	13
Estado nutricional de alumnos matriculados em escolas públicas de tempo integral^o. São Paulo, Brasil Marina Vieira da Silva	18
Efecto de la altura sobre la absorción del hierro Fernando Pizarro, Nelly Zavaleta, Eva Hertrampf, Rocío Berlanga, Liliana Camborda, Manuel Olivares	25
Bioquímica Nutricional	
La dieta como determinante del desarrollo del sistema nervioso central: Rol de los ácidos grasos esenciales Mariane Lutz	29
Methionine supplementation of soya products: Effects on nitrogen balance parameters José Eduardo Dutra de Oliveira, Nelson de Souza, Alceu Alfonso Jordão Jr. J. Sérgio Marchini	35
Ciencia de Alimentos	
Comparative study of beans from vine and bush type of vegetative growth. Effect of storage on cell wall components as factors in increasing cooking time Ricardo Bressani, Eduardo Calderon, Carlos Chon	41
Efecto de la cocción sobre la digestibilidad proteica del sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> (L) Moench) Agudelo R.A., Alarcón O.M., Fliedel G.	47
Inactivación de lipoxigenasas e inhibidores de tripsina en un proceso de obtención de leche de soja por molienda directa y ultra alta temperatura (MD-UAT) Hugo Geronazzo, Alberto Macoritto, Adela Mercado, María A. Toro, Carlos M. Cuevas	52
Métodos de extracción de quitina a partir de cáscara de camarón Araceli Pinelli Saavedra, Alma Rosa Toledo Guillén, Ingrid Rebeca Esquerria Brauer, Alma Rosa Luviano Silva, Inocencio Higuera Ciapara	58
A test to detect cane-sugar-honey Patricia Vit	62
Avaliação dos teores de ferro nos alimentos da cesta básica Eliana Rose Serpe Elpo, Renato João Sossela de Freitas, Eliane Carneiro Gomes	65
Microbiología de Alimentos	
Presencia de coliformes totales, <i>Escherichia coli</i> y <i>Listeria</i> sp. en fórmulas enterales Ma. Laura Arias, Rafael Monge, Julia Rodríguez.....	68
LatinFoods	
Composición lipídica de huevos de gallinas alimentadas con productos grasos y proteicos marinos Carola García, Cecilia Albala.....	71
Valor nutritivo y aceptabilidad de la carne de chinchilla Silvia Rocío Echalar, María Joaquina Morón Jiménez, Adriana Noemí Ramón.....	77
NOTAS	82
INFORMACION PARA LOS AUTORES	83