

# ALAN

Volumen 48. N° 4. Diciembre 1.998

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

Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

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

Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición

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



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


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

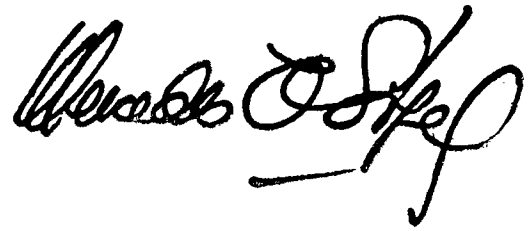
*Archivos Latinoamericanos de Nutrición* (ALAN) is the official publication of the Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), for the dissemination of knowledge in the fields of food and nutrition, principally throughout the American Hemisphere. Articles in Spanish, English, Portuguese and French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

**Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición**

Apartado 62.778. Chacao.  
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.**
- **Savoy Brands Venezuela, C.A.**
- **Cadipro Milk Products, C.A.**
- **ADM Protein Specialties**



# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la  
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

---

VOL 48

DICIEMBRE 1998

Nº 4

---

## Contenido

Páginas

### ARTICULOS GENERALES

**Programas y políticas referentes al déficit de crecimiento. (Repercusiones de una línea de investigación realizada en Chile)**

Hugo Amigo, Patricia Bustos ..... 281

### TRABAJOS DE INVESTIGACION

#### Bioquímica Nutricional

**Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition**

O. Angulo-Guerrero and R.R. Oliart ..... 287

**Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on adenylate cyclase, 5' nucleotidase and Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activities in rat brain-plasma membrane**

Ofelia Angulo-Guerrero and R.R. Oliart ..... 293

**Efeito do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos**

Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Paulo F.G. Leal, Tânia T. Oliveira ..... 299

**Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos**

Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Renato M. Nunes, Paulo F. G. Leal ..... 306

<b>Avaliação da qualidade nutricional da proteína da folha de mandioca combinada com a caseína pela reação de plasteína</b>	
Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Luiz Carlos Guedes de Miranda, George Henrique Kling de Moraes, Luciano Esteves Peluzio .....	311
<b>Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido (<i>Opuntia ficus indica</i>) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteína y glucosa en sangre de ratas</b>	
María Luisa Cárdenas Medellín, Sergio O. Serna Saldívar, Jesús Velazco de la Garza .....	316
<b>Ciencia de Alimentos</b>	
<b>Evaluación químico-nutricional de <i>Sorghum saccharatum</i> var. <i>sugar drip</i>. Estudio de complementación con proteína de lactosuero</b>	
Mirta L. de Arellano, José A. Cid, Isabel T. Gimenez, Sara Mucciarelli .....	324
<b>Efecto de la cocción sobre la composición química y valor nutricional de la semilla de <i>Pithecello bium flexicaule</i> (Bent)</b>	
Ma. Guadalupe Alanis Guzmán, Mario Rafael González Quijada, Roberto Mercado Hernández .....	328
<b>Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran</b>	
Alex Augusto Gonçalves, Eliana Badiale-Furlong, Leonor Almeida de Souza-Soares, Simone Treibs Siervs .....	334
<b>Avaliação da composição em aminoácidos de <i>Pleurotus spp.</i> cultivados em folha de bananeira</b>	
Marcia Regina T. de Camargo Ranzani, Gilma L. Sturion .....	339
<b>Tecnología de Alimentos</b>	
<b>Mejoramiento de la calidad nutricional de pan tipo francés</b>	
Hugo Diego Sánchez, Carlos Alberto Osella, María Adela G. de la Torre .....	349
<b>LatinFoods. Composición de Alimentos</b>	
<b>Fatty acid composition of beef, pork, and poultry fresh cuts, and some of their processed products</b>	
Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny/Carrillo de Padilla, Eduardo Martín G. ....	354
<b>Composición química de tres cepas mexicanas de setas (<i>Pleurotus ostreatus</i>)</b>	
Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanis Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L. García Díaz .....	359
<b>INFORMACION PARA LOS AUTORES</b> .....	364
<b>INDICE GENERAL DEL VOLUMEN 48, 1998</b> .....	371
<b>INDICE DE AUTORES</b> .....	375
<b>INDICE DE MATERIAS</b> .....	382

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the  
Latin American Society of Nutrition

---

VOL 48

DECEMBER 1998

Nº 4

---

## Contents

	Pages
<b>GENERAL ARTICLES</b>	
<b>Programs and politics towards growth deficit. (Consequences of a line of research carried out in Chile)</b> Hugo Amigo, Patricia Bustos .....	281
<b>RESEARCH PAPERS</b>	
<b>Nutritional Biochemistry</b>	
<b>Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition</b> O. Angulo-Guerrero and R.R. Oliart .....	287
<b>Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on adenylate cyclase, 5' nucleotidasa and Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activities in rat brain-plasma membrane</b> Ofelia Angulo-Guerrero and R.R. Oliart .....	293
<b>The cholesterol-lowering effect of black beans (<i>Phaseolus vulgaris</i>, L.) without hulls in hypercholesterolemic rats</b> Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Paulo F.G. Leal, Tânia T. Oliveira .....	299
<b>The cholesterol-lowering effect of black, carioquinha and red beans (<i>Phaseolus vulgaris</i>, L.) in hypercholesterolemic rats</b> Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Renato M. Nunes, Paulo F. G. Leal .....	306
<b>Nutritional evaluation of protein quality of cassava leaf combined with casein by plastein reaction</b> Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Luiz Carlos Guedes de Miranda, George Henrique Kling de Moraes, Luciano Esteves Peluzio .....	311

<b>Effect of raw and cooked nopal (<i>Opuntia ficus indica</i>) ingestion on growth and total cholesterol, lipoproteins, and blood glucose in rats</b>	
María Luisa Cárdenas Medellín, Sergio O. Serna Saldívar, Jesús Velazco de la Garza .....	316
<b>Food Science</b>	
<b>Chemical nutritional evaluation of <i>Sorghum saccharatum</i> var. <i>sugar drip</i>. A supplementation study with proteins</b>	
Mirta L. de Arellano, José A. Cid, Isabel T. Gimenez, Sara Mucciarelli .....	324
<b>Effect of cooking on the chemical and nutritional value of the <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Bent) seed</b>	
Ma. Guadalupe Alanis Guzmán, Mario Rafael González Quijada, Roberto Mercado Hernández .....	328
<b>Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran</b>	
Alex Augusto Gonçalves, Eliana Badiale-Furlong, Leonor Almeida de Souza-Soares, Simone Treibs Siervs .....	334
<b>Amino acid composition evaluation of edible mushrooms (<i>Pleurotus spp.</i>) cultivated on banana leaves</b>	
Marcia Regina T. de Camargo Ranzani, Gilma L. Sturion .....	339
<b>Food Technology</b>	
<b>Nutritional improvement of French type bread</b>	
Hugo Diego Sánchez, Carlos Alberto Osella, María Adela G. de la Torre .....	349
<b>LatinFood: Food Composition</b>	
<b>Fatty acid composition of beef, pork, and poultry fresh cuts, and some of their processed products</b>	
Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny Carrillo de Padilla, Eduardo Martín G. ....	354
<b>Chemical composition of three Mexican strains of <i>Pleurotus ostreatus</i></b>	
Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanis Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L. García Díaz .....	359
<b>INFORMATION TO AUTHORS</b> .....	364
<b>GENERAL INDEX OF VOLUMEN 48, 1998</b> .....	371
<b>AUTHOR INDEX</b> .....	375
<b>SUBJECT INDEX</b> .....	382

## Programas y políticas referentes al déficit de crecimiento. (Repercusiones de una línea de investigación realizada en Chile)

*Hugo Amigo y Patricia Bustos*

Centro de Nutrición Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago de Chile

**RESUMEN.** Esta comunicación plantea sugerencias para programas y políticas referentes al déficit de crecimiento en estatura, basadas en el enfoque de las estrategias sociales y en los resultados de una línea de investigación realizada en escolares chilenos.

Estos resultados indican que el déficit de talla se concentra en grupos sociales de nivel socioeconómico bajo y que los principales factores de riesgo están relacionados con la baja estatura de los padres, el haber presentado una historia de enflaquecimiento o desnutrición, talla baja al nacer y bajo ingreso per-cápita. Este déficit de crecimiento es de inicio precoz, ocurre fundamentalmente antes de los dos años de vida y como consecuencia se observa que los niños bajos provenientes de zonas de alta vulnerabilidad social presentan menor rendimiento escolar.

Las sugerencias consideran la orientación que deberían tener las políticas sociales, la selección de beneficiarios, contenidos de los programas, gestión, inconvenientes y desafíos, mencionándose: - Que las políticas sociales deben tener objetivos de base amplia que permitan que los beneficios alcancen prioritariamente a los grupos marginalizados, que deben formularse programas focalizados que incluyan: atención prenatal oportuna de mujeres con perfil de riesgo de un recién nacido con retraso de crecimiento intrauterino, promoción del crecimiento infantil, suplementación alimentaria, fortificación de alimentos y fomento de actividad física. - En la ejecución de programas, el Estado debe mantener un rol básico en la promoción y fiscalización de ellos, en la regulación de los aportes privados y en el fomento de la participación de la comunidad organizada y solidaria. - Se alerta sobre las restricciones que actualmente se observan en el rol del Estado y la falta de evaluación de las intervenciones. En relación a los desafíos, sería deseable la integración regional e internacional en relación al intercambio de recursos humanos y generaciones del conocimiento y finalmente se debe conseguir la complementariedad de las acciones para que el niño desarrolle todo su potencial de crecimiento.

**Palabras clave:** Programas nutricionales, déficit de crecimiento, escolares.

**SUMMARY.** Programs and politics towards growth deficit. (Consequences of a line of research carried out in Chile). This communication offers suggestions for programs and policies in relation to stunting within the infant population. The proposal is based on current social strategies and the results of research carried out on Chilean school children.

These results indicate that height deficit is concentrated in sectors of the population belonging to low socio-economic levels, and the risk factors are related to the small stature of their parents with a record of undernutrition, small size at birth and low per capita income. This deficit begins early, occurring mainly before the child's second birthday and as a consequence is reflected in below average performance at school of those children living in areas of social vulnerability.

Suggestions offered take into account the orientation that should be considered for social policies, the selection of beneficiaries, program contents and management and problems that need to be overcome. Among these, the following issues are highlighted: - That the social welfare programs designed to combat stunting in the infant population should have, as a priority objective, the aim of benefiting sectors of the population most at need. It is vital to include in these programs: adequate pre-natal care of women with a high risk profile of giving birth to a child with intrauterine growth retardation; promotion of child growth; food supplementation and/or fortification, and improvement of physical fitness. - The government should play a leading role in the promotion and management of these programs, in the regulation of private sector involvement, as well as promoting local community participation. - Warnings are given about the inadequacies of present government social welfare policies related to infant nutrition, and the lack of research carried out into the effectiveness of current programs. In relation to future aims, we would like to see more emphasis put into the integration of international and regional intervention programs aimed at combating infant undernutrition. This would include sharing resources and collecting information related to the problem. Finally, all these actions should be aligned and focused on the principal aim; allowing children to reach their full growth potential.

**Key words:** Nutritional programs, growth deficit, school children.

### CONSIDERACIONES GENERALES

Con el propósito de entregar sugerencias para intervenciones destinadas a que el niño desarrolle todo su potencial de

crecimiento es necesario considerar la evolución de los principales indicadores relacionados con su déficit y las características de las estrategias de desarrollo social.

Los indicadores que miden la situación materno-infantil

han logrado avances importantes, lo que es evidente a partir de los años sesenta, observándose que la mortalidad infantil ha disminuido desde 85,2% en 1960-1965 hasta 47% en el quinquenio 90-95 (1), destacando que tres países de la región presentan valores inferiores a 15 (Costa Rica, Cuba y Chile) (2).

El bajo peso al nacer, indicador indirecto del estado nutricional materno y predictor de la morbi-mortalidad infantil, muestra también una tendencia favorable existiendo una clara disminución hasta 1992 aunque ha sido menos acentuada estos últimos años. Se debe mencionar que en algunos países se han alcanzado cifras inferiores al 7,0%, con valores semejantes a los observados en los países desarrollados (3).

La desnutrición infantil, medida por el indicador peso/edad, ha descendido y en algunos lugares se han observado valores inferiores a los esperados de acuerdo a la referencia NCHS/OMS (4), sin embargo en la mayoría de los países de la región existen altas prevalencias de déficit de talla para edad y éste es especialmente frecuente en lugares donde habita la población de nivel socioeconómico bajo (5).

Los países, en que se ha observado una mejoría de la situación nutricional, son los que han presentado altas tasas de crecimiento económico por un período constante. Debe destacarse que cuando este crecimiento ha ido acompañado por un aumento de los ingresos de los más pobres la situación nutricional ha mejorado aún más (6), aunque todavía persisten sectores poblacionales marginalizados del progreso y de sus beneficios.

Algunos gobiernos han logrado éxito en la lucha por superar la pobreza, conciliando el crecimiento económico con reducción del desempleo e inflación y en menor medida redistribución del ingreso, aunque los progresos han sido inferiores a lo esperado (7). Para continuar mejorando las condiciones de la población materno infantil deberán hacerse esfuerzos todavía más originales en que se les confiera la debida protección a los sectores más desposeídos.

Las sugerencias que aquí se indican se desprende de los resultados de una línea de investigación que se inició en 1991 en Chile y que ha estudiado la dimensión del déficit de crecimiento (en sectores de pobreza rural y urbana así como en el nivel socioeconómico medio-alto), sus factores condicionantes y algunas consecuencias. Estos comentarios también han considerado las tendencias y desafíos de las estrategias sociales para mejorar la condición de los sectores más postergados.

## RESULTADOS

Esta línea de investigación consta de varios estudios que tuvieron básicamente cuatro fases: medición de escolares de seis a ocho años, análisis de los factores de riesgo y protección asociados al déficit de crecimiento, construcción de curvas de crecimiento de estos escolares y algunas consecuencias de este déficit.

### Dimensión del problema

En los estudios realizados, se evaluaron 10309 escolares de primer y segundo años básico provenientes de escuelas municipales de comunas urbanas y rurales pobres así como 2770 niños de colegios particulares de nivel socioeconómico (NSE) medio-alto, de Santiago. En uno de los estudios se midió adicionalmente a los progenitores de los escolares completándose 525 parejas de padres en el NSE bajo y 420 en el medio-alto.

*Prevalencia del déficit de crecimiento:* En el NSE bajo la prevalencia de déficit de estatura según la edad (inferior a menos 1 puntaje z) fue alrededor de 30% (8,9), que contrasta con un 8% encontrado en el NSE medio-alto. Lo anterior confirma lo pertinente que es ejecutar intervenciones para disminuir las altas prevalencias de déficit en el NSE bajo. El que en el NSE medio-alto, las cifras de déficit sean menores a lo esperado, según lo establecido por el patrón de referencia NCHS/OMS, indicaría que las condiciones ambientales satisfactorias favorecen un crecimiento óptimo (10).

*Comparación de estatura entre padres e hijos:* El promedio de estatura de las madres de niños de NSE bajo, fue 6,1 cm menor que la de las madres del NSE medio-alto, diferencia que alcanzó a los 7,4 cm en los padres ( $p < 0.001$ ). La adecuación de estatura (media en puntaje z) es significativamente mejor en los hijos que en sus padres en el nivel social bajo: así estos escolares están creciendo (a esta edad) casi una desviación estándar más que sus padres, lo que es alentador. Los escolares de nivel medio-alto crecen en forma semejante a sus padres lo que da entender que en este nivel social, el potencial de crecimiento se expresa totalmente (11).

### Factores condicionantes de talla baja

La determinación de factores de riesgo, se realizó mediante diseños de tipo caso-control, en que se consideró caso a aquellos escolares de seis a ocho años que tenían un déficit de talla/edad entre menos 1 y menos 3 puntajes (pje) z de la mediana del patrón antropométrico y controles (estatura normal) a los escolares de igual edad cuya estatura se situaba entre más o menos medio pje z.

Mediante análisis multivariados se determinó que los principales factores biológicos asociados a déficit de crecimiento (en ambos niveles sociales), son la baja estatura de los padres, el haber presentado una historia de enflaquecimiento y/o desnutrición y la talla baja al nacer (8,12).

De los factores sociales identificados se debe mencionar, el bajo ingreso per-cápita, a la inversa, al tener un ingreso suficiente constituye factor protector. La embriaguez de algún miembro de la familia, ausencia de previsión en salud y lactancia materna de corta duración también constituyen factores de riesgo significativos (13).

En el NSE medio-alto, se constató un limitado número de factores asociados a la talla baja del escolar, lo que plantea que en este nivel la genética (medida a través de la estatura de los padres) es el factor de mayor relevancia.

### Características del crecimiento

El análisis de las curvas de crecimiento de los niños de NSE bajo demostró que los escolares talla baja presentan menor crecimiento en estatura, de inicio muy precoz (antes de los seis meses) y que éste ocurre fundamentalmente durante los dos primeros años de vida (14).

### Consecuencias del déficit de crecimiento

Se determinó la asociación entre déficit de crecimiento y rendimiento escolar en el NSE bajo constatándose que los niños de talla baja tienen menores notas de pase, mayor riesgo de presentar trastornos del aprendizaje y repitencia. Estos aspectos negativos en el proceso de aprendizaje posiblemente redunden posteriormente en menores oportunidades laborales (15).

En el Cuadro 1 se presenta un resumen de las principales conclusiones de la línea de investigación.

CUADRO 1

Principales resultados sobre el déficit de crecimiento derivados de una línea de investigación realizada en Chile

Aspectos	Resultados
Dimensión del problema	Alrededor de un tercio de los escolares de nivel social bajo presentan déficit de talla para edad (más de una desviación estándar) en el nivel alto no superan el 10%.
Relación padres e hijos	Los niños de nivel bajo están creciendo por un canal superior al de sus padres. Los del nivel medio-alto lo hacen por uno muy similar al de sus padres.
Factores biológicos asociados a talla baja	Baja estatura de los padres, talla baja al nacer, enflaquecimiento y la lactancia materna muy corta.
Factores sociales asociados con talla baja	Bajo ingreso per-cápita, embriaguez de algún miembro de la familia, ausencia de previsión de salud.
Características del crecimiento	Los escolares talla baja tienen un crecimiento menor de inicio precoz y ocurre básicamente antes de los dos años de vida.
Consecuencias del déficit de crecimiento	Los niños talla baja de nivel socioeconómico bajo tienen menores calificaciones, más trastornos de aprendizaje y repitición.

### Sugerencias para políticas y programas

Las sugerencias que aquí se presentan están dirigidas a la orientación de las políticas, selección de beneficiarios, conte-

nido de los programas, su gestión, limitaciones y obstáculos que podrán encontrarse los próximos años.

### Orientación de las políticas

En líneas generales, las políticas sociales -incluyendo las intervenciones nutricionales- deben tener dos grandes objetivos: a largo plazo fomentar el progreso social, es decir ampliar la participación de los más desposeídos en los beneficios del desarrollo socioeconómico y a corto plazo proporcionar una red de seguridad social para proteger a los segmentos más desfavorecidos.

Para lo anterior se debe establecer la proporción del presupuesto fiscal que un país debe destinar al gasto social. La Comisión Económica para América Latina (CEPAL) ha definido como un gasto social aceptable aquel superior al 15% del Producto Interno Bruto (PIB) y UNICEF esta fomentando la iniciativa 20-20 que consiste en asignar al gasto social 20% de los recursos gubernamentales y 20% de las contribuciones de países donantes (16,2).

Pero no es suficiente establecer una determinada proporción sino que deben realizarse esfuerzos para que este gasto alcance a los grupos más desprotegidos y así reducir la desigualdad de ingreso en las distintas clases sociales. Un ejemplo de lo anterior es destinar una fuerte inversión a educación con la finalidad de mejorar el capital humano (que pueda competir en un mundo en que las innovaciones tecnológicas son muy frecuentes) así como mejorar la calidad y eficiencia de los servicios destinados a los grupos de riesgo.

### Selección de beneficiarios

En la actualidad la focalización es la estrategia que han asumido los gobiernos para concentra los esfuerzos fiscales en beneficios sociales relacionados con nutrición, salud, pensiones, vivienda, etc. (17).

Para aplicar este concepto de focalización la mayoría de los países han abordado el tema mediante la elección de indicadores que estiman la pobreza y las necesidades de programas de los grupos más necesitados y así se han seleccionado, como grupos prioritarios, segmentos poblacionales de extrema pobreza, marginalizados urbanos, población rural, indígenas, etc.

En el área de nutrición y salud los mecanismos de focalización de los programas se han basado en la selección de beneficiarios utilizando la edad y el estado fisiológico, probablemente por ser ésta la forma más operacional, aunque en estos últimos años se ha intentado utilizar un concepto diferente, basado en criterio más específicos considerando otras características que afectan a las personas.

Los resultados de esta línea de investigación, destacan algunos elementos que deberían ser tomados en consideración para la definición de beneficiarios en la prevención o reducción del déficit de crecimiento: ingreso, talla baja al nacer y desnutrición, aspectos que se discutirán a continuación.

- El ingreso es el indicador económico más asociado con déficit de crecimiento en el área urbana, aunque es una

información de difícil recolección en la clase social baja ya que la inestabilidad laboral es alta, los trabajos temporales son comunes y existe endeudamiento por lo que la exactitud del dato no es ideal. En lugares donde la pobreza es generalizada el ingreso no es el indicador más apropiado, pero a medida que los países progresan y algunos grupos sociales abandonan la marginalidad, el definir grupos focales basados en la renta familiar o indicadores afines, debiera ser más utilizada.

El desafío entonces es encontrar indicadores operativos asociados con el ingreso. En este sentido utilizar las encuestas nacionales que miden el progreso social puede ser un instrumento útil para identificar índices más apropiados. En una evaluación reciente del Programa Nacional de Alimentación Complementaria de Chile se sugirió hacer uso de la asignación familiar como elemento económico para seleccionar beneficiarios de este programa (18).

- Otro predictor de déficit de crecimiento de escolar es la talla baja al nacer. Curiosamente la longitud al nacer ha sido menos utilizada que el peso de nacimiento, a pesar que también se recolecta periódicamente en las maternidades de muchos países de la región. En lugares, donde el problema de "déficit de estatura" es superior al de peso sería recomendable utilizar esta información para seleccionar beneficiarios.

- El antecedente de desnutrición (medida como el déficit de peso según edad) debería también ser considerado para definir grupos objetivos de estos programas, como ha sido utilizado en nuestro país para la selección de grupos que necesitan intervenciones de refuerzo nutricional. La discusión puede surgir en relación a cual es el punto de corte más adecuado para definir desnutrición, en nuestra opinión lo más relevante, es la evaluación integrada de diferentes indicadores antropométricos y sociales.

### Contenido de los programas

Para analizar los contenidos de los programas se consideran los beneficios que éstos otorgan y la oportunidad con que se entregan. De lo anterior se pueden desprender diversas reflexiones:

- La atención prenatal y el seguimiento continuo de las mujeres con el perfil de riesgo de tener un niño con déficit de talla al nacer, debe ser una prioridad con la finalidad de evitar el retardo de crecimiento intrauterino (RCIU) que parece tener una consecuencia irreversible. En este sentido es necesario realizar estudios específicos para precisar cuáles son los factores de riesgo de tener un niño con RCIU.

- La vigilancia y promoción del crecimiento infantil, aunque no es una intervención en sí misma, es un instrumento educativo que entrega importantes beneficios en el campo de la nutrición y de la salud infantil y es de importancia si se quiere prevenir o disminuir el déficit de crecimiento. El énfasis debe estar en los primeros años de vida, especialmente durante el primer año, aunque posteriormente es conveniente continuarlo con una frecuencia suficiente por lo menos hasta el tercer año, especialmente en los menores con perfil de riesgo.

- Los programas de suplementación alimentaria deberían estar dirigidos básicamente a los menores de tres años y a los sectores sociales más carentes vinculando la entrega de los beneficios al cumplimiento de los controles de salud. En relación a los alimentos estos deben ser lo más específicos y apropiados para los grupos objetivos y así evitar su dilución intrafamiliar.

- La fortificación de alimentos en forma masiva, con micronutrientes como Zn, deberían ser considerada solamente en lugares de alta prevalencia de déficit de crecimiento, mientras que en países donde el problema se concentra en determinados grupos poblacionales deberán buscarse otras alternativas.

- La actividad física frecuente es recomendable (en nuestro estudio un gran porcentaje de escolares dedicaban más de tres horas diarias a ver televisión). Esta debería ser una actividad programada en los centros de atención integral al pre-escolar y escolar que debe combinarse con el fomento de acciones al aire libre o en centros comunitarios. Se ha demostrado en estudios en animales de experimentación y en niños que el ejercicio físico periódico mejora el crecimiento en estatura y ayuda alcanzar el "catch up" en los que presentan retraso de crecimiento (20).

### Gestión de programas

La gestión de programas es uno de los desafíos mayores de los años venideros, ya que todo indica que la iniciativa privada tendrá una función cada vez mas destacada mientras que el Estado pareciera reservarse un rol normativo y supervisor.

En nuestra opinión, el Estado debiera tener un papel protagonista en la promoción y prevención de la salud y nutrición de la población, en la fiscalización y regulación de las actividades desarrolladas por la iniciativa privada y en el fomento de la participación de la comunidad organizada.

De esta manera para la gestión de programas -que tengan el objetivo de disminuir el déficit de crecimiento- habría que tener en consideración algunos elementos:

a) La integración de las actividades de salud con los programas de atención al lactante y pre-escolar y el encadenamiento de éstos con las intervenciones en nutrición y salud en la edad escolar.

b) La coordinación de los sectores sociales a nivel local. Desde el establecimiento de los primeros programas en nutrición en América Latina se ha señalado que la coordinación a nivel local ha sido difícil (21). Sin embargo, en la actualidad, con los esfuerzos para descentralizar los servicios y entregarle un mayor poder a los municipios, esta coordinación debería ser más factible, aunque es necesario hacer esfuerzos por tener una eficiente gestión local.

c) La participación comunitaria debe ser activa, aunque resulte difícil por las exigencias del mundo laboral actual en que se exige una continua permanencia en los lugares de trabajo y la mujer cada vez tiene una mayor incorporación a él. Las estrategias deberán estar basadas en la colaboración

solidaria. Se debe destacar que las experiencias exitosas en la recuperación de la desnutrición son las que han involucrado activamente a la familia y la comunidad (22).

En conclusión, el éxito de los programas a nivel local esta condicionado a la participación de sus múltiples actores: la familia, representantes de la comunidad organizada, Organizaciones no Gubernamentales, Empresa privada y el Estado a través de su red social, lo anterior implica la descentralización en la toma de decisiones y la generación desde la base de intervenciones apropiadas y pertinentes.

En el Cuadro 2 se presenta un resumen de las principales sugerencias en relación a la realidad existente.

CUADRO 2  
Sugerencias de acuerdo al tipo de acción

Tipo de acción	Situación actual	Sugerencias
Políticas sociales	Gasto social variable	Destinar un 15% del PGB a gasto social, principalmente a los grupos más necesitados.
Selección de beneficiarios	Prima la universalidad en la población Materno Infantil	Focalizar considerando aspectos biológicos y económicos.
Programas (Suplementación y fortificación)	Cobertura variable, con alimentos no específicos para la población objetivo	Entregar alimentos específicos y fortificados con micronutrientes como Zn a los niños con perfil de riesgo.
Programas (Ejercicio físico)	No programado	Efectuar actividades en centros cerrados y abiertos, centros comunitarios, etc.
Gestión de programas	El Estado es responsable por la entrega de los contenidos y la vigilancia nutricional	Responsabilidades compartidas entre los diferentes actores comunitarios.
-Gestión de programas (Integración)	Falta de integración y coordinación	Coordinación a nivel local y encadenamiento de programas.
Evaluación (Periodicidad)	Puntual	Frecuentes.
Evaluación (Contenido)	Mide básicamente la oferta	Medir el efecto en relación a la población objetivo, la calidad de los beneficios y la satisfacción de la demanda.

### Debilidades o desafíos que se visualizan

-Ante los ajustes económicos que preconizan una disminución del gasto fiscal, el Estado puede verse enfrentado a una reducción progresiva de sus inversiones imprescindibles para cumplir su función social. Un estado moderno y no burocrático debe considerar una infraestructura mínima que se responsabilice de las intervenciones sociales.

- La falta de evaluación. Esta debería ser frecuente y con objetivos específicos. Es importante al menos considerar el efecto de los programas en relación a su calidad, el impacto de las intervenciones sobre el déficit de crecimiento en la población beneficiaria y orientar los análisis a medir la satisfacción de la demanda antes que la oferta de servicios o beneficios.

- Uno de los desafíos es definir los límites de la participación de la empresa privada. Si ésta incluye la entrega de beneficios, las reglas deben quedar perfectamente establecidas salvaguardando un servicio eficiente y de calidad.

- La integración económica entre diferentes países o regiones es una realidad en la cual se pueden compartir diseños similares de intervenciones, evaluaciones complementarias, generación compartida del conocimiento científico e intercambio de recursos humanos. Estos elementos constituyen un desafío para lo cual los países deben realizar esfuerzos y la organizaciones internacionales colaborar en su materialización.

- El cambio del perfil epidemiológico que tienen algunos países del continente debe llevar a que el énfasis no esté exclusivamente dirigido a los problemas derivados por el déficit y los programas se dirijan también a la malnutrición por exceso.

Las intervenciones nutricionales deben orientarse a grupos más específicos mediante acciones apropiadas e innovadoras. El desafío es la complementariedad de las intervenciones para los grupos de riesgo que permitan que el niño desarrolle todo su potencial de crecimiento y así los países cuente con adecuados recursos humanos para su desarrollo.

### REFERENCIAS

- Rosselot J. Situación de la Salud Materno-Infantil en América Latina y el Caribe. En: Meneguelo J, Fanta E, Paris E, Puga T. Pediatría. 5a ed. Chile: Editorial Médica Panamericana 1997.
- Organización Panamericana de la Salud. Las Condiciones de Salud en las Américas. Volumen 1. Washington, D.C.: OPS; 1994 (Publicación Científica; nº 549).
- PNUD. Informe sobre el Desarrollo Humano. México, DF.: PNUD; 1995.
- Organización Mundial de la Salud. Medición del cambio del estado nutricional: directrices para evaluar el efecto nutricional de programas de alimentación suplementaria a grupos vulnerables. Ginebra: OMS. 1993.
- Daza C, Peña M. La situación alimentaria nutricional de los niños menores de seis años en la región de América Latina y el Caribe. En: O'Donnell A, Bengoa J, Torún B, Caballero B, Lara E y Peña M editores. Nutrición y Alimentación del niño en los primeros años de vida. Washington, D.C.:OPS, 1997; p. 1-16.

6. Fondo de Naciones Unidas para la Infancia. Estado mundial de la infancia 1998. Nueva York:UNICEF; 1998.
7. Evolución de las disparidades de Ingreso. En: CEPAL. Panorama Social de América Latina. Santiago de Chile:CEPAL, 1995; p. 93-7.
8. Amigo H, Bustos P, Radrigán ME y Zumelzu E. Factores condicionantes de la estatura en escolares de alta vulnerabilidad social. Santiago: s.e.; 1994.
9. Bustos P, Amigo H. Situación nutricional rural: un estudio en escolares de zonas de alta vulnerabilidad. *Rev Chil Pediatr* 1993; 64(6):392-96.
10. Amigo H, Bustos P, Radrigán MRE, Ureta E. Estado nutricional en escolares de nivel socioeconómico opuesto. *Rev Med Chil* 1995; 123(9):1063-70.
11. Amigo H, Bustos P, Radrigán ME. La baja estatura de los hijos se relaciona con la de sus padres?. *Rev Med Chil* 1997; 125:863-868.
12. Amigo H, Bustos P. Factores de riesgo de talla baja en escolares chilenos de zonas rurales de alta vulnerabilidad social. *Arch Latinoam Nutr* 1995; 45(2):97-102.
13. Amigo H, Bustos P, Leone C and Radrigán ME. Risk factors of stunting in Chilean school children. *Acta Paediatr Scand*. En prensa 1998.
14. Bustos P, Amigo H, Bustos E. Crecimiento en niños de zonas rurales. *Rev Chil Pediatr* 1997;68(1):11-5.
15. Erazo M, Amigo H, De Andraca I y Bustos P. Déficit de crecimiento y rendimiento escolar. *Rev Chil Pediatr*. En prensa 1998.
16. CEPAL. El gasto social en América Latina: Un análisis cuantitativo y cualitativo. Santiago, Chile: CEPAL; 1997 (Serie de Cuadernos de la CEPAL; n° 73).
17. Castañeda T. Focalización de subsidios a la extrema pobreza: Innovaciones institucionales para mejorar la eficiencia. En: Experiencias y dilemas de la focalización en programas de salud y nutrición. Santiago: Departamento de Economía Agraria, Universidad Católica de Chile e INTA, Universidad de Chile; 1990.
18. Vial I, Camhi R, Castillo C. Chile: El programa de alimentación complementaria (PNAC) su evolución y mecanismos de focalización. In: Grosh M, editor. *From Platitudes to Practice: Targeting Social Programs in Latin American: volumen II Case Studies*. Washington D.C.: The World Bank; 1992. p 39. (Case Studies; N° 5) (Case Studies Program; Report N° 21). Documento con paginación irregular.
19. Torche A, Amigo H, Atalah E, Coloma F, Muchnick E, Rozas M and Vial I. Estudio de Evaluación del Programa de Alimentación Complementaria. Santiago: s.e.; 1995.
20. Torún B, Viteri FE. Influence of exercise on linear growth. *Eur J Clin Nutr* 1994;48(suppl 1):S186-S190.
21. Beghin I. Mejorando la Nutrición a nivel local. *Bol Oficina Sanit Panam* 1978; 84(2):108-118.
22. Escudero P, Puentes R, Araos F, Contreras AM, Latorre M. El hogar sustituto como sistema de recuperación integral en lactantes desnutridos y graves. *Rev Chil Pediatr* 1987;58(5):414-18.

Recibido: 03-04-1997

Aceptado: 21-05-1998

## Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition

*Ofelia Angulo-Guerrero and R.R. Oliart*

Instituto Tecnológico de Veracruz, Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, México

**SUMMARY.** The effects of four different diets on phospholipid fatty acid composition of rat brain plasma membranes were evaluated. Rats were given a semisynthetic diet in which lipids were supplied by 5% peanut oil (n-3 PUFA deficient diet), cod liver oil (n-6 PUFA deficient diet), partially hydrogenated palm oil (total PUFA deficient diet) or a mixture of peanut and rapeseed oil (control group). Animals fed the total PUFA deficient diet had significantly lower body and brain weights than the control group ( $p < 0.05$ ). Lower brain cholesterol and phospholipids also were observed in animals fed the total PUFA deficient diet, whereas the brain of animals fed the n-6 PUFA deficient diet had higher levels of these lipid components than the control group ( $p < 0.05$ ). Phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine were mutually replaced in animals fed the n-6 and n-3 PUFA deficient diets, so that the sum of these two membrane constituents was maintained around 77% of total phospholipids. Brain phospholipid fatty acid composition was significantly modified by the diets studied. Thus, despite being a highly protected organ, the fatty acid composition of the brain can be extensively modulated by dietary lipids.

**Key words:** PUFA deficiency, brain plasma membrane, fatty acid composition.

**RESUMEN.** Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta en el perfil de ácidos grasos de la membrana plasmática del cerebro de rata. El efecto de cuatro dietas distintas en la fuente de lípidos fue estudiado en el perfil de ácidos grasos de fosfolípidos de la membrana plasmática del cerebro de ratas. Los animales fueron alimentados con dietas que contenían 5% de uno de los siguientes aceites vegetales: aceite de cacahuete (dieta deficiente en AGPI n-3), aceite de hígado de bacalao (dieta deficiente en AGPI n-6), aceite de palma parcialmente hidrogenado (dieta totalmente deficiente en AGPI) o una mezcla de aceite de cacahuete y de canola (dieta testigo). Los animales que recibieron la dieta totalmente deficiente presentaron peso corporal y cerebral más bajos que los del grupo testigo ( $p < 0.05$ ). Los niveles de colesterol y de fosfolípidos en el cerebro también fueron más bajos en los animales totalmente deficientes que en los testigos. Por otro lado, estos parámetros fueron más elevados en el grupo de la dieta deficiente en AGPI n-6 ( $p < 0.05$ ). Los niveles de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina fueron mutuamente substituidas en los animales que recibieron las dietas deficientes en AGPI n-6 y n-3, de tal forma que estos dos fosfolípidos (FL) se mantuvieron alrededor del 77% del total de FL. El perfil de ácidos grasos de los fosfolípidos del cerebro fueron significativamente modificados por las dietas estudiadas. Por lo tanto, a pesar de que el cerebro es un órgano muy protegido, la composición en ácidos grasos puede modificarse a través de los lípidos dietarios.

**Palabras clave:** Deficiencia en AGPI, membrana plasmática cerebral, lípidos dietarios.

### INTRODUCTION

The role of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) in human nutrition is now generally accepted; however, the specific mechanism of actions are yet to be outlined. As essential membrane components, PUFA may act as modulators, specially in the brain where they are in the second highest concentration after adipose tissue. Since polyunsaturated fatty acids are, with cholesterol, the main components of the lipid matrix of biological membranes, their relative proportions determine to a great extent the biophysical and physiological properties of these membranes. It is well established that liver membrane lipid composition can be modified by dietary lipids (1, 2). However, brain components seem to be very well regulated and apparently are less affected by dietary

manipulation.

Polyunsaturated fatty acids are divided into two essential fatty acid groups: n-6 and n-3: linoleic and alpha-linolenic acids are the precursors of these two groups, respectively (3,4). The fundamental role of n-6 PUFA is mediated by arachidonic acid as a precursor of eicosanoid molecules which are involved in a great diversity of functions. N-3 PUFA were considered non-essential until recently, when high concentrations of the members of this family (20:5 and 22:6) were found in brain as well as in retina (5).

The brain is the organ with the second highest concentration of lipids and it is the organ with the second greatest concentration of n-3 PUFA, after the retina (6,7). It has been suggested that the n-3 PUFA play a fundamental role in brain development, especially during the first years of life when the organ is being

completed (8-11). N-3 PUFA deficiencies have been associated with alterations in the electroretinogram, altered learning behavior, reduced visual acuity and greater resistance to neurotoxic agents (12, 13). It is necessary therefore, to ensure that nerve cells receive an adequate supply of these fatty acids during their differentiation and multiplication. Whether the brain takes PUFA from the liver, which is modulated by dietary lipids, or produces its own PUFA from the precursors (supplied by diet anyway) is not known. In any case, dietary lipids certainly influence the supply of essential fatty acids to the brain. Therefore, in this study, the effects of four diets, differing only in PUFA type were evaluated on rat brain plasma membrane phospholipid.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental animals

Wistar rats were given a semisynthetic diet in which lipids (5% w/w) were supplied as a mixture of peanut and rapeseed oil (control), peanut oil (n-3 PUFA deficient), cod liver oil (n-6 PUFA deficient) or partially hydrogenated palm oil (total PUFA deficient). The composition of the diets and the fatty acid content of dietary lipids are presented in Tables 1 and 2. Diets were supplied to animals from weaning until the age of 90 d when animals were sacrificed by decapitation. Brain was removed and immediately utilized for membrane purification. The experimental protocols of this study were as reported previously (14).

TABLE 1  
Diet composition (g/kg)

Composition %	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
Casein	22.0	22.0	22.0	22.0
DL methionine	0.16	0.16	0.16	0.16
Cellulose	2.0	2.0	2.0	2.0
Starch	43.90	43.90	43.90	43.90
Sucrose	21.94	21.94	21.94	21.94
Vitamin mixture <sup>a</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture <sup>b</sup>	4.0	4.0	4.0	4.0
Hydrogenated palm oil	-	-	-	5.0
Peanut oil	2.5	5.0	-	-
Cod liver oil	-	-	5.0	-
Rapeseed oil	2.5	-	-	-

a. Total vitamin supplement, United States Biochemical corp. Cleveland, OH.

b. Composition g/100 g: CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 38.0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 24.0; CaCO<sub>3</sub>, 18.0; NaCl, 6.9; MgO, 2.0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 9.0; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.086; ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0.5; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0.5; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.1; NaF, 0.08; CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 0.05; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.002; KI, 0.004; CoCO<sub>3</sub>, 0.002; NaSeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.002.

TABLE 2  
Fatty acid composition of dietary lipids

Fatty Acids (%)	Group 1 Control	Group 2 n-3 PUFA Deficient	Group 3 n-6 PUFA Deficient	Group 4 Total PUFA Deficient
Fatty acids/ 100 g of diet:				
n-6PUFA (mg)	930.6	935.3	136.3	84.6
n-3PUFA (mg)	188.0	4.7	1113.9	-
n-6 PUFA/n-3 PUFA	5.0	199.0	0.1	-

Control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

### Membrane purification

Brain plasma membranes were separated by a modified method (15). Briefly, 2g. of brain were homogenized in 10 mL of cold buffer (sucrose, 0.32M; HEPES/KOH, 5mM; EGTA, 0.5 mM; pH=7.4) with a Teflon potter homogenizer (Thomas C) using 15 up and down strokes at 1 000 rpm. The homogenate was filtered through a tissue and centrifuged at 10 000 rpm (12 000 xg) for 10 minutes in a Beckman JA20 centrifuge. The supernatant, diluted to 75% with Percoll, was then placed at the bottom of the tube followed by a step Percoll gradient (30, 25, 18, 10 and 0% v/v; Pharmacia) and centrifuged at 20 000 rpm (48 000 xg) for 4 minutes at 4°C. The plasma membrane fraction was collected at the 10%-0% interface. This was diluted with a Percoll solution (75%, v/v) to a ratio of 2 mL of Percoll per 5 mL of membrane fraction. Seven mL of this membrane fraction was placed again at the bottom of the tube followed by a step gradient (18%, 10%, 0% v/v) and centrifuged as before. Protein was measured by the Bradford technic (16).

### Plasma membrane lipid analysis

Total lipids from plasma membrane were extracted by the Folch et al. procedure (17) in the presence of butyl hydroxytoluene (BHT) at a 0.02% (w/v). Cholesterol was assayed enzymatically by the Wolff's method (18). Total phospholipids were determined by measuring the total phosphorus as described by Bartlett et al. (19). Since the mass content of phosphorus in phospholipids is about 1/25, phosphorus levels were converted into phospholipid content by multiplying the phosphorus concentration by 25. After total lipid extraction, phospholipid classes from plasma membranes were separated by high pressure liquid chromatography (Beckman 332 silica capillary column coated with zorbax 5 m). Transesterification of phospholipid fatty acids was achieved using BF<sub>3</sub>-methanol (10% w/v) reagent at 90°C for 20 min. (20). Fatty acid methyl esters (FAME) were extracted using hexane and analyzed by gas chromatography using a Carlo Erba 4180 model with automated on column injection, flame ionization detector and a silica capillary column fused with carbowax 52. Hydrogen was used as the carrier gas. Injection and detector temperatures were 154°C and 250°C,

respectively. The column temperature was programmed to rise from 54°C to 220°C at a rate of 3°C/min. FAME peaks were identified by comparison with authentic standards (SIGMA)

### Statistical methods

Results were analyzed statistically by standard analysis of variance (ANOVA). A probability level of  $p < 0.05$  was used to indicate statistical significance.

## RESULTS

### Body and brain weight

Animals fed diets containing partially hydrogenated palm oil had significantly ( $p < 0.05$ ) lower body ( $294 \pm 18$  g) and brain weights ( $1.73 \pm 0.08$  g) at 90 days of age than did animals fed the control diet ( $372 \pm 14$  g,  $1.97 \pm 0.04$  g) (Table 3). Protein per g of brain was around 21 mg in all groups.

TABLE 3  
Dietary fatty acid effects on body and brain weight

	Control	Diets		
		n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
Body weight (g)	372±14 <sup>a</sup>	355±33 <sup>a</sup>	378±27 <sup>a</sup>	294±18 <sup>b</sup>
Brain weight (g)	1.97±0.04 <sup>a</sup>	1.98±0.09 <sup>a</sup>	1.97±0.05 <sup>a</sup>	1.73±0.08 <sup>b</sup>
Protein/brain (mg/g)	21.8±1.6 <sup>a</sup>	20.5±1.6 <sup>a</sup>	21.3±1.7 <sup>a</sup>	21.2±1.9 <sup>a</sup>

Results are the mean  $\pm$  standard deviation of 10 animals in each group. Control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

Means with different letter are statistically different ( $p < 0.05$ ).

### Membrane lipid composition

#### Cholesterol and phospholipids

Lower cholesterol and phospholipids were observed in brain membranes of animals fed the total PUFA deficient diet than in those of the control group ( $350 \pm 70$ ;  $490 \pm 20$   $\mu$ g/g protein) (Table 4).

TABLE 4  
Dietary fatty acid effects on brain membrane lipid composition

Parameters ( $\mu$ g/mg)	Control	Diets		
		n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
Cholesterol/Protein	480±60 <sup>a</sup>	480±50 <sup>a</sup>	550±10 <sup>b</sup>	350±70 <sup>b</sup>
Phospholipids/Protein	530±50 <sup>a</sup>	510±30 <sup>ab</sup>	580±10 <sup>c</sup>	490±20 <sup>b</sup>
CHL/PL	900±10 <sup>a</sup>	930±90 <sup>a</sup>	940±20 <sup>b</sup>	700±160 <sup>c</sup>

Same as Table 3.

The content of these lipids in brain membranes of animals fed the n-3 PUFA deficient diet did not differ from the content

of the control group. However, cholesterol and phospholipid levels were higher in membranes from animals fed the n-6 PUFA deficient diet ( $550 \pm 10$ ;  $580 \pm 10$   $\mu$ g/g protein) than the levels of the control group ( $480 \pm 60$ ;  $530 \pm 50$   $\mu$ g/g protein).

### Phospholipid classes

The major membrane phospholipid, phosphatidylethanolamine, was lower in animals fed both the n-6 ( $45.1 \pm 5.3\%$ ) and n-3 PUFA deficient diets ( $41.2 \pm 2.6\%$ ) than observed in controls ( $51.1 \pm 6.3\%$ ). This was compensated by higher contents of phosphatidylcholine in the n-3 and n-6 PUFA deficient animals in comparison to the control group (Table 5). Phosphatidylserine content of membranes did not differ among groups but phosphatidylinositol was higher in animals fed the total PUFA deficient diet.

TABLE 5  
Dietary fatty acid effects on brain membrane phospholipid classes

Phospholipids (%)	Control	Diets		
		n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
Phosphatidylethanolamine	51.1±6.3 <sup>a</sup>	41.2±2.6 <sup>c</sup>	45.1±5.3 <sup>bc</sup>	47.6±5.4 <sup>b</sup>
Phosphatidylcholine	28.1±3.6 <sup>a</sup>	35.7±3.1 <sup>b</sup>	34.9±2.9 <sup>b</sup>	27.7±2.6 <sup>a</sup>
Sphingomyelin	11.1±2.7 <sup>a</sup>	14.0±2.8 <sup>b</sup>	11.0±2.8 <sup>a</sup>	12.8±1.9 <sup>ab</sup>
Phosphatidylserine	6.9±1.5 <sup>ab</sup>	6.3±1.2 <sup>b</sup>	6.3±1.4 <sup>b</sup>	8.4±1.1 <sup>a</sup>
Phosphatidylinositol	2.8±0.5 <sup>a</sup>	2.8±0.3 <sup>a</sup>	2.7±0.4 <sup>a</sup>	3.5±0.6 <sup>b</sup>

Same as Table 3.

### Phospholipid fatty acid composition

#### Phosphatidylcholine

In general, the levels of saturated fatty acids (SFA) and monounsaturated fatty acids (MUFA) in phosphatidylcholine did not differ among groups (Table 6). However, both n-6 and n-3 PUFA were reciprocally replaced by fatty acids of the other family in the n-6 and n-3 PUFA groups. In fact, a lower level of n-6 PUFA (5.1 vs 8.6) was observed in animals fed the diet rich in n-3 PUFA. This observation comes primarily from the lower arachidonic acid level (3.3 vs 6.1). Similarly, n-3 PUFA were lower (1.4 vs 3.7) in membranes PC from animals fed the diet rich in n-6 PUFA. N-3 fatty acids were higher in membrane PC of animals fed the n-6 PUFA deficient diet (4.7 vs 3.7) due primarily to the lower content of eicosapentaenoic acid. Total (n-6 + n-3) PUFA were maintained for the n-3 PUFA (12.0) and total PUFA (11.1) deficient groups but reduced for the n-6 PUFA deficient group (9.4). The fatty acid modifications mentioned above were reflected by a high n-6/n-3 ratio in the n-3 PUFA deficient lot and total PUFA deficient animals and a reduced n-6/n-3 ratio in the n-6 PUFA deficient animals. The 22:5 n-6/22:6 n-3 ratio of phospholipid membrane considered as an index of n-3 PUFA deficiency, if superior to 1, was 1.75 in animals deficient in this n-3 PUFA

family. It was therefore, possible to produce an n-3 PUFA deficiency in this phospholipid. The replacement of n-3 by n-6 PUFAs in phospholipid membranes is sufficient to maintain the fluidity but the physiological functions of each fatty acid family are independent and can not be interchanged.

TABLE 6  
Effect of dietary lipids on brain membrane phosphatidylcholine fatty acid composition

Fatty acids (%)	Diets			
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
16:0	32.7±0.2 <sup>a</sup>	32.4±2.0 <sup>a</sup>	31.4±2.9 <sup>a</sup>	31.8±2.1 <sup>a</sup>
18:0	13.9±0.5 <sup>a</sup>	14.6±0.8 <sup>ab</sup>	15.2±1.1 <sup>ab</sup>	17.0±2.9 <sup>b</sup>
ΣSFA	48.1±0.3 <sup>a</sup>	48.8±1.7 <sup>a</sup>	49.7±2.3 <sup>a</sup>	50.6±2.7 <sup>a</sup>
18:1 n-9	27.4±0.4 <sup>a</sup>	27.0±0.4 <sup>a</sup>	29.1±1.6 <sup>b</sup>	25.4±1.6 <sup>a</sup>
18:1 n-7	7.3±0.2 <sup>a</sup>	7.7±0.4 <sup>a</sup>	6.5±0.5 <sup>b</sup>	7.2±0.5 <sup>a</sup>
20:1 n-9	1.7±0.2 <sup>a</sup>	1.6±0.2 <sup>a</sup>	1.7±0.3 <sup>a</sup>	1.5±0.4 <sup>a</sup>
20:1 n-7	1.0±0.1 <sup>a</sup>	0.9±0.1 <sup>a</sup>	0.9±0.1 <sup>a</sup>	0.9±0.2 <sup>a</sup>
ΣMUFA	39.6±0.8 <sup>a</sup>	39.2±0.7 <sup>a</sup>	40.9±1.7 <sup>a</sup>	37.7±3.8 <sup>a</sup>
18:2 n-6	0.7±0.1 <sup>a</sup>	0.8±0.1 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>	1.1±0.5 <sup>b</sup>
20:4 n-6	6.1±0.4 <sup>a</sup>	6.2±0.6 <sup>a</sup>	3.3±0.5 <sup>b</sup>	4.2±0.6 <sup>c</sup>
22:4 n-6	0.6±0.1 <sup>a</sup>	0.9±0.2 <sup>b</sup>	0.4±0.2 <sup>ac</sup>	0.2±0.1 <sup>c</sup>
22:5 n-6	0.3±0.1 <sup>a</sup>	2.4±0.4 <sup>b</sup>	0.2±0.1 <sup>a</sup>	1.9±0.6 <sup>c</sup>
ΣPUFA n-6	8.6±0.9 <sup>a</sup>	10.6±1.2 <sup>b</sup>	5.1±0.9 <sup>c</sup>	8.8±1.2 <sup>a</sup>
20:5 n-3	0.1±0.2 <sup>a</sup>	-	0.3±0.1 <sup>b</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>
22:5 n-3	0.0±0.0 <sup>a</sup>	-	0.4±0.1 <sup>b</sup>	0.2±0.1 <sup>c</sup>
22:6 n-3	3.1±0.8 <sup>a</sup>	1.4±0.2 <sup>b</sup>	3.7±0.3 <sup>a</sup>	1.7±0.6 <sup>b</sup>
ΣPUFA n-3	3.7±0.2 <sup>a</sup>	1.4±0.2 <sup>b</sup>	4.3±0.2 <sup>c</sup>	2.3±0.7 <sup>d</sup>
Σn-6+n-3	11.9±0.6 <sup>a</sup>	12.0±1.4 <sup>a</sup>	9.4±0.9 <sup>b</sup>	11.1±1.3 <sup>a</sup>
n-6/n-3	2.2±0.1 <sup>a</sup>	7.4±0.7 <sup>b</sup>	1.1±0.2 <sup>c</sup>	3.8±1.3 <sup>d</sup>
22:5 n-6/22:6 n-3	0.09±0.02 <sup>a</sup>	1.75±0.18 <sup>b</sup>	0.03±0.01 <sup>c</sup>	0.9±0.2 <sup>d</sup>

Results are the mean ± standard deviation control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

Means with different letter are statistically different ( $p < 0.01$ ).

### Phosphatidylethanolamine

The levels of saturated fatty acids and monounsaturated fatty acids in phosphatidylethanolamine did not differ significantly among groups. A slight increase was observed in oleic acid in animals fed the n-6 PUFA deficient diet (25.4 vs 22.0). The n-6 PUFA deficient diet produced lower level of 20:4 n-6 (8.2 vs 12.1) and 22:4 n-6 (3.0 vs 6.4), higher levels of the n-3 PUFA (22 vs 16) and a half reduction of the n-6/n-3 ratio (0.7 vs 1.3) than those levels found in the control group (Table 7). The n-3 PUFA deficient diet, on the other hand, provoked an important raise of 22:5 n-6 (11.1 vs 1.5), a reduction of 22:6 n-3 (6.7 vs 15.9), high n-6/n-3 ratio (4.8 vs 1.3), and a 22:5 n-6/22:6 n-3 ratio of 1.66 in comparison to the control values. The total (n-6+n-3) PUFA-deficiency produced no change in the sum of total PUFA (n-6+n-3). As expected, phosphatidylethanolamine was most resistant to changes in fatty acids. Nevertheless, the n-6 and n-3 PUFA deficiencies were achieved at a lower level than in PC, meaning probably that PE is more important in physiological functions than PC due to its higher concentration in PUFA.

TABLE 7  
Effect of dietary lipids on brain membrane phosphatidylethanolamine fatty acid composition

Fatty acids (%)	Diets			
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
16:0	7.9±1.9 <sup>a</sup>	7.5±0.7 <sup>a</sup>	7.1±0.8 <sup>a</sup>	7.1±0.6 <sup>a</sup>
18:0	15.3±0.7 <sup>a</sup>	16.0±1.4 <sup>a</sup>	14.0±1.3 <sup>a</sup>	15.8±0.6 <sup>a</sup>
ΣSFA	24.5±2.6 <sup>a</sup>	24.9±1.8 <sup>a</sup>	22.0±1.8 <sup>a</sup>	24.4±0.7 <sup>a</sup>
18:1 n-9	22.0±1.9 <sup>a</sup>	21.0±0.5 <sup>a</sup>	25.4±1.4 <sup>b</sup>	21.3±0.8 <sup>a</sup>
18:1 n-7	4.6±0.9 <sup>a</sup>	4.6±0.2 <sup>a</sup>	4.9±0.4 <sup>a</sup>	4.6±0.4 <sup>a</sup>
20:1 n-9	5.0±0.5 <sup>a</sup>	5.1±0.7 <sup>a</sup>	5.4±0.7 <sup>a</sup>	4.6±0.4 <sup>a</sup>
20:1 n-7	1.3±0.1 <sup>a</sup>	1.3±0.2 <sup>a</sup>	1.1±0.1 <sup>a</sup>	1.1±0.1 <sup>a</sup>
ΣMUFA	37.4±3.5 <sup>ab</sup>	34.1±1.2 <sup>a</sup>	40.4±1.5 <sup>b</sup>	34.6±1.5 <sup>a</sup>
18:2 n-6	0.6±0.2 <sup>a</sup>	0.5±0.2 <sup>a</sup>	0.7±0.2 <sup>a</sup>	0.8±0.2 <sup>a</sup>
20:4 n-6	12.1±1.3 <sup>a</sup>	13.8±0.5 <sup>b</sup>	8.2±0.5 <sup>c</sup>	12.2±0.7 <sup>a</sup>
22:4 n-6	6.4±1.0 <sup>ac</sup>	7.5±1.0 <sup>a</sup>	3.0±0.2 <sup>b</sup>	5.6±0.2 <sup>c</sup>
22:5 n-6	1.5±0.4 <sup>a</sup>	11.1±0.7 <sup>b</sup>	2.6±0.5 <sup>c</sup>	9.4±0.7
ΣPUFA n-6	21.9±2.4 <sup>a</sup>	33.9±1.5 <sup>b</sup>	15.6±1.8 <sup>c</sup>	28.6±1.4 <sup>d</sup>
20:5 n-3	0.1±0.0 <sup>a</sup>	-	0.6±0.1 <sup>b</sup>	0.2±0.0 <sup>c</sup>
22:5 n-3	0.1±0.0 <sup>a</sup>	-	1.5±0.3 <sup>b</sup>	0.1±0.0 <sup>c</sup>
22:6 n-3	15.9±1.9 <sup>a</sup>	6.7±0.7 <sup>b</sup>	19.6±3.4 <sup>c</sup>	9.2±0.8 <sup>d</sup>
ΣPUFA n-3	16.2±2.0 <sup>a</sup>	7.1±0.8 <sup>b</sup>	22.0±3.6 <sup>c</sup>	10.0±1.0 <sup>d</sup>
Σn-6+n-3	38.1±1.8 <sup>a</sup>	41.0±1.1 <sup>b</sup>	37.6±2.4 <sup>a</sup>	38.6±1.4 <sup>a</sup>
n-6/n-3	1.3±0.1 <sup>a</sup>	4.8±0.7 <sup>b</sup>	0.7±0.2 <sup>c</sup>	2.9±0.3 <sup>d</sup>
22:5 n-6/22:6 n-3	0.09±0.0 <sup>a</sup>	1.66±0.24 <sup>b</sup>	0.15±0.04 <sup>c</sup>	1.02±0.15 <sup>d</sup>

Results are the mean ± standard deviation of ten animals in each group control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

### Phosphatidylserine

Even though stearic acid the major saturated fatty acid was not modified by diet, total saturated fatty acids was slightly reduced by the n-6 PUFA deficient diet (Table 8).

TABLE 8  
Effect of dietary lipids on brain membrane phosphatidylserine fatty acid composition

Fatty acids (%)	Diets			
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
16:0	6.7±1.3 <sup>ac</sup>	8.4±1.1 <sup>b</sup>	6.5±0.3 <sup>a</sup>	8.6±1.7 <sup>bc</sup>
18:0	30.5±2.1 <sup>a</sup>	30.1±0.9 <sup>a</sup>	28.0±2.9 <sup>a</sup>	30.0±2.3 <sup>a</sup>
ΣSFA	41.4±2.8 <sup>ab</sup>	42.6±1.8 <sup>a</sup>	38.1±2.6 <sup>b</sup>	40.0±3.6 <sup>ab</sup>
18:1 n-9	22.2±1.7 <sup>a</sup>	20.3±0.7 <sup>b</sup>	25.7±2.0 <sup>c</sup>	20.0±1.4 <sup>b</sup>
18:1 n-7	2.5±0.3 <sup>a</sup>	3.0±0.6 <sup>a</sup>	2.9±0.3 <sup>a</sup>	2.6±0.6 <sup>a</sup>
20:1 n-9	2.3±0.4 <sup>a</sup>	2.4±0.4 <sup>a</sup>	2.5±0.2 <sup>a</sup>	2.0±0.4 <sup>a</sup>
20:1 n-7	0.6±0.2 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>b</sup>	0.7±0.3 <sup>a</sup>
ΣMUFA	31.4±1.3 <sup>a</sup>	30.6±1.8 <sup>a</sup>	36.5±1.9 <sup>b</sup>	30.2±1.4 <sup>a</sup>
18:2 n-6	1.0±0.1 <sup>a</sup>	0.9±0.2 <sup>a</sup>	2.2±0.8 <sup>b</sup>	1.3±0.1 <sup>c</sup>
20:4 n-6	4.8±0.7 <sup>a</sup>	4.6±0.4 <sup>a</sup>	2.5±0.2 <sup>b</sup>	3.7±0.6 <sup>c</sup>
22:4 n-6	2.7±0.3 <sup>a</sup>	3.0±0.5 <sup>a</sup>	2.6±1.0 <sup>a</sup>	2.3±0.4 <sup>a</sup>
22:5 n-6	2.4±0.7 <sup>a</sup>	11.0±2.1 <sup>b</sup>	0.7±0.2 <sup>c</sup>	9.4±2.5 <sup>b</sup>
ΣPUFA n-6	11.6±0.5 <sup>a</sup>	20.7±2.2 <sup>b</sup>	8.5±2.0 <sup>c</sup>	19.3±3.0 <sup>b</sup>
18:3 n-3	0.2±0.1 <sup>a</sup>	-	0.2±0.1 <sup>a</sup>	0.2±0.1 <sup>a</sup>
20:5 n-3	0.3±0.2 <sup>a</sup>	0.2±0.1 <sup>a</sup>	0.3±0.2 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>a</sup>
22:5 n-3	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.2±0.1 <sup>a</sup>	0.6±0.3 <sup>b</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>
22:6 n-3	15.0±3.2 <sup>a</sup>	5.6±0.5 <sup>b</sup>	15.3±2.1 <sup>a</sup>	8.2±1.2 <sup>c</sup>
ΣPUFA n-3	15.6±3.5 <sup>a</sup>	6.1±0.3 <sup>b</sup>	16.9±2.0 <sup>a</sup>	8.9±0.9 <sup>c</sup>
Σn-6+n-3	27.2±3.4 <sup>a</sup>	26.8±2.3 <sup>a</sup>	25.4±3.9 <sup>a</sup>	28.2±3.6 <sup>a</sup>
n-6/n-3	0.7±0.2 <sup>a</sup>	3.4±0.4 <sup>b</sup>	0.5±0.1 <sup>a</sup>	2.2±0.3 <sup>c</sup>
22:5 n-6/22:6 n-3	0.16±0.05 <sup>a</sup>	1.95±0.27 <sup>b</sup>	0.05±0.00 <sup>c</sup>	1.15±0.19 <sup>d</sup>

Same as Table 7

This reduction was compensated by the high levels of MUFA mainly due to oleic acid, the major fatty acid of this family. Arachidonic acid was lower in animals fed the n-6 PUFA deficient diet and in a less extent by the total PUFA deficient diet than the level of 20:4 n-6 found in the control group (Table 8). N-6 PUFA deficient animals presented significantly ( $p < 0.01$ ) reduced levels of 22:5 n-6 (0.7 vs 2.4). The n-3 PUFA deficient diet produced an extremely higher 22:5 n-6 content in PS (11.0 vs 2.4) and lower 22:6 n-3 (5.6 vs 15.0), producing as consequence a higher n-6/n-3 ratio than the control animals. It was interesting to observe that, in spite of the important modifications in each of the two PUFA families, the sum of n-6 + n-3 was not altered by the diet.

### Phosphatidylinositol

The level of palmitic acid and stearic acid was not modified in phosphatidylinositol whatever the diet considered, which has as consequence similar total saturated fatty acids in all groups (Table 9).

TABLE 9  
Effect of dietary lipids on brain membrane phosphatidylinositol fatty acid composition

Fatty acids (%)	Diets			
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
16:0	11.7 ± 1.9 <sup>a</sup>	15.0 ± 4.3 <sup>a</sup>	13.6 ± 1.1 <sup>a</sup>	16.2 ± 3.7 <sup>a</sup>
18:0	25.4 ± 2.2 <sup>a</sup>	24.7 ± 2.5 <sup>a</sup>	23.5 ± 1.6 <sup>a</sup>	23.7 ± 3.2 <sup>a</sup>
ΣSFA	41.5 ± 3.4 <sup>a</sup>	45.2 ± 4.9 <sup>a</sup>	41.8 ± 1.0 <sup>a</sup>	45.6 ± 6.8 <sup>a</sup>
18:1 n-9	8.9 ± 1.3	8.3 ± 1.4 <sup>a</sup>	11.5 ± 1.5 <sup>b</sup>	10.4 ± 0.7 <sup>b</sup>
18:1 n-7	2.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.5 <sup>a</sup>
20:1 N-9	1.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.3 <sup>a</sup>
20:1 N-7	0.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.1 <sup>a</sup>
ΣMUFA	17.5 ± 2.6 <sup>a</sup>	16.8 ± 2.9 <sup>a</sup>	20.3 ± 2.5 <sup>b</sup>	20.5 ± 1.4 <sup>b</sup>
18:2 n-6	1.4 ± 0.4 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.5 <sup>b</sup>	2.0 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.2 ± 0.6 <sup>b</sup>
20:4 n-6	31.5 ± 4.2 <sup>a</sup>	28.9 ± 3.4 <sup>ab</sup>	25.2 ± 3.4 <sup>b</sup>	23.1 ± 5.2 <sup>b</sup>
22:4 n-6	1.4 ± 0.4 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.9 ± 0.4 <sup>c</sup>
22:5 n-6	1.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.7 <sup>a</sup>
ΣPUFA n-6	36.2 ± 3.9 <sup>a</sup>	35.0 ± 5.5 <sup>ab</sup>	29.9 ± 3.4 <sup>b</sup>	28.1 ± 5.7 <sup>b</sup>
18:3 n-3	0.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.2 <sup>ab</sup>
20:5 n-3	0.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.1 <sup>c</sup>
22:5 n-3	0.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.2 <sup>a</sup>
22:6 n-3	3.5 ± 0.8 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.3 <sup>bc</sup>	4.0 ± 0.4 <sup>a</sup>	2.0 ± 1.0 <sup>c</sup>
ΣPUFA n-3	4.8 ± 1.0 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.5 <sup>b</sup>	8.0 ± 0.9 <sup>c</sup>	4.0 ± 1.2 <sup>ab</sup>
Σn-6+n-3	41.2 ± 3.8 <sup>a</sup>	38.0 ± 5.1 <sup>ab</sup>	37.9 ± 3.3 <sup>ab</sup>	32.1 ± 6.5 <sup>b</sup>
n-6/n-3	7.5 ± 2.2 <sup>a</sup>	11.5 ± 3.5 <sup>b</sup>	3.7 ± 0.6 <sup>c</sup>	7.0 ± 1.7 <sup>a</sup>
22:5 n-6/22:6 n-3	0.3 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.12 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.86 ± 0.3 <sup>a</sup>

Same as Table 7

Oleic acid and total MUFA was observed to be higher in PI from n-6 and total PUFA deficient animals than those from the control and the n-3 PUFA deficient animals. Dietary n-6 PUFA and total PUFA deficient diets produced lower levels of arachidonic acid and total n-6 PUFA (Table 9). In PI, the fish oil diet increased significantly ( $p < 0.01$ ), the levels of total n-3 PUFA (8.0 vs 4.8), due primarily to 20:5 and 22:5 n-3. Eventough total (n-6+n-3) PUFA was diminished by the total PUFA deficient diet, the n-6/n-3 ratio was maintained in PI

from animals receiving this diet. The latter was, however, increased (11.5 vs 7.5) and reduced (3.7 vs 7.5) by the dietary n-3 and n-6 PUFA deficient diets respectively. It is interesting to note that of all phospholipids analyzed here, phosphatidylinositol presented the highest n-6/n-3 ratios and not necessarily the highest n-3 PUFA levels which was observed in phosphatidylethanolamine.

### DISCUSSION

Total PUFA deficiencies have been related to reduced growth in general, the reduction in body weight seems to be a distinctive characteristic of this essential fatty acid families. The mechanism responsible for this reduced weight during PUFA deficiency is through a reduced caloric intake rather than any other physiological mechanism (21).

It has been shown (22,23) a diminished effect of PUFA on cholesterol levels in rat liver and heart tissue. This hypocholesterolemic effect of PUFA was attributed to the reduced HMG-CoA reductase activity in liver microsome, and to increase level of HDL (high density lipoproteins). However, in the literature review, we did not find any report on dietary fatty acid effects on brain membrane cholesterol levels. Apparently, the effects observed in muscle, liver and heart are not necessarily observed in this highly protected organ, where n-3 PUFA had no effect on cholesterol levels and the effects of n-6 and total PUFA deficiencies were inverse.

In our study, the PL proportions were modulated by the dietary fatty acids individually. Brain cells are very rich in polyunsaturated fatty acids which predominate in PE the major phospholipid in brain. In this respect, it was not surprising to find PE to be the most predominant phospholipid in this particular organ. Alsted and Hoy (24) reported similar fatty acid patterns in PE and PS after supplementation with fish oil at a 20 weight % fat diet after two generations. Our results confirmed their results using lower (5%) fat levels in the diet.

The literature review in regard to the effects of dietary PUFA on brain membrane phospholipid (PL) composition does not include the individual phospholipid fatty acid composition but the total phospholipid fatty acid composition are most frequently reported. Alsted & Loyd (24) reported the fatty acid profile of brain subclasses of rats fed n-3 PUFA either from marine oil or vegetable oil. Their conclusions were that, as expected, fish oil demonstrated to be a better source than 18:3 n-3 to incorporate n-3 PUFA into phospholipids in brain. In our study, fish oil increased, in general, the levels of 22:6, 20:5 and 22:5 n-3 and reduced the 20:4 and 22:5 n-6 as reported by the authors above.

Although, in general, n-3 dietary deficiency produced reduced n-3 fatty acids in each phospholipid, compensated by a high incorporation of n-6 fatty acids and the n-6 PUFA dietary deficiency produced a reduced level of n-6 fatty acid compensated by a high level of n-3 PUFA, the degree of fatty acid modification of each phospholipid class was different.

Therefore, it is important to measure not only total phospholipid fatty acid composition but also each phospholipid class in order to have more information as to which PL is most modified by the dietary manipulations, specially when considering physiological changes known to be correlated to a specific phospholipid microenvironment. In this study, PC manifested greater changes than PE, although both were deprived of essential fatty acids. In fact, the 22:5 n-6/22:6n-3 ratio of phospholipid membrane considered as an index of n-3 PUFA deficiency, if superior to 1, was 1.75 in animals deficient in the n-3 PUFA family. It was therefore, possible to produce an n-3 PUFA deficiency in phospholipids. The replacement of n-3 by n-6 PUFAs in phospholipid membranes may be sufficient to maintain the fluidity but the physiological functions of each fatty acid family are independent and can not be interchanged. Therefore, these changes may be related to physiological functions such as: monoaminergic neurotransmission, learning ability and visual acuity.

The role of n-6 and n-3 PUFA in dietary treatments of metabolic disorders was generated from epidemiological studies which support a recommendation to increase the consumption of n-3 PUFA without reducing the intake of n-6 PUFA (arachidonic acid), particularly in communities having low n-3 fatty acid intake, as it is the case of western countries (25,26). In conclusion, the importance of supplying sufficient dietary essential fatty acids (EFA), specially during the growing stage, is manifest in our results since dietary EFA deficiencies are able to change the fatty acid composition of phospholipids in brain.

#### REFERENCES

- McMurphy M. Dietary fatty acids and membrane function. *J Nutr Biochem*, 1990; 1, 68-79.
- Angulo MO, Guesnet Ph, Durand G. Effects of alfa-linolenic acid deficiency and age on oxidative phosphorylation and fatty acid composition of rat liver mitochondria. *J Nutr Biochem*, 1991; 2, 484-491.
- Burr GO and Burr MM. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem*, 1929; 82, 2, 345.
- Burr GO and Burr MM. On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition. *J Biol Chem*, 1930; 86, 587-621.
- Lamprey MS and Walker BL. A possible essential role of dietary linolenic acid in the development of the young rat. *J Nutr*, 1976; 106, 86-93.
- Neuringer M, Connor W, Lin D, Barstad L. and Luck S. Biochemical and functional effects of prenatal and post-natal omega-3 fatty acids deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1986; 83, 285-294.
- Bourre JM, Bonneil M, Clement M, Dumont O, Durand G, Lafornt H, Nalbone G & Piciotti M. Function of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system *Prostaglandins-Leukot-Essent-Fatty-Acids* Jan; 1993; 48(1):5-15.
- Neuringer M, Connor W. N-3 fatty acids in the brain and the retina. Evidence for their essentiality. *Nutr Rev*, 1986; 44, 9 295-294.
- Carlson S and Salem N. Essentiality of w3 fatty acids in growth and development in infants. In *Health effects of omega 3 polyunsaturated fatty acids in deafood*, *World Rev Nutr Diet*, ed. Basel Karger, 1991; vol 66, 74-86.
- Neuringer M, Anderson G, Connor W. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and the brain. *Ann Rev Nutr*, 1993; 8, 517-541, 1988.
- Jokota A. Relationship between polyunsaturated fatty acid and learning ability in the brain of rat fetus and newborn. *Nippon-Sanka-Fujinka-Gakkai-Zashi*. 45,1,15-22.
- Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Pascal G & Durand G. The effect of dietary a-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poison and performance of learning tasks in rats. *Lipids*, 1992; 119, 1880-1892.
- Neuringer M, Connor W, 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.
- Angulo GO. Polyunsaturated fatty acid deficiencies: effects on hepatic plasma membrane fatty acid composition and enzyme activity. *Arch Latinoamer Nutr*. 1995; 48, 5-15.
- Epping RJ, and Bygrave FL. A Procedure For The Rapid Isolation From Rat Liver Of Plasma Membrane Exhibiting Ca<sup>2+</sup>-Transport And Ca<sup>2+</sup>-ATPase Activities. *Biochem J*, 1984; 223, 733-745.
- Bradford MA Rapid And Sensitive Method For The Quantification Of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye-Binding. *Anal Biochem*, 1976; 72, 248-254.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A Simple Method For The Isolation And Purification Of Total Lipids From Animal Tissues. *Biol Chem*, 1957; 226, 497-506.
- Wolff R. Mise Au Point Sur Le Dosage Enzymatique Des Esters De Cholestérol a Chaines Polyunsaturés Très Longues. *Rev Franç. Des Corps Gras*, 1985; 32, 3, 111-115.
- Bartlett GR. Phosphorus Assay In Column Chromatography. *J Biol Chem*, 1959; 234, 466-468.
- Morrison WR. And Smith LM. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters And Dimethylacetals From Lipids With Boron Fluoride-Methanol. *J Lipid Research*, 1964; 5, 600-608.
- MacDonald RS, Zhang W, Shang JP, Sun GY. Brain neutral lipids and phospholipids are modified by long term feeding of beef tallow vs corn oil diets. *J Nutr*. 1996; 126, 1554-1562.
- Park BS, Lee NH & Rhee YC. Effect of dietary Omega 3-PUFA and Omega-6 PUFA on redistribution of cholesterol from blood to tissue in rat. *Korean J. Animal Nutr. and Feedstuffs* 1992(a); 16(4) 176-182.
- Park BS, Seon KS, Yoon CS, Hwangbo J, Lee HW, Lee NN & Rhee YC. Effect of Omega-PUFA on cholesterol synthesis and Steroid excretion in rats *Korean J. Animal Nutr. and Feedstuffs*, 1992(b); 16(5) 283-290.
- Alsted AL & Hoy CE. The fatty acid profile of brain phospholipid subclasses of rats fed n-3 PUFA of marine or vegetable origin: A two generation study. *Biochim Biophys. Acta*, 1992; 1125, (3) 237-244.
- Uauy-Dagach R and Valenzuela A. Marine oils as a source of omega-3 fatty acids in the diet: how to optimize the health benefits. *Prog Food Nutr Sci*, 1992; 16, 3, 199-243.
- Collier GR and Sinclair AJ. The Role of N-6 and N-3 fatty acids in the dietary treatment of metabolic disorders. *Ann New York Academy of Science*, 1993; 683: 322-330.

Recibido: 14-10-1997.

Aceptado: 19-06-1998.

## Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on adenylate cyclase, 5'nucleotidasa and Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activities in rat brain-plasma membrane

*Ofelia Angulo-Guerrero and R.R. Oliart*

Instituto Tecnológico de Veracruz, Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, México

**SUMMARY.** The incidence of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in human nutrition is now generally accepted. As essential membrane components, PUFA may act as enzyme activity modulators. In this study, four different diets, in which PUFA type was the only modifying factor, were evaluated on 5'nucleotidase, adenylate cyclase and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activities in rat brain plasma membranes. Animals fed the total PUFA deficient diet exhibited significant lower body weight and lower brain weight than did the control group. The specific activities of 5'nucleotidase and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase in brain plasma membrane were slightly modified by dietary PUFA. The catalytic unit of adenylate cyclase in total PUFA deficient animals presented augmented enzyme activity and animals receiving diets deficient in n-6 PUFA showed reduced activity in relation to the control animals. Our results showed that the epinephrine receptors, in the case of adenylate cyclase are not modified by dietary PUFA, but rather the catalytic unit seems to be altered by dietary PUFA. These results can be partially explained by the fluidity that PUFA confers to membranes facilitating the proximity of enzyme-substrate. The physiological consequences of dietary PUFA incidence on enzyme activity needs further study.

**Key words:** PUFA deficiency, brain plasma membrane, adenylate cyclase, 5'nucleotidase, Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase.

**RESUMEN.** Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados dietarios en la actividad de la adenilato ciclasa 5'nucleotidasa y Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPasa de la membrana plasmática del cerebro de ratas. Los efectos de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en la nutrición humana son hoy en día ampliamente aceptados. Como componentes esenciales de las membranas, los AGPI pueden actuar modificando actividades enzimáticas. Se estudiaron cuatro dietas distintas, en las cuales el tipo de AGPI fue el único componente distinto, en las actividades de la 5'nucleotidasa, Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPasa y adenilato ciclasa de la membrana plasmática de cerebro de rata. Los animales alimentados con la dieta totalmente deficiente en AGPI presentaron peso corporal y peso del cerebro inferior al encontrado en los animales del grupo testigo. Las actividades específicas de la 5'nucleotidasa y la Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPasa de la membrana plasmática del cerebro fueron ligeramente modificadas por los lípidos dietarios. La unidad catalítica de la adenilato ciclasa aumentó su actividad en los animales que recibieron la dieta totalmente deficiente en AGPI, mientras que esta actividad disminuyó en los animales con la dieta deficiente en AGPI n-6, en relación a la actividad del grupo testigo. Nuestros resultados muestran que los receptores de la epinefrina, en el caso de la adenilato ciclasa, no se modifican por los lípidos dietarios, pero éstos si afectan la unidad catalítica de la enzima. Estos resultados pueden ser parcialmente explicados por la fluidez que los AGPI confieren a la membrana, facilitando así la proximidad de enzima-sustrato. Las consecuencias fisiológicas de los efectos de los AGPI dietarios en las actividades enzimáticas requiere de mayor estudio.

**Palabras clave:** Deficiencia de AGPI, membrana plasmática cerebral, adenilato ciclasa, 5'nucleotidasa, Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPasa.

### INTRODUCTION

The role of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) has been largely studied, however, the specific mechanisms of action are yet to be outlined. As essential membrane components, PUFA may act as enzyme activity modulators. Polyunsaturated fatty acids esterified to glycerolphosphoryl bases are, with cholesterol, the main components of the lipid matrix of biological membranes. Their relative proportions determine the biophysical and physiological properties of these membranes (1). However, the composition of brain lipids is generally less readily modified by dietary factors

compared with other organs (2). Nevertheless, dietary modifications induced, albeit moderate, appear to alter membrane enzyme activity and other physiological conditions (3).

Plasma membrane proteins (enzymes, receptors, and ionic channels) are directly related to the membrane lipid bilayer. Examples of these are the 5'nucleotidase, adenylate cyclase and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase. 5'nucleotidase catalyzes the dephosphorylation of adenosine 5'monophosphate (5'AMP). Adenylate cyclase is directly related to the cellular communication and as such plays a fundamental role in regulating cellular metabolism via the cyclic adenosine

monophosphate (cAMP).  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase is necessary for the ionic shuttle across the membrane cell, therefore, it plays a crucial role in controlling the ionic environment essential for neuronal activity. To our knowledge, very little research has been published on the effect of dietary PUFA on the activity of adenylate cyclase in brain plasma membrane (4). These authors reported no change in adenylate cyclase activity in neuroblastoma cells rich in 18:2 n-6. However, later on, the research group of Murphy (5) reported a high adenylate cyclase activity of neuroblastoma under the same conditions. The effects of dietary PUFA on the activity of 5' nucleotidase although largely studied, the results are contradictory. In fact, while Bernshon and Spitz (6) observed a reduced activity in 5' nucleotidase activity in brain plasma membrane depleted of PUFA, others (7) reported no change in this activity under the same diet.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity has been reported to be elevated in animals receiving a diet deficient in total PUFA (8). The n-3PUFA deficient diet produced a 40% reduction in  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activity from rat synaptosomes (9). However, very frequently comparison between reported results are not as evident due to the discrepancies in control groups. Nevertheless, the dependence of these three enzymes on PUFA membrane environment appears important. Therefore in this study, the effects of four different diets on the 5' nucleotidase adenylate cyclase and  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase activities in rat brain plasma membranes are compared.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental animals

Wistar rats were given a semisynthetic diet in which lipids were supplied by 5% of the respective oil (w/w). The protocols used were as described previously (10). In general, lipids were supplied by either peanut and rapeseed oil mixture (control), peanut oil (n-3 PUFA deficient), cod liver oil (n-6 PUFA deficient) or partially hydrogenated palm oil (total PUFA deficient). The diet and the fatty acid composition of dietary lipids are presented in Tables 1 and 2. Ten animals were put on each diet right after weaning and until adult age (90 d), when killed by decapitation. Brain were immediately removed, weighed and homogenized for membrane preparation as described in the following section.

### Membrane purification

Brain plasma membranes were separated by a modified method (11). Briefly, 2g of brain were homogenized with 10 ml of cold buffer (Hepes:KOH, 5 mM; pH=7.4) with a teflon potter homogenizer (Thomas C) using 15 up and down strokes at 1 000 rpm. The homogenate was filtered through a tissue and centrifuged at 10 000 rpm (12 000 xg) for 10 minutes in a Beckman JA20 centrifuge. The supernatant, diluted to 75% with Percoll, was then placed at the bottom of the tube followed by a step Percoll gradient (30, 25, 18, 10 and 0% v/v) (Pharmacia) and centrifuged at 20 000 rpm (48 000 xg) for

4 minutes at 4°C. The plasma membrane fraction was collected at the 10%-0% interface. Then it was diluted with a Percoll solution (75%, v/v) to a ratio of 2 ml of Percoll per 5 ml of membrane fraction. Seven ml of this membrane fraction were placed again at the bottom of the tube followed by a step gradient (18%, 10%, 0% v/v) and centrifuged using the conditions mentioned above. The plasma membranes obtained were immediately used for enzyme activity measurements. Protein analysis was done after the Bradford method (12).

TABLE 1  
Diet composition (g/kg)

Composition %	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
Casein	22.0	22.0	22.0	22.0
DL methionine	0.16	0.16	0.16	0.16
Cellulose	2.0	2.0	2.0	2.0
Starch	43.90	43.90	43.90	43.90
Sucrose	21.94	21.94	21.94	21.94
Vitamin mixture <sup>a</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture <sup>b</sup>	4.0	4.0	4.0	4.0
Hydrogenated palm oil	-	-	-	5.0
Peanut oil	2.5	5.0	-	-
Cod liver oil	-	-	5.0	-
Rapeseed oil	2.5	-	-	-

a. Total vitamin supplement, United States Biochemical corp. Cleveland, OH.

b. Composition g/100 g:  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 38.0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 24.0;  $\text{CaCO}_3$ , 18.0;  $\text{NaCl}$ , 6.9;  $\text{MgO}$ , 2.0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 9.0;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.086;  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.5;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.5;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.1;  $\text{NaF}$ , 0.08;  $\text{CrK}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.05;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.002;  $\text{KI}$ , 0.004;  $\text{CoCO}_3$ , 0.002;  $\text{NaSeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.002.

TABLE 2  
Fatty acid composition of dietary lipids

Fatty Acids (%)	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
Fatty acids/ 100 g of diet:				
n-6PUFA (mg)	930.6	935.3	136.3	84.6
n-3PUFA (mg)	188.0	4.7	1113.9	-

Control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

### Plasma membrane lipid analysis

Total lipids from plasma membrane were extracted by the Folch et al. procedure (13) in the presence of butyl hydroxytoluene (BHT) at a 0.02% (w/v).

Total phospholipid fatty acid methyl esters (FAME) were

analyzed by gas chromatography under the conditions described previously (10).

### Enzyme activity

#### 5'Nucleotidase (E.C.3.1.3.5)

5'nucleotidase activity of brain plasma membrane was determined by measuring the degradation of (3H)AMP (adenosine monophosphate) in a liquid scintillation detector (Packard model TRI-CARB 1500). The assay was carried at 37°C during 60 min in an incubation mixture containing Tris/HCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 180 M, AMP(Na) 254 M and (3H) cAMP 15 Ci/nmole pH=7.4. The enzyme activity was calculated taking into account the isotope specific activity (33x110-6 dpm corresponding to 1 nmole of (3H)AMP hydrolyzed) (14).

#### Adenylate Cyclase (E.C. 4.6.1.1.)

Adenylate cyclase activity of brain plasma membrane was determined after Salesse technique (15) by measurement of labeled cyclic (3H) AMP generated from the substrate ATP in the presence of 20 mg protein. The reaction was carried out at 37°C during 20 min. The incubation mixture contained creatine phosphate (100 mM), creatine phosphokinase (375 U/ml), myokinase (850 µg / ml), ATP 0.1 M, adenosine deaminase (1000 U/ml), isobutylmethylxanthine (200mg / 200µl DMSO). Basal adenylate cyclase activity was measured in the presence of GTP (10 mM) and stimulated adenylate cyclase activity was determined replacing GTP by epinephrine, GppNHp (10mM), forskoline (300 mM) and forskoline+GDPβs (0.003 M). The cyclic AMP produced was separated from the incubation mixture by fixing it to the protein kinase (4 mg/ml) in the presence of saturated 3H cAMP (2.2 pmoles/ assay). The complex was stabilized by addition of protein kinase inhibitor (3 mg/ml). The cyclic AMP produced was measured by liquid scintillation after separation from the incubation mixture.

#### Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase (E.C. 3.6.1.37)

The activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase was measured after a modified Fujita et al. technique (16). The analysis was carried out in 20 µg of membrane protein and 1 ml of an incubation mixture containing Tris/HCl 54 mM, NaCl 125 mM, KCl 21.5 mM, MgCl<sub>2</sub> 5mM, and ATP 10mM in the presence and absence of ouabaine 0.5mM. The reaction was done at 37°C during 30 min using a mixture of TCA (20%) and ascorbic acid (4%) to stop the reaction. The phosphorus produced was measured by the Baginski et al. (17) technique: an aliquot of 0.3 ml was mixed with 0.7 ml of TCA-Ascorbic acid solution at 30%. The addition of 0.5 ml of ammonium molybdate (1%) and arsenate-citrate solution favors the color reaction which was measured after 15 min at 840 nm.

### Statistical methods

Results were analyzed statistically by standard analysis of

variance (ANOVA) at a probability level of  $p < 0.05$

## RESULTS AND DISCUSSION

### Body and brain weight

Animals fed diets containing partially hydrogenated palm oil exhibited significantly lower body weight (294 ± 18 g) and lower brain weight (1.73 ± 0.08 g) than did animals from the control group (372 ± 14 g, 1.97 ± 0.04 g). A similar body weight reduction was observed in animals receiving 12% corn oil diet, due mainly to differences in energy intakes (18). Protein per g of brain was around 21 mg independently of diet (Table 3).

TABLE 3

Dietary fatty acid effects on body and brain weight

	Control	Diets		
		n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
Body weight (g)	372±14 <sup>a</sup>	355±33 <sup>a</sup>	378±27 <sup>a</sup>	294±18 <sup>b</sup>
Brain weight (g)	1.97±0.04 <sup>a</sup>	1.98±0.09 <sup>a</sup>	1.97±0.05 <sup>a</sup>	1.73±0.08 <sup>b</sup>
Protein/brain (mg/g)	21.8±1.6 <sup>a</sup>	20.5±1.6 <sup>a</sup>	21.3±1.7 <sup>a</sup>	21.2±1.9 <sup>a</sup>

Results are the mean ± standard deviation

Control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

Means with different letter are statistically different ( $p < 0.05$ ).

### Total phospholipid fatty acid composition

In general, total saturated fatty acids were not modified by dietary lipids as was expected since de novo synthesis also contributes to saturated fatty acid pool. Monoenes were slightly modified by the diet, indeed total MUFA were maintained around 35.2%. The n-3 PUFA deficient diet produced, on the contrary, a significant ( $p < 0.01$ ) increase in the n-6 PUFA family. This was due primarily to the increase in 22:5 n-6 which is the longest fatty acid in this family. This effect was compensated by a reduction in 22:6 n-3 (10.1 vs 4.1%) the most important of the n-3 PUFA. The diet rich in fish oil produced higher levels of the n-3 PUFA members than those reported in the control group. The reduction of the n-6 PUFA was also a characteristic of the fish oil rich diet. These fatty acid modifications corresponded to the expected effects of each diet (Table 4).

### 5'Nucleotidase activity

The specific activity of 5'nucleotidase in brain plasma membrane was in a range from 29.4 to 32.7 µmol PO<sub>4</sub>/mg protein. h (Table 5). Statistical analysis showed a slightly difference in 5'Nucleotidase activity between that of the control group (30.2) and the n-6PUFA (32.7) and total PUFA deficient animals (32.5).

TABLE 4  
Effect of dietary lipids on brain membrane total phospholipid fatty acid composition

Fatty acids (%)	Diets			
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
16:0	20.7±1.5 <sup>a</sup>	21.5±0.8 <sup>a</sup>	20.9±1.2 <sup>a</sup>	20.9±1.0 <sup>a</sup>
18:0	18.4±0.7 <sup>a</sup>	16.8±0.6 <sup>b</sup>	17.1±0.3 <sup>b</sup>	17.8±0.2 <sup>a</sup>
ΣSFA	40.9±1.4 <sup>a</sup>	40.5±0.7 <sup>a</sup>	41.0±0.9 <sup>a</sup>	40.5±0.6 <sup>a</sup>
18:1 n-9	23.1±0.7 <sup>a</sup>	22.0±0.5 <sup>b</sup>	25.9±0.6 <sup>c</sup>	21.7±0.5 <sup>b</sup>
18:1 n-7	5.2±0.2 <sup>a</sup>	5.5±0.2 <sup>b</sup>	5.2±0.1 <sup>a</sup>	5.1±0.2 <sup>a</sup>
20:1 n-9	3.4±0.3 <sup>a</sup>	3.1±0.2 <sup>ab</sup>	3.0±0.2 <sup>b</sup>	2.6±0.2 <sup>c</sup>
20:1 n-7	1.1±0.1 <sup>a</sup>	1.1±0.1 <sup>a</sup>	1.0±0.1 <sup>a</sup>	0.9±0.1 <sup>a</sup>
ΣMUFA	35.1±1.2 <sup>a</sup>	34.1±0.9 <sup>ac</sup>	37.8±0.8 <sup>b</sup>	33.5±1.0 <sup>c</sup>
18:2 n-6	0.5±0.1 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>	0.6±0.2 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>
20:3 n-6	0.3±0.1 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>a</sup>	0.2±0.1 <sup>a</sup>
20:4 n-6	8.7±0.5 <sup>a</sup>	9.6±0.3 <sup>b</sup>	6.0±0.4 <sup>c</sup>	8.5±0.4 <sup>a</sup>
22:4 n-6	3.2±0.4 <sup>a</sup>	3.9±0.2 <sup>b</sup>	1.5±0.2 <sup>c</sup>	2.8±0.2 <sup>a</sup>
22:5 n-6	0.9±0.2 <sup>a</sup>	6.8±0.5 <sup>b</sup>	0.9±0.5 <sup>a</sup>	6.2±0.5 <sup>b</sup>
ΣPUFA n-6	13.7±1.0 <sup>a</sup>	21.3±0.8 <sup>b</sup>	9.2±1.1 <sup>c</sup>	18.3±0.9 <sup>d</sup>
20:5 n-3	-	-	0.4±0.1	-
22:5 n-3	0.1±0.0	-	0.9±0.1	-
22:6 n-3	10.1±1.1 <sup>a</sup>	4.1±0.7 <sup>b</sup>	11.6±1.1 <sup>a</sup>	5.8±0.5 <sup>c</sup>
ΣPUFA n-3	10.3±1.1 <sup>a</sup>	4.1±0.7 <sup>b</sup>	13.0±1.1 <sup>c</sup>	6.0±0.6 <sup>d</sup>
Σn-6+n-3	24.1±1.9 <sup>ab</sup>	25.4±0.9 <sup>a</sup>	22.1±1.1 <sup>b</sup>	24.3±0.6 <sup>a</sup>
n-6/n-3	1.3±0.1 <sup>a</sup>	5.2±0.9 <sup>b</sup>	0.7±0.1 <sup>c</sup>	3.1±0.4 <sup>d</sup>
22:5 n-6/22:6 n-3	0.09±0.0 <sup>a</sup>	1.69±0.30 <sup>b</sup>	0.07±0.02 <sup>a</sup>	1.07±0.17 <sup>c</sup>

Results are the mean ± standard deviation of ten animals in each group control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

TABLE 5  
Dietary fatty acid effects on brain plasma membrane 5' nucleotidase and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activities

Activity	Diets			
	Control	n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
5' Nucleotidase μmoles PO <sub>4</sub> mg prot. h <sup>-1</sup>	30.2±1.4 <sup>a</sup>	29.4±2.5 <sup>a</sup>	32.7±2.4 <sup>b</sup>	32.5±3.2 <sup>b</sup>
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase	131.0±30.0 <sup>ab</sup>	114.0±20.0 <sup>a</sup>	138.0±13.6 <sup>b</sup>	1160±24.0 <sup>a</sup>

Results are the mean ± standard deviation control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

Means with different letter are statistically different (p < 0.05)

It has been reported no diet-related difference in the activity of the enzyme in myelin membrane (6, 19). The low activity of the enzyme reported by others (4, 6) was not confirmed in this study.

5' nucleotidase activity has been reported to be dependent on PI microenvironment. In this study, PI levels were not modified by the individual n-6 and n-3 PUFA deficiency (data not shown), probably helping to maintain enzyme activity unchanged. It is also important to mention that the n-6/n-3

ratio depicted in this particular phospholipid (PI) was the highest of all other PL. Does this mean that the PL microenvironment was sufficient to maintain enzyme activity unchanged? Phospholipid proportions in other studies reporting 5' nucleotidase modification by dietary lipids are not reported.

### Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase

The specific activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase in brain plasma membranes varied between 114 and 138 μmol PO<sub>4</sub>/mg protein h. The activity of this enzyme appeared not to be modified by any of the dietary deficiencies in relation to the control group. However, a slight difference was observed between the activity of animals getting the individual (n-6 and n-3) PUFA deficiencies and the total PUFA deficient group (Table 5). The elevated Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity reported (20) during n-6 PUFA deficiency, however, seems to be related to the animals general altered physiology (hair loss, skin problems, etc.) rather than dietary manipulations only.

The effect of dietary alpha-linolenic acid and fish oil on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase isoenzymes were analyzed in brain (21,22) concluding that out of the three isoenzymes conforming the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase, the sensitiveness of 2 and 3 isoenzymes to sodium were dependent of omega 3 fatty acids but no correlation was observed for the sensitiveness of 1 isoenzyme. Our results might be explained by the differences in ouabain sensitiveness that presented this enzyme, according to the results depicted above.

Recently, the incidence of dietary PUFA on neurotransmission has been related to an increase in dopamine and serotonin levels under diets deficient in n-6 and total PUFA respectively, suggesting a different mechanism of PUFA incidence in the neurotransmission system (23). The neurotransmission system disorder, during EFA deficiency, appears not to be related to enzyme activity, perhaps neurotransmitter molecule levels are impaired

When considering changes in enzyme activities very often reports present different control and therefore it is not surprising to find discrepancies in results. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase is a key enzyme in the neurotransmitter system and for a long time it has been postulated (8) to be modulated by PUFA. Nevertheless, in our study only a slight change was observed in this enzyme when comparing the individual PUFA deficiency and the total PUFA deficiency group.

### Adenylate Cyclase

Adenylate cyclase complex presents three different sites where PUFA may interfere: the receptor site (epinephrine), the regulating site (Protein G) and the catalytic site per se.

Basal adenylate cyclase activity in brain plasma membrane was not modified by dietary PUFA deficiencies. Forskoline and epinephrine stimulated adenylate cyclase (receptor site) was not influenced by dietary PUFA deficiencies.

On the other hand, the activity of the enzyme stimulated by the forskoline + GDP βs which gives information on the

catalytic unit was reduced by the n-3 PUFA deficient diet in comparison to the activity from the total PUFA and n-6 PUFA deficient animals (Table 6). Murphy has been working extensively on the effect of PUFA on neuroblastoma cells and he concluded that the mechanisms involved in the stimulation of cAMP through PUFA was multifactorial (24). To our knowledge, no other studies have reported the incidence of dietary PUFA on adenylate cyclase activity in brain. Since, on one hand, this enzyme plays a fundamental roll in the metabolic cascade of carbohydrate and lipid through cAMP and, in the other hand carbohydrate and lipid metabolism have been reported to be altered during insulin-resistance syndrome, therefore, the study of dietary PUFA on this syndrome through cAMP might give us some insight as to mechanism involved in this type of disorder.

TABLE 6

Effect of dietary lipids on brain Adenylate Cyclase activity

Activity	Control	Diet <sup>1</sup>		
		n-3 PUFA Deficient	n-6 PUFA Deficient	Total PUFA Deficient
Basale	68.0±19.7 <sup>a</sup>	61 ± 21 <sup>a</sup>	66 ± 18 <sup>a</sup>	73 ± 18 <sup>a</sup>
Epinephrine	95.0±33 <sup>a</sup>	89 ± 28 <sup>a</sup>	92 ± 26 <sup>a</sup>	96 ± 30 <sup>a</sup>
GppNHp <sup>2</sup>	252 ± 94 <sup>a</sup>	231 ± 58 <sup>a</sup>	259 ± 101 <sup>a</sup>	244 ± 107 <sup>a</sup>
Forskoline	438 ± 152 <sup>a</sup>	434 ± 70 <sup>a</sup>	406 ± 135 <sup>a</sup>	496 ± 117 <sup>a</sup>
Forskoline + GDPβs3	289 ± 58 <sup>ab</sup>	312 ± 35 <sup>a</sup>	253 ± 52 <sup>b</sup>	346 ± 81 <sup>a</sup>

Results are the mean ± standard deviation

control diet = mixture of peanut and rapeseed oil, n-3 PUFA deficient diet = peanut oil, n-6 PUFA deficient diet = cod liver oil, total deficient diet = hydrogenated palm oil.

Means with different letter are statistically different (p < 0.05)

In conclusion, this study demonstrated the incidence of dietary lipids on the fatty acid profile of brain cells. These modifications on brain fatty acid composition were not sufficient to alter the activity of 5' nucleotidase. The activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase was not correlated to changes in total phospholipids fatty acid composition, recent studies, however, have reported a correlation between dietary PUFA and neurotransmitters (dopamine and serotonin) levels, which could account for the disturbances of the neurotransmission system reported under dietary PUFA deficiencies. The catalytic site of adenylate cyclase enzyme was altered during the n-3 PUFA deficiency, suggesting the need of these particular fatty acids for the functioning of the enzyme. Further research is needed to comprehend the physiological consequences of adenylate cyclase reduced activity under this dietary deficiency.

## REFERENCES

- McMurphy M. Dietary fatty acids and membrane function. *J Nutr Biochem.* 1990;1,68-79.
- Bourre JM, Dumont OS, Piciotti MJ, Pascal GA and Durand G. Dietary alpha-linolenic acid deficiency in adult rats for 7 months does not alter brain docosahexaenoic acid content in contrast to liver, heart and testes. *Biochem Biophys Acta.* 1992;1124,119-122.
- Angulo MO, Guesnet Ph, Durand G. Effects of alpha-linolenic acid deficiency and age on oxidative phosphorylation and fatty acid composition of rat liver mitochondria. *J Nutr Biochem.* 1991;2,484-491.
- McGEE R & Keniber JG. The effects of exposure to unsaturated fatty acids on opiate receptors, prostaglandin E, receptors and adenylate cyclase activity of neuroblastoma X glioma hybrid cells. *Mol Pharmacol.* 1982; 22:360-368.
- Murphy MG. Studies of the regulation of basal adenylate cyclase activity by membranes polyunsaturated fatty acids in cultured neuroblastoma. *J Neurochem.* 1986;47, 245-253.
- Bersohn J & Spitz FJ. Linoleic and linolenic acid dependency of some brain membrane-bound enzyme after lipid deprivation in rats. *Biochem. Biophys. Res Commun.* 1974; 57, 293-298.
- Hannah J and Compagnoni AT. Effects of essential fatty acid deficiency on mouse development. *Dev Neurosci.* 1987; 9,120-127.
- Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Pascal G & Durand G. The effect of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poison and performance of learning tasks in rats. *Lipids.* 1989;119,1880-1892.
- Bourre JM, Bonneil M, Clement M, Dumont O, Durand G, Lafornt H, Nalbone G & Piciotti M. Function of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system Prostaglandins-Leukot-Essent-Fatty-Acids Jan; 1993;48(1):5-15.
- Angulo GO. Polyunsaturated fatty acid deficiencies" effects on hepatic plasma membrane fatty acid composition and enzyme activity. *Arch Latin Nutr.* 1995;45, 4, 295-304.
- Epping RJ, Bygrave FL. A Procedure For The Rapid Isolation From Rat Liver Of Plasma Membrane Exhibiting Ca<sup>2+</sup>-Transport And Ca<sup>2+</sup>-Atpase Activities. *Biochem J.* 1984; 223, 733-745.
- Bradford MA Rapid And Sensitive Method For The Quantification Of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye-Binding. *Annal Biochem.* 1976;72, 248-254.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A Simple Method For The Isolation And Purification Of Total Lipids From Animal Tissues. *Biol Chem.* 1957;226, 497-506.
- Avruch J, Wallach HFD. Preparation And Properties Of Plasma Membrane And Endoplasmic Reticulum Fragments From Isolated Rat Cells. *Biochim Biophys Acta.* 1971;233, 334-337.
- Salesse R. Modulation De L'activité De L'adenylate Cyclase Par L'état Physique De La Membrane Érythrocytaire De Pigeon. Thèse De Doctoral D'état, Université Paris XI, 1986.
- Fujita M, Matsui H, Nagano K & Nakao M. Assymetric distribution of ouabain-sensitive ATPase activity in rat intestinal mucosa. *Biochim Biophys. Acta.* 1971;233: 404-408.
- Baginski ES, Fao PP & Zak B. Microdetermination of inorganic phosphate, phospholipid and total phosphate in biological materials. *Clin Chem.* 1967;13, 326-332.
- MacDonald RS, Zhang W, Shang JP, Sun G.Y. Brain neutral lipids and phospholipids are modified by long term feeding of

- beef tallow vs corn oil diets. *J Nutr.* 1996;126,1554-1562.
19. Shantaram P & Srinivasa Rao-P. Activity of myeline membrane NaKATPase & 5' nucleotidase in relation to phospholipid Acyl Profiles, ganglioside composition and phosphoinosited in developing brain. *Biochim Biophys. Acta*, 1989;982 (1)115-122.
  20. Sun GY and Sun AY. Synaptosomal plasma membranes: acyl group composition of phosphoglycerides and NaK ATPase activity during fatty acid deficiency. *J Neurochem*, 1974;22,15-18.
  21. Gerbi A, Zerouga M, Debray M, Durand G, Chanez C and Bourre JM. Effect of dietary alfa-linolenic acid on functional characteristics of Na/KATPase isoenzymes in whole brain membranes of weaned rats. *Biochem, Biophysic, Acta* 1993;1165, 291-298.
  22. Gerbi A, Zerouga M, Debray M, Durand G, Chanez C and Bourre JM. Effect of fish oil on fatty acid composition of phospholipid brain membranes and kinetics properties of NaKATPase isoenzymes of weaned and adult rats. *J Neurochem*, 1994;62,1560-1569.
  23. Shalon S, Delion-Vancassel D. Guilloteau and Durand G. Effect of Dietary (n-3)PUFA intake on Neuroaminergic neurotransmitter system International Conference on highly unsaturated fatty acids in nutrition and disease prevention; Barcelona, Spain, 4-6 november 1996; p. 81.
  24. Murphy MG & Byczko Z. Further studies of the mechanisms of PUFA mediated increases in intracellular cAMP formation in NiE-115 neuroblastoma cells. *Neurochem Res.* 1992;17,11:1069-1077.

Recibido: 14-10-1997

Aceptado: 19-06-1998

## Efeito do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos

Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Paulo F.G. Leal, Tânia T. Oliveira

Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Brasil

**RESUMO.** Estudos com feijão têm demonstrado seu efeito na redução de colesterol sanguíneo. O presente trabalho visou investigar o efeito da retirada da casca do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. Foram utilizados 4 grupos de 8 ratos machos, da linhagem Wistar, com peso inicial de 200 g, os quais foram mantidos a  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro-escuro de 12 horas, por 28 dias. O grupo Padrão foi alimentado com uma dieta basal de caseína. O grupo Controle recebeu a dieta basal adicionada de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico. O terceiro grupo recebeu dieta semelhante à Controle, substituída, em base seca, por 30% de feijão preto integral (FPI). O último grupo recebeu o equivalente a 30% de feijão, porém, sem casca (FPSC). A adição de colesterol e ácido cólico elevou os níveis de colesterol do grupo Controle em 58%, em relação ao Padrão. A dieta FPI reduziu os níveis de colesterol sanguíneo total em 15% (não significativo-NS) e a dieta FPSC promoveu redução ( $p<0,05$ ) de 35%, em relação ao grupo Controle. Os níveis de HDL-colesterol foram reduzidos ( $p<0,05$ ) pelas duas dietas de feijão. A dieta FPSC promoveu maior excreção de colesterol nas fezes ( $p<0,05$ ), em relação à dieta Controle. Isso sugere que o feijão preto sem casca promove uma maior eliminação do colesterol do organismo e o feijão integral, embora reduza o colesterol do sangue (NS), o conserva mais na circulação entero-hepática. Os componentes responsáveis pelo efeito hipocolesterolemizante do feijão parecem estar localizados, em sua maioria, no interior do grão, sendo necessários mais estudos para a identificação desses compostos e para elucidar seus mecanismos de ação.

**Palavras-chave:** Feijão, colesterol, rato.

**SUMMARY.** The cholesterol-lowering effect of black beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) without hulls in hypercholesterolemic rats. The cholesterol-lowering property of beans has been shown in several studies. The propose of the present work was to investigate the effect of black beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) without hulls on blood cholesterol of hypercholesterolemic rats. Four groups of 8 male rats, Wistar strain, initial body weight of 200g were kept at  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  in a light-dark cycle of 12h, for 28 days. The group Standard received a basal casein diet. Group Control received the basal diet added of 1% cholesterol plus 0.1% cholic acid. The group BB received a diet similar to the Control, substituted by 30% black beans, on dry-weight. The group SBB received black beans without hulls, equivalent to 30% of whole beans. The addition of cholesterol and cholic acid raised blood cholesterol levels of rats on Control diet by 58%, in relation to the Standard. BB diet reduced blood cholesterol by 15% (non-significant - NS) and SBB diet reduced ( $p<0.05$ ) by 35%, in relation to the Control diet. The levels of HDL-cholesterol were reduced ( $p<0.05$ ) by both bean diets. SBB diet promoted a higher excretion of fecal cholesterol, compared to the Control. This suggests that beans without hulls promote a higher cholesterol output and that the whole beans, although had lowered blood cholesterol (NS), kept it in the enterohepatic circulation. The hypocholesterolemic compounds of beans seem to be located in the inner part of the grain. Further studies are necessary to identify these compounds and to elucidate their mechanisms of action.

**Key words:** Beans, cholesterol, rat.

### INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde-OMS (1) ressalta que a chave mestra para aumentar a expectativa de vida de uma população é a prevenção das doenças cardiovasculares. Sabe-se que níveis altos de colesterol sanguíneo, particularmente a fração LDL, têm sido associados ao risco de doenças cardiovasculares e que pequena redução do seu nível plasmático está associada a um decréscimo significativo desse risco (2).

O colesterol sérico total e a fração LDL podem ser aumentados pela ingestão excessiva de calorias, gorduras saturadas e colesterol dietético e, possivelmente, por proteína animal. Entretanto, podem ser reduzidos por diminuição do peso corporal, substituição dietética dos ácidos graxos saturados

por ácidos graxos poliinsaturados, fibra alimentar solúvel (2) e pelo consumo de alguns alimentos com propriedade hipocolesterolemizante, como a aveia e as leguminosas (3).

Jenkins et al. (4) observaram que a inclusão de 140 g de feijão, diariamente, durante 4 meses, na dieta de pacientes hiperlipidêmicos reduziram em 7% o colesterol sérico total. Anderson et al. (5) estudaram o efeito hipocolesterolemizante de feijões secos «navy» e «pinto», consumidos em doses de 50 e 115 g/dia (peso seco), respectivamente. A incorporação dos feijões resultou em decréscimos de 15 a 23% no colesterol sérico total e de 13 a 24% no LDL-colesterol, após um período de três semanas. Os mesmos autores (6) investigaram 24 homens voluntários hiperlipidêmicos ingerindo dietas que continham feijões enlatados em doses diferentes, todas as

dietas reduziram os níveis séricos de colesterol em torno de 10%.

Rigotti et al. (7), estudando o efeito da dieta de feijão sobre a secreção biliar de lipídios, o metabolismo hepático de colesterol e a concentração sérica de colesterol em ratos machos, da linhagem Wistar, com peso entre 80 e 140 g, por 10 a 12 dias, observaram que a concentração de colesterol sérico total e a fração VLDL-colesterol decresceram significativamente em 27 e 50%, respectivamente, nos ratos alimentados com dieta de feijão.

Costa (8) observou que o feijão «baked beans» (*Phaseolus vulgaris*, L.) reduziu em 34% o colesterol sérico total de ratos hipercolesterolêmicos alimentados com uma dieta típica britânica, rica em lipídios saturados e suplementada com 1% de colesterol cristalino ou 0,2% de colesterol + 0,1% de ácido cólico. A redução foi mais acentuada nas lipoproteínas aterogênicas (LDL).

Estudos preliminares, realizados em nosso laboratório, demonstraram o potencial dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo em ratos hipercolesterolêmicos. O feijão preto reduziu em 16%, seguindo-se do vermelho 12% e do carioquinha 11%.

Os componentes atribuídos às leguminosas como responsáveis pelo seu efeito hipocolesterolemizante são proteína vegetal, fibra solúvel, saponinas, esteróis de plantas, polifenóis e isoflavonas (8). Alguns desses compostos podem estar reduzidos ou concentrados com a retirada da casca do feijão em certas preparações culinárias, afetando a propriedade do feijão de reduzir o colesterol sanguíneo.

O presente trabalho visou investigar o efeito da retirada da casca do feijão preto na redução do colesterol sanguíneo em ratos hipercolesterolêmicos. Selecionou-se o feijão preto, pois este foi o que mais reduziu o colesterol sanguíneo em nossos estudos prévios.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparo do feijão

Utilizou-se o feijão preto adquirido no comércio local da cidade de Viçosa, Minas Gerais. O feijão foi dividido em dois lotes. Um deles foi preparado integralmente, sendo cozido em panela de pressão de uso doméstico durante 1 hora. O outro lote foi imerso em água destilada durante uma hora, sob refrigeração a  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , para facilitar o descasque manual para obtenção do feijão sem casca. Em seguida, procedeu-se à cocção em panela de pressão de uso doméstico durante 40 minutos. Ambos os lotes foram secos, junto com o caldo, em estufa com circulação de ar (Fanem, modelo 320-SE) a uma temperatura de  $60^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, para proceder a sua moagem.

Após o preparo, determinaram-se os teores de umidade (9), cinzas, lipídios totais, proteína (10) e fibra: NDF - fibra detergente neutro (11), ADF - fibra detergente ácido (12) e

fibra solúvel (13); o carboidrato foi determinado por diferença.

### Preparo das dietas experimentais

As dietas experimentais foram preparadas de modo a apresentarem teores de lipídios, proteínas, carboidratos e relação P/S (ácidos graxos poliinsaturados/saturados) semelhantes aos dos pacientes hipercolesterolêmicos de Viçosa, Minas Gerais (14). Planejou-se, portanto, um teor de 15,5% de energia provenientes das proteínas, 52,5% dos carboidratos e 32% dos lipídios e relação P/S de 0,54. A composição das dietas está mostrada na Tabela 1. Nas dietas Controle, FPI e FPSC adicionou-se colesterol cristalino (Sigma, C8503) (1 g/100 g de dieta) e ácido cólico (Sigma, C1129) (0,1 g/100 g de dieta). Na dieta FPI adicionou-se feijão preto integral (30 g/100 g) e na dieta FPSC, feijão preto sem casca (25,7 g/100 g). As dietas Padrão e Controle foram acrescidas de celulose, como fonte de fibra alimentar, em proporção equivalente ao teor de fibra das dietas contendo feijão. A banha de porco e o óleo de soja foram adicionados como fonte de lipídios para obter a relação P/S indicada. As dietas à base de feijão tiveram suas composições ajustadas de modo a apresentarem teores de nutrientes semelhantes aos da dieta Padrão. A quantidade de feijão preto sem casca utilizada foi equivalente à de feijão preto com casca, ou seja, 25,7 g de feijão sem casca equivalentes a 30 g de feijão integral. A adição de colesterol e de ácido cólico fez-se necessária para a produção de hipercolesterolemia nos ratos.

TABELA 1

Composição das dietas experimentais (g/100 g da mistura)

Ingredientes	Dietas			
	Padrão	Controle	FPI <sup>1</sup>	FPSC <sup>2</sup>
Caseína	20,0	20,0	11,2	13,3
Oleo de soja	3,9	3,8	3,3	3,2
Banha de porco	10,9	10,8	10,6	10,6
Feijão preto integral	-	-	30,0	-
Feijão preto sem casca	-	-	-	25,7
Amido de milho	53,5	52,7	39,1	41,2
Colesterol cristalino	-	1,0	1,0	1,0
Acido cólico	-	0,1	0,1	0,1
Celulose	7,0	7,0	-	1,8
Cloreto de colina	0,2	0,2	0,2	0,2
Mistura salina <sup>3</sup>	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica <sup>3</sup>	1,0	1,0	1,0	1,0

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

3. Fonte: American Institute of Nutrition (15).

<sup>3</sup> Todas as dietas foram adicionadas de misturas de vitaminas e minerais, segundo AIN-76 (15). As dietas foram preparadas, passando-se todos os ingredientes em peneira por três vezes, misturando previamente o colesterol e o ácido cólico ao óleo de soja e derretendo a banha em fogo brando.

As dietas foram analisadas quanto aos teores de umidade (9), cinzas, lipídios totais e proteína (10); o carboidrato foi determinado por diferença, considerando-se o teor de fibra analisado previamente do feijão.

### Ensaio biológico

Utilizaram-se 32 ratos, machos, da linhagem Wistar, com peso médio inicial de aproximadamente 200 g, os quais foram mantidos em gaiolas individuais em ambiente com temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro-escuro de 12 horas. Os animais foram divididos em quatro grupos de oito ratos distribuídos entre os grupos experimentais (Padrão, Controle, FPI e FPSC), de modo que a média dos pesos entre eles fosse a mais próxima possível.

As dietas experimentais e água destilada foram oferecidas ad libitum por 28 dias. Os pesos dos animais, assim como a ingestão alimentar, foram monitorados semanalmente. Determinou-se o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), que relaciona o ganho de peso (g) pelo consumo alimentar (g).

Do 21º ao 27º dias do experimento, as fezes foram coletadas em sua totalidade. Para isso, as dietas foram marcadas com corante carmim (200 mg/100 g de dieta) a fim de identificar o início e o final do período de coleta. As fezes foram acondicionadas em recipientes individuais para cada rato e mantidas sob refrigeração. Após o período de colheita, as fezes foram limpas, pesadas e secas em estufa com circulação de ar (Fanem, modelo 320-SE) a  $105^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, e pesadas novamente para determinação do peso úmido e seco; depois, foram moídas em multiprocessador de alimentos doméstico (ELO'S Arno, Modelo AMT48B) e congeladas a  $-18^{\circ}\text{C}$ , para análises posteriores.

No final do experimento, os ratos foram anestesiados com éter etílico em dessecador e submetidos a uma incisão das cavidades abdominal e torácica para retirada do fígado e coleta de sangue por punção cardíaca. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1.500 rpm, por 15 minutos, para a retirada do soro, que foi guardado a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Os fígados retirados foram lavados em solução salina 0,9%, pesados e guardados a  $-18^{\circ}\text{C}$ , para análises posteriores.

### Colesterol sanguíneo total

A análise de colesterol foi feita com base na metodologia proposta por Allain et al. (16), com uso de Kit enzimático da marca Analisa (COD-ANA, cat. 260)

### HDL-colesterol

O HDL-colesterol foi determinado, seguindo-se a metodologia proposta por Warnick et al. (17). As lipoproteínas VLDL e LDL foram precipitadas pela ação do ácido fosfotungstênico em conjunto com sulfato de magnésio, deixando a fração HDL em suspensão. Após a centrifugação a 1.500 rpm por 15 minutos, o colesterol foi dosado no sobrenadante, utilizando-se o Kit para determinação do HDL, marca Analisa (COD-ANA, cat. 213).

### Triacilglicerol

Os triacilgliceróis foram determinados pelo método de Fossati e Prencipe (18), utilizando-se o Kit enzimático da marca Analisa (COD-ANA, cat. 259).

### Glicose

A determinação da glicose foi feita baseando-se na metodologia proposta por Lott e Turner (19), com uso do Kit enzimático da marca Bioclin (COD. GOD-CLIN, cat. K 022).

### Lipídios totais no fígado

Os lipídios totais foram analisados, seguindo-se a metodologia proposta pela AOAC (10). Os fígados foram previamente macerados em cadinho de porcelana e levados integralmente a cartucho de celulose, durante 8 horas em aparelho de Soxhlet, para desengordurar, usando-se como solvente o éter de petróleo (Synth-PA-ACS). A determinação dos lipídios foi feita pela diferença de peso dos balões antes e depois de os fígados serem desengordurados.

### Colesterol total no fígado

O colesterol total foi determinado após a extração do lipídio total. Ao balão com gordura adicionaram-se 30 ml de acetona (Merck) para dissolução. Em seguida, tomou-se o filtrado e concentrou-o até a metade do volume, refluxando-o com 50 ml de solução alcoólica de KOH 10% por 20 minutos. Após o resfriamento, o material refluxado foi transferido para um funil de decantação, lavando-se o balão com 60 ml de água destilada. Ao funil, adicionaram-se 30 ml de éter de petróleo (Synth-PA-ACS). Agitou-se o funil de decantação e, em seguida, ele foi deixado em repouso para decantar. Após a decantação, drenou-se a fase aquosa inferior, desprezando-a. Evaporou-se a fração etérea, ficando o colesterol retido no frasco. Acrescentaram-se 50 ml de ácido acético glacial (Merck), incubando-o a  $37^{\circ}\text{C}$  por 10 horas, para completa dissolução, em banho-maria. Após esse tempo, transferiu-se todo o material para balão volumétrico de 100 ml, completando o volume com ácido acético glacial. Foi retirado 0,05 ml da amostra, acrescentaram-se 2,5 ml do reagente de cor contendo anidro acético, ácido acético e ácido sulfúrico (Kit não-enzimático para determinação do colesterol, in vitro Diagnostica, CAT: 010) e agitou-se. Incubou-se a amostra a  $37^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos, e em seguida foram efetuadas as leituras fotométricas a 625 nm, num intervalo de 10 minutos.

### Nitrogênio total nas fezes

A análise de nitrogênio total foi feita pelo método semi-micro Kjeldhal, com amostras em triplicata, de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (10).

### Lipídios totais nas fezes

A determinação dos lipídios totais das fezes foi feita, baseado-se na metodologia proposta pela AOAC (10). As fezes previamente trituradas foram colocadas integralmente

em cartuchos de papel-filtro e desengorduradas em aparelho de Soxhlet por oito horas, usando-se como solvente éter de petróleo (Synth-PA-ACS).

### Colesterol total nas fezes

A análise de colesterol total nas fezes seguiu a mesma metodologia descrita anteriormente para análise de colesterol total no fígado.

### Análise estatística

Procedeu-se à análise de variância (ANOVA) para determinação do valor de "F". Para "F" significativo, utilizou-se o teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade para comparação entre as médias. A dispersão da média foi expressa, nas tabelas de resultados, como desvio-padrão da média.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Dietas e animais

A composição centesimal do feijão preto (integral e sem casca) está mostrada na Tabela 2. O ganho de peso dos animais e a quantidade de alimentos consumida não diferiram entre os grupos (Tabela 3), o que refletiu-se em médias estatisticamente semelhantes da percentagem de coeficiente de eficiência alimentar (CEA).

TABELA 2

Composição centesimal do feijão preto integral e sem casca (g/100 g)

Composição	Integral	Sem Casca
Proteína	19,51	22,17
Lípido	2,35	2,49
Carboidrato	46,30	48,35
Umidade	6,11	6,52
Cinzas	3,89	3,11
Fibra total <sup>1</sup>	21,84	17,36
Celulose	8,36	5,16
Hemicelulose	5,12	5,29
Lignina	3,69	1,48
ADF <sup>2</sup>	12,05	7,24
NDF <sup>3</sup>	17,17	12,53
Pectina total	4,67	4,83
Pectina solúvel	0,49	0,26
Protopectina	4,18	4,57

1. Fibra total = NDF + pectina total.

2. Fibra detergente ácido = celulose + lignina.

3. Fibra detergente neutro = celulose + hemicelulose + lignina.

### Colesterol sanguíneo total

Estudos feitos por Costa (8) demonstraram que 1% de colesterol mais 0,1% de ácido cólico adicionado à dieta foram eficazes em induzir hipercolesterolemia moderada em ratos. O presente estudo comprovou esse efeito, pois houve aumento

significativo de 58% do colesterol sérico dos ratos alimentados com a dieta Controle quando comparados com os alimentados com a dieta Padrão (Tabela 4).

TABELA 3

Ganho de peso (GP) e consumo alimentar dos ratos e percentagem do coeficiente de eficiência alimentar (CEA) das dietas experimentais (média ± desvio padrão)

Dietas	GP* (g)	Consumo Alimentar* (g)	CEA* (%)
Padrão	83,00±22,03	437,50±59,20	19,06 ±3,12
Controle	92,25±11,14	487,90±67,88	18,95±0,96
FPI <sup>1</sup>	82,50±13,15	471,90±50,69	17,44±1,55
FPSC <sup>2</sup>	89,62±18,28	473,00±44,67	18,81±2,48

\*As médias (dentro da mesma coluna) não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F (p<0,05).

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

TABELA 4

Colesterol total, HDL-colesterol, glicose e triacilgliceróis do soro sanguíneo (mg/dL) de ratos alimentados com dietas experimentais após 28 dias (média ± desvio padrão)

Dieta	Colesterol Total*	HDL -Colesterol*	Glicose**	Triglicéridios**
Padrão	75,79±9,46 <sup>a</sup>	57,63±6,58 <sup>a</sup>	167,30±63,34	73,21±24,30
Controle	119,48±3,76 <sup>b</sup>	58,64±9,90 <sup>a</sup>	122,76±32,84	51,10±11,06
FPI <sup>1</sup>	101,92±24,74 <sup>ab</sup>	30,47±11,51 <sup>b</sup>	137,15±41,96	55,42±20,99
FPSC <sup>2</sup>	77,20±14,43 <sup>a</sup>	37,43±10,70 <sup>b</sup>	143,46±43,83	53,77±12,90

\* As médias (dentro da mesma coluna) seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,005).

\*\* As médias (dentro da mesma coluna) não diferem estatisticamente entre si, pelo teste "F" (p< 0,05)

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

A adição de feijão preto integral (FPI) à dieta reduziu em 15% (NS-não-significativo) o colesterol sérico em relação ao grupo Controle, e a dieta de feijão sem casca (FPSC) o fez significativamente em 35% (p<0,05) (Tabela 4), embora não tenha havido diferença significativa entre o feijão integral e o sem casca.

Os mecanismos de ação hipocolesterolemia de feijão não são completamente entendidos, mas algumas hipóteses têm sido propostas, como as que atribuem o efeito às fibras solúveis, às saponinas e à proteína.

As proteínas das leguminosas podem exercer importante papel hipocolesterolemia, com base na sua composição aminoacídica (20). A eliminação de fatores antinutricionais presentes na casca, como os polifenóis, permite uma melhor utilização da proteína, porque aparentemente os polifenóis, durante o processo de aquecimento, reagem com as proteínas presentes no cotilédono, diminuindo a sua eficiência (21). A possível eliminação de fatores antinutricionais com a retirada

da casca do feijão pode ter favorecido uma maior absorção dos minerais relatados por possuir ação hipocolesterolemiantes, como o zinco (22), cobre (23) e cálcio (24), uma vez que tais fatores interferem negativamente na absorção desses minerais (25).

As fibras solúveis são também apontadas em diminuir o colesterol sanguíneo, mas, como se pode observar na Tabela 2, não existe diferença entre os níveis de pectina total entre os feijões. Portanto, esse componente não parece ter sido o maior responsável pelo efeito hipocolesterolemiantes do feijão neste estudo.

### HDL-colesterol

Pelos resultados obtidos para as dietas Padrão e Controle (Tabela 4), observa-se que os níveis de HDL-colesterol não foram alterados com a adição de colesterol e ácido cólico, apesar de o colesterol total ter sido significativamente maior na dieta Controle. Isso significa que o aumento do colesterol total se deu nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL e, ou, VLDL-colesterol). Entretanto, os níveis de HDL-colesterol foram reduzidos significativamente pelas dietas de feijão (FPI e FPSC), não havendo diferença entre o feijão com e o sem casca, porém a relação colesterol total/HDL-colesterol foi menor (2,06) na dieta de FPSC do que na de FPI (3,35).

Rigotti et al. (7) evidenciaram uma redução, porém não-significativa, do HDL-colesterol em ratos alimentados com dieta de feijão por 10 a 12 dias. Também, Shutler et al. (26) observaram redução nos níveis de HDL-colesterol em indivíduos consumindo 450 g de feijão «baked beans» por 14 dias. Ao contrário, dados obtidos por Costa (8), em um estudo com ratos, indicaram que o feijão aumentou o HDL-colesterol, apesar de ter diminuído o colesterol total e as lipoproteínas de baixa densidade. Em porcos, entretanto, os níveis de HDL-colesterol não foram afetados pelo feijão (3, 27).

Tal redução nos níveis de HDL não é desejável, visto que essas lipoproteínas estão associadas à redução do risco de doenças cardiovasculares, em razão do seu papel no transporte reverso de colesterol e, também, da inibição da deposição de LDL nas paredes da artéria (28).

### Glicose e triacilglicerol

Os níveis de triacilgliceróis não têm sido influenciados pelas proteínas, fibras ou saponinas presentes no feijão. Contudo, tem sido relatado que a redução da glicemia e o aumento da insulina (29), utilizando dietas com altos teores de fibra solúvel, podem diminuir a síntese de triacilgliceróis hepática. Apesar de as dietas de feijão serem ricas em fibras, não se verificou diferença entre os níveis de triacilgliceróis e glicose sanguínea entre os grupos experimentais neste estudo (Tabela 4).

### Peso dos fígados

A média de peso dos fígados dos ratos alimentados com as dietas experimentais após 28 dias está apresentada na Tabela

5. Os animais alimentados com a dieta Controle apresentaram média de peso superior ( $p < 0,05$ ) à dos animais alimentados com a dieta Padrão. Esse aumento do peso tem sido associado à deposição de lipídios (30), água (31), proteína (32) e glicogênio (30) no fígado.

TABELA 5

Peso úmido, lipídio total e colesterol total dos fígados de ratos alimentados com dietas experimentais após 28 dias (média  $\pm$  desvio padrão)

Dieta	Peso (g)	Lipídios (g/100g)	Colesterol Total (g/100g)
Padrão	9,46 $\pm$ 1,29 <sup>a</sup>	0,51 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	0,19 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>
Controle	15,33 $\pm$ 2,31 <sup>b</sup>	2,45 $\pm$ 1,14 <sup>b</sup>	0,40 $\pm$ 0,20 <sup>ab</sup>
FPI <sup>1</sup>	12,46 $\pm$ 1,62 <sup>c</sup>	2,85 $\pm$ 1,25 <sup>b</sup>	0,61 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>
FPSC <sup>2</sup>	12,36 $\pm$ 1,68 <sup>c</sup>	1,82 $\pm$ 0,73 <sup>b</sup>	0,28 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>

As médias (dentro da mesma coluna) seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

Os pesos dos fígados dos ratos com dietas de feijão (FPI e FPSC) mostraram-se significativamente reduzidos ( $p < 0,05$ ) em relação à dieta Controle, porém aumentados ( $p < 0,05$ ) em relação ao Padrão. Portanto, o aumento de peso do fígado causado pela adição de colesterol e ácido cólico na dieta foi parcialmente anulado pela presença de feijão, possivelmente devido a uma menor deposição de lipídios, água, proteína e, ou glicogênio no fígado.

### Lipídios e colesterol total no fígado

O consumo de colesterol e ácido cólico pelo grupo Controle levou ao aumento da deposição de lipídios no fígado dos ratos (Tabela 5), em relação ao grupo Padrão. Essa deposição de lipídios, especialmente do colesterol, tem sido extensivamente relatada na literatura (32-37). Em nosso estudo, a dieta Controle aumentou a deposição de colesterol, porém a níveis não significativos.

A adição de feijão não promoveu alteração significativa na deposição de lipídios e de colesterol nos fígados dos animais, em comparação com a dieta Controle, embora o peso dos fígados tenha sido significativamente menor (Tabela 5). Portanto, o feijão não previne a deposição de lipídios e colesterol no fígado de animais alimentados com dieta de colesterol e ácido cólico, mas pode reduzir a deposição de outros compostos, como água, proteína e glicogênio, resultando em menor peso do fígado.

### Peso das fezes

As médias de peso das fezes dos animais alimentados com dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 6. Não houve diferença significativa entre as médias de peso das fezes dos grupos.

TABELA 6

Peso úmido, nitrogênio, lipídios totais e colesterol total das fezes dos ratos alimentados com dietas experimentais (média  $\pm$  desvio padrão)

Dieta	Peso* (g)	Nitrogênio (g/100g)**	Lipídios Totais** (g/100 g)	Colesterol Total** (g/100 g)
Padrão	8,11 $\pm$ 0,84	1,60 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	5,23 $\pm$ 2,36 <sup>a</sup>	0,20 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
Controle	9,03 $\pm$ 1,41	1,77 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	9,76 $\pm$ 2,75 <sup>b</sup>	1,46 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>
FPI <sup>1</sup>	9,64 $\pm$ 1,02	3,54 $\pm$ 0,14 <sup>c</sup>	7,49 $\pm$ 4,21 <sup>b</sup>	2,16 $\pm$ 0,72 <sup>bc</sup>
FPSC <sup>2</sup>	8,83 $\pm$ 2,04	3,11 $\pm$ 0,33 <sup>d</sup>	8,45 $\pm$ 0,84 <sup>b</sup>	2,99 $\pm$ 0,83 <sup>c</sup>

\* As médias (dentro da mesma coluna) não diferem estatisticamente entre si, pelo teste "F" (p<0,05).

\*\*As médias (dentro da mesma coluna) seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

#### Nitrogênio total nas fezes

Observa-se na Tabela 6 aumento acentuado da excreção de N nas dietas de feijão (FPI e FPSC). Esse resultado pode ser devido à presença de fatores antinutricionais presentes no feijão, que são geralmente associados com partes fibrosas das plantas e podem ter efeito negativo na digestibilidade e utilização da proteína (38).

A dieta FPSC apresentou menor excreção de N (p<0,05) em relação à dieta de FPI. Isso pode ser atribuído ao fato de certos fatores antinutricionais, como os taninos, terem sido eliminados com a casca, pois segundo Bressani (39), 75% dos taninos são perdidos com a retirada da casca do feijão.

#### Lipídios totais e colesterol nas fezes

A adição de colesterol e ácido cólico às dietas resultou no aumento na excreção de lipídios totais e de colesterol pelas fezes em relação à dieta Padrão (Tabela 6).

A dieta de feijão sem casca (FPSC) promoveu perda significativa de colesterol pelas fezes, em relação à dieta Controle. Esse efeito pode ter sido o responsável pela redução do colesterol sanguíneo observada naquele grupo (Tabela 4). De acordo com Rigotti et al. (7), dietas de feijão possuem alguns componentes (como as fibras e saponinas) que induzem alta colesterogênese hepática e baixa esterificação do colesterol hepático, tendo como consequência uma elevada excreção de colesterol pelas fezes, com consequente redução do colesterol sanguíneo.

O aumento da excreção de colesterol pelas fezes pode ser também devido ao bloqueio da circulação êntero-hepática dos sais biliares e, ainda, à baixa absorção intestinal de colesterol promovida pelos esteróis das plantas (40), pela ligação do colesterol com fibra solúvel (41) e pela formação de complexos saponina-colesterol não absorvidos (42).

Em adição ao exposto, muitos estudos têm indicado que o

consumo de saponinas está associado com aumento na excreção fecal de ácidos biliares e esteróides neutros, graças à formação de complexo saponina-ácidos biliares (43, 44).

Possivelmente, a retirada da casca do feijão preto possibilitou a potencialização da ação de alguns desses componentes com propriedade hipocolesterolemiantes presentes nas leguminosas, devendo esta ser pesquisada mais detalhadamente em futuros experimentos.

## CONCLUSÃO

A adição de 1% de colesterol cristalino + 0,1% de ácido cólico às dietas foi eficaz em promover hipercolesterolemia nos ratos, sem grandes alterações hepáticas.

A dieta de feijão sem casca (FPSC) promoveu redução nos níveis de colesterol sanguíneo nos ratos, em relação à dieta Controle, assim como maior excreção de colesterol nas fezes. Isso sugere que o feijão preto sem casca promove uma maior eliminação do colesterol do organismo e o feijão integral, embora reduza o colesterol do sangue (NS), o conserva mais na circulação êntero-hepática.

Os componentes responsáveis pelo efeito hipocolesterolemiantes do feijão parecem estar localizados, em sua maioria, no interior do grão, sendo necessários mais estudos para a identificação desses compostos e para elucidar seus mecanismos de ação.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPEMIG e CNPq.

## REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial De Saúde-OMS. Prevention of coronary heart disease, report of a WHO Expert Committee. Geneva, 1982; p.53. (Technical report series, 678).
2. Anderson JW. Dietary fiber, lipids and atherosclerosis. Am J Cardiol, 1987; 60:17-22.
3. Shutler SM, Low AG. Influence of baked beans on plasma lipids in pigs fed on a hipercolesterolaemic diet. Proc Nutr Soc, 1988; 47:97A.
4. Jenkins DJ, Wong GS, Patten R, Bird J, Hall M, Buckley GC, McGuire V, Reichert R, Little JA. Leguminous seeds in the dietary management of hyperlipidemia. Am J Clin Nutr, 1983; 38:567-73.
5. Anderson JW, Story L, Sieling B, Chen WJL, Petro MS, Story JA. Hypocholesterolemic effect of oat-bran or bean intake for hypercholesterolemic men. Am J Clin Nutr, 1984; 40:1146-55.
6. Anderson JW, Gustafson NJ, Spencer DB, Tietjen J, Bryant CA. Serum lipid response of hypercholesterolemic men to single and divided doses of canned beans. Am J Clin Nutr, 1990; 51:1013-19.
7. Rigotti A, Marzolo MP, Ulloa N, Gonzáles O, Nervi F. Effect of bean intake on biliary lipid secretion and on hepatic cholesterol metabolism in the rat. J Lipid Res, 1989; 30:1041-47.

8. Costa NMB. Investigation into the cholesterol-lowering property of baked beans (*Phaseolus vulgaris*). Reading. 200p. Tese (PhD University of Reading), 1992.
9. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas, São Paulo, 1985. v.1.
10. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC. Washington, D.C., 1975; p.1094.
11. Mendez MHM, Derivi SCN, Rodrigues MCR, Fernandes ML. Método de fibra detergente neutro modificado para amostras ricas em amido. Ciênc Tecnol Alim, 1985; 5:123-31.
12. Van Soest PJ. Use detergents in the analysis of feeds. J Assoc Off Agric Chem, 1963; 46:825-9.
13. McCready RM, McComb EA. Extraction and determination of total pectic material in fruits. Anal Chem, 1952; 24:1986-8.
14. Berdague C, Nunes RM, Rosa COB; Costa NMB. Estudo da ingestão alimentar de indivíduos hipercolesterolêmicos da cidade de Viçosa, MG. Oikos, 1996; 9 (In press).
15. American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on standards for nutritional studies. J Nutr, 1977; 107:1340-8.
16. Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem, 1974; 20:470-5.
17. Warnick GR, Benderson J, Albers JJ. Dextran sulfate-Mg<sup>2+</sup> precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. Clin Chem, 1982; 28:1379-88.
18. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clin Chem, 1982; 28:2077-80.
19. Lott JA, Turner K. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. Clin Chem, 1975; 21:1754-60.
20. Kritchevsky D. Vegetable protein and atherosclerosis. J Am Oil Chem Soc, 1979; 56:135-40.
21. Stanley DW. A possible role for condensed tannins in bean hording. Food Res Int, 1992; 25:187-92.
22. Koo SI, Williams DA. Relationship between the nutritional status of zinc and cholesterol concentration of serum lipoproteins in adult male rats. Am J Clin Nutr, 1981; 34:2376-81.
23. Samman S, Roberts DCK. Dietary copper and cholesterol metabolism. Nutr Res, 1985; 5:1021-34.
24. Van der Meer R, De Vries H, West CE, De Waard H. Casein-induced hypercholesterolaemia in rabbits in calcium dependent. Atherosclerosis, 1985; 56:139-47.
25. Geil PB, Anderson JM. Nutrition and health implications of dry beans: A review. J Am Coll Nutr, 1994; 6:549-58.
26. Shutler SM, Bircher GM, Tredger JA, Morgan LM, Walker AF, Low AG. The effect of daily baked bean (*Phaseolus vulgaris*) consumption on the plasma lipid levels of young, normo-cholesterolaemic men. Brit J Nutr, 1989; 61:257-65.
27. Costa NMB, Low AG, Walker AF; Owen RW; Englyst HN. Effect of baked beans (*Phaseolus vulgaris*) on steroid metabolism and non-starch polysaccharide output of hypercholesterolaemic pigs with or without an ileo-rectal anastomosis. Brit J Nutr, 1994; 70:871-86.
28. Steinberg D. The rediscovery of high density lipoprotein: a negative risk factor in atherosclerosis. Eur J Clin Invest, 1978; 8:107-9.
29. Jenkins DJA, Wolever TMS, Taylor RH, Ghafari H, Jenkins AL, Barker H, Jenkins MJ. Rate of digestion of food and post prandial glycaemia in normal and diabetic subjects. Brit Med J, 1980; 281:14-17.
30. Meijer GW, Debruijne JJ, Beynen AC. Dietary cholesterol-fat type combinations and carbohydrate and lipid metabolism in rats and mice. Int J Vit Nutr Res, 1987; 57:319-26.
31. Ridout JH, Lucas CC, Patterson JM, Best CH. Changes in chemical composition during the development of cholesterol fatty livers. Biochem. J, 1954; 58:297-301.
32. Tawde S, Das BR. Studies in experimental hypercholesterolemia in rats. IV. Effect of dietary cholesterol on plasma and hepatic proteins of adult rats maintained on high fats diets. J Lab Clin Med, 1962; 60:284-90.
33. Story JA, Kritchevski D. Bile acid metabolism and fiber. Am J Clin Nutr, 1978; 31:5199-202.
34. Rönnemaa T. Effect of high cholesterol, olive oil diet on the lipids and connective tissue in rat liver. A biochemical study. Scand J Gastroenterol, 1976; 11:849-55.
35. Story JA, Baldino A, Czarnecki SK, Kritchevsky D. Modification of liver cholesterol accumulation by dietary fiber in rats. Nutr Rep Int, 1981; 24:1213-19.
36. Martins M, Dhoperhwarkar GA. Effect of high-cholesterol low-carbohydrate diet on serum and liver lipids in rats. Nutr Rep Intern, 1982; 25:921-9.
37. Beynen AC, Lemmens AG, Debruijne JJ. Interaction of dietary cholesterol with cholate in rats: effect on serum cholesterol, liver cholesterol and liver function. Nutr Rep Int, 1986; 34:557-63.
38. Eggum BO. The influence of dietary fibre on protein digestion and utilisation. In: Schweizer, TFE; Edwards, CA, editors. Dietary fibre - a component of food. Londres: Springer-verlag, 1992:153-65.
39. Bressani R. Revision sobre la calidad del grano de frijol. Arch. Latinoam Nutr, 1989; 39:419-42.
40. Lees AM, Mok HYI, Less RS, McCluskey MA, Grundy SM. Plant sterols as cholesterol-lowering agents: clinical trials in patients with hypercholesterolaemia and studies of sterol balance. Atherosclerosis, 1977; 28:325-38.
41. Kay RM. Effects of dietary fibre on serum lipid levels and faecal bile acid excretion. Can Med Assoc J, 1980; 123:1213-17.
42. Oakenfull D. Saponins in food. A review. Food Chem, 1981; 6:19-40.
43. Topping DL, Storer GB, Calvert GD, Illman RJ, Oakenfull DG, Weller RA. Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, plasma lipids and lipoprotein turnover in the pig. Am J Clin Nutr, 1980; 33:783-6.
44. Oakenfull DG, Fenwick DE, Hood RL, Topping DL, Illman RJ, Storer GB. Effects of saponins on bile acids and plasma lipids in the rat. Brit J Nutr, 1979; 42:209-16.

Recibido: 27-05-1997

Aceptado: 05-06-1998

## Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos

Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Renato M. Nunes, Paulo F. G. Leal

Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Brasil

**RESUMO.** O presente trabalho visou investigar o possível efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho, amplamente consumidos no Brasil, na redução do colesterol sanguíneo de ratos. Foram utilizados 5 grupos de 8 ratos, da linhagem Wistar, com peso inicial de 200g, os quais foram mantidos a 25°C e ciclo claro-escuro de 12 horas, por 28 dias. O grupo Padrão foi alimentado com uma dieta basal de caseína. A dieta do grupo Controle foi formulada acrescentando 1% de colesterol à dieta basal para produção de hipercolesterolemia nos ratos. Os demais grupos receberam dietas semelhantes ao grupo Controle, substituída, em base seca, por 30% de feijão preto (FP), vermelho (FV) ou carioquinha (FC). A adição de 1% colesterol promoveu elevação de 49% no colesterol sanguíneo dos ratos do grupo Controle, em relação ao Padrão. As dietas de feijão reduziram os níveis de colesterol sanguíneo (não-significativo), sendo que o feijão preto reduziu em 16%, o vermelho 12% e o carioquinha 11%, em relação ao grupo Controle. A adição de colesterol às dietas promoveu deposições de lípidios no fígado dos animais, mesmo naqueles que receberam dietas de feijão. É possível que a redução de colesterol no sangue seja acompanhada de sua maior retenção no fígado dos ratos.

**Palavras-chave:** Feijão, colesterol, rato.

**SUMMARY.** The cholesterol-lowering effect of black, carioquinha and red beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) in hypercholesterolemic rats. The propose of the present work was to investigate the cholesterol-lowering effect of black, carioquinha and red beans (*Phaseolus vulgaris*, L.), widely consumed in Brazil, in hypercholesterolemic rats. Five groups of 8 male rats, Wistar strain, initial body weight of 200g were kept at 25° in a light-dark cycle of 12h, for 28 days. The group Standard received a basal casein diet. Group Control was formulated by the addition of 1% cholesterol to the basal diet to produce hypercholesterolemia in the rats. The other groups received similar diets to the Control, substituted by 30% black (BB), carioquinha (CB) or red (RB) beans, on dry-weight. The addition of 1% cholesterol promoted an increase of 49% in the levels of total blood cholesterol on Control group, compared with the Standard. The bean diets reduced total blood cholesterol (non-significant): BB reduced 16%, RB 12% and CB 11%, in relation to the Control. The addition of cholesterol to the diets promoted lipid deposition in the rat livers, even in those fed the bean diets. It seems that the reduction of cholesterol in blood is followed by its retention in the rat livers.

**Key words:** Bean, cholesterol, rat.

### INTRODUÇÃO

Níveis altos de colesterol sanguíneo, particularmente a fração LDL-colesterol, têm sido associados ao risco de doenças cardiovasculares. Segundo a Organização Mundial da Saúde-OMS (1), estas constituem a maior causa de morte nos Estados Unidos da América e na maioria dos países da Europa Ocidental, e têm se manifestado um problema proeminente de saúde pública nos países em desenvolvimento.

A hipercolesterolemia pode ser revertida através do uso de medicamentos e, ou, pela dieta. Dentre os alimentos com propriedade hipocolesterolemiantes, destacam-se a aveia e as leguminosas. Os mecanismos pelos quais estes reduzem o colesterol sanguíneo não estão completamente elucidados, mas alguns de seus componentes, como a fibra solúvel, a proteína e as saponinas, têm sido apontados como os principais agentes responsáveis (2,3).

Costa (4) observou que o feijão «baked beans» (*Phaseolus*

*vulgaris*, L.), leguminosa popular na Inglaterra, reduziu os níveis de colesterol sanguíneo em ratos e porcos hipercolesterolêmicos, alimentados com uma dieta típica britânica rica em gorduras saturadas e suplementada com colesterol cristalino. A redução foi mais acentuada nas lipoproteínas aterogênicas (LDL). O feijão foi também apontado como eficiente na redução do colesterol em voluntários normocolesterolêmicos (5) e em pacientes hipercolesterolêmicos (6-8).

Berdague et al. (9), por meio de um estudo alimentar com voluntários hipercolesterolêmicos na cidade de Viçosa, Minas Gerais, constataram que o feijão faz parte do hábito alimentar diário desses indivíduos. Como no Brasil os feijões são largamente consumidos, os estudos realizados com variedades de uso corrente pela população são de relevante valor na prescrição dietética a indivíduos hipercolesterolêmicos.

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho sobre a redução do colesterol sanguíneo de ratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparo das dietas

Utilizaram-se três feijões comuns (*Phaseolus vulgaris*, L.), de cores preto, marron (carioquinha) e vermelho, os quais foram obtidos no comércio da cidade de Viçosa, Minas Gerais.

Os feijões foram limpos de suas impurezas e adicionados de água na proporção de 3:1. Em seguida, procedeu-se à cocção em panela de pressão durante uma hora e posteriormente, junto com o caldo, foram secos em estufa com circulação de ar (Fanem - Modelo 320-SE) a uma temperatura de 60°C, durante 24 horas, para proceder a sua moagem.

Os feijões foram analisados quanto aos teores de umidade (10), cinzas, lipídios totais, proteína (11) e fibra: NDF-fibra detergente neutro (12), ADF-fibra detergente ácido (13) e fibra solúvel (14); o carboidrato foi determinado por diferença.

As dietas experimentais foram preparadas de modo que apresentassem teores de carboidratos, lipídios, proteína e relação P/S (ácidos graxos poliinsaturados/saturados), à semelhança das dietas de indivíduos hipercolesterolêmicos de Viçosa, Minas Gerais, de acordo com o levantamento feito por Berdague et al. (9). Baseando-se nesse estudo, planejou-se um teor de 15,5% de energia provenientes das proteínas; 52,5% dos carboidratos e 32% dos lipídios e relação P/S de 0,54. A composição das dietas experimentais (Padrão, Controle, FP, FC e FV) é mostrada na Tabela 1. As dietas FP, FC e FV continham feijões preto, carioquinha e vermelho (30 g/100 g em base seca), respectivamente. Nas dietas Controle, FP, FC e FV, adicionou-se colesterol cristalino (Sigma, C8503) (1 g/100 g de dieta). As dietas Padrão e Controle foram acrescidas de celulose, como fonte de fibra alimentar, em uma proporção equivalente ao teor de fibra das dietas contendo feijão. A banha de porco foi adicionada como fonte de gordura saturada, para se obter a relação P/S igual a 0,54. As dietas à base de feijão tiveram suas composições ajustadas em função da adição de feijão, de modo a serem oferecidos teores de nutrientes semelhantes aos das dietas Padrão e Controle.

TABELA 1

Composição das dietas experimentais (g/100 g de mistura)

Ingredientes	Dietas				
	Padrão	Controle	FP	FC	FV
Caseína	19,3	19,1	11,0	11,2	12,2
Oleo de soja	3,8	3,8	3,4	3,7	3,6
Banha de porco	11,0	10,9	11,0	11,0	11,0
Feijão preto	-	-	30,0	-	-
Feijão carioquinha	-	-	-	30,0	-
Feijão vermelho	-	-	-	-	30,0
Amido de milho	54,9	54,4	39,2	38,6	37,8
Colesterol cristalino	-	1,0	1,0	1,0	1,0
Celulose	6,4	6,4	-	-	-
Cloreto de colina	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Mistura salina*	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica*	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

\*Fonte: American Institute of Nutrition (15)

A adição de colesterol às dietas fez-se necessária para a produção de hipercolesterolemia nos ratos. O grupo Padrão serviu como referência dos níveis basais de colesterol sanguíneo dos animais que não receberam dietas com adição de colesterol.

As dietas foram analisadas posteriormente quanto aos teores de umidade (10), cinzas, lipídios totais e proteína (11); carboidrato foi determinado por diferença, considerando-se os teores de fibra dos feijões.

### Ensaio biológico

Utilizaram-se 40 ratos machos, da linhagem Wistar, com peso inicial aproximado de 200 g, mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura controlada (25 ± 2°C) e ciclo claro-escuro de 12 horas. Os animais foram divididos em cinco grupos de oito ratos (Padrão, Controle, FP, FC e FV), de modo que a média dos pesos entre eles fosse a mais próxima possível.

As dietas experimentais e água destilada foram oferecidas *ad libitum* por 28 dias. Os pesos dos animais, assim como a ingestão alimentar, foram monitorados semanalmente, para o cálculo do ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA), onde:

$$CEA = \frac{\text{ganho de peso (g)}}{\text{consumo alimentar (g)}}$$

No final do experimento, os ratos foram anestesiados com éter etílico em dessecador e submetidos a incisão das cavidades torácica e abdominal para a coleta de sangue por punção cardíaca e para retirada do fígado. Este foi lavado em solução salina a 0,9%, pesado e depois estocado a -18°C, para posterior análise.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 1.500 rpm por 15 minutos, para a retirada do soro, o que foi guardado a -18°C para posterior análise.

### Colesterol sanguíneo total

A análise de colesterol do soro dos animais foi feita com base na metodologia proposta por Allain et al. (16), mediante o uso de Kit enzimático da marca Analisa (COD-ANA, cat. 260).

### Lipídios totais do fígado

Os lipídios totais foram analisados, seguindo-se a metodologia proposta pela AOAC (11). Os fígados foram previamente macerados em cadinho de porcelana, e uma amostra de aproximadamente 5 g foi levada em cartucho de celulose para desengordurar em aparelho de Soxhlet, por oito horas, usando-se o éter de petróleo (Synth-PA-ACS) como solvente.

### Análise estatística

Procedeu-se à análise de variância (ANOVA) para determinação do valor de "F". Para "F" significativo, utilizou-

se o teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade para comparação entre as médias. A dispersão da média foi expressa, nas tabelas de resultados, como desvio padrão da média.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Dietas e animais

A composição centesimal dos feijões preto, carioquinha e vermelho encontra-se na Tabela 2. Os resultados dessa análise serviram de base para o cálculo das dietas experimentais usadas no ensaio biológico.

TABELA 2

Composição dos feijões preto, carioquinha e vermelho (g/100 g)

Composição	Feijão		
	Preto	Carioquinha	Vermelho
Proteína	21,01	21,83	19,49
Lipídio	0,60	0,42	0,56
Carboidrato	44,60	45,18	44,39
Umidade	7,11	5,85	5,86
Cinzas	3,60	3,36	3,36
Fibra total <sup>1</sup>	23,08	23,36	26,34
Celulose	10,33	6,50	10,09
Hemicelulose	4,10	4,23	8,53
Lignina	2,88	6,45	1,72
ADF <sup>2</sup>	13,21	12,95	11,81
NDF <sup>3</sup>	17,31	17,18	20,39
Pectina total	5,77	6,18	5,95
Pectina solúvel	0,94	0,84	0,68
Protopectina	4,83	5,34	5,27

1 = fibra total = NDF + pectina total.

2 = fibra detergente ácido = celulose + lignina.

3 = fibra detergente neutro = celulose + hemicelulose + lignina.

Não houve diferença significativa entre os grupos experimentais quanto ao ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) (Tabela 3). Em função da homogeneidade desses valores, atribui-se os efeitos observados nos parâmetros sanguíneos e no fígado dos animais às variáveis controladas no experimento, quais sejam, a adição de colesterol e de feijão às dietas.

### Colesterol sanguíneo total

O uso de ratos como modelo animal para estudos sobre o colesterol intensificou-se na década de 50, com o interesse crescente na etiologia da aterosclerose.

Ratos, no entanto, são resistentes em desenvolver hipercolesterolemia e aterosclerose em razão, possivelmente, do aumento na conversão de colesterol em ácidos biliares no fígado (17,18). Esses animais também tendem a acumular lipídios no fígado quando recebem dietas adicionadas de colesterol e, ou, ácido cólico. Para produzir hipercolesterolemia

nos ratos, suplementou-se a dieta com 1% de colesterol cristalino, com base no estudo feito por Costa (4); segundo a autora, a adição de colesterol nesse nível na dieta aumenta o colesterol plasmático sem promover grandes acúmulos de colesterol no fígado dos animais.

A adição de 1% de colesterol às dietas foi eficaz na produção de hipercolesterolemia nos ratos, como visto na dieta Controle, que obteve 49% de aumento nos níveis de colesterol sanguíneo em relação à dieta Padrão (Tabela 4).

TABELA 3

Ganho de peso, consumo alimentar dos ratos e % de coeficiente de eficiência alimentar (CEA) das dietas experimentais (média ± desvio padrão)

Dieta	Ganho de Peso (g)*	Consumo Alimentar (g)*	CEA (%)*
Padrão	103,37±33,04	451,06±55,96	22,56±5,34
Controle	117,50±16,70	479,96±43,14	24,46±2,45
FP <sup>1</sup>	103,25±7,92	449,63±24,17	23,01±2,00
FC <sup>2</sup>	110,12±12,02	436,67±47,81	25,26±1,49
FV <sup>3</sup>	106,87±14,50	434,35±29,93	24,52±1,76

\* As médias não diferem entre si, na mesma coluna, pelo teste «F» (p<0,05)

1. Dieta de feijão preto

2. Dieta de feijão carioquinha

3. Dieta de feijão vermelho

TABELA 4

Colesterol total do soro sanguíneo (mg/dL) de ratos alimentados com dietas experimentais (média ± desvio padrão)

Dietas	Colesterol Total
Padrão	114,74±18,42 <sup>a</sup>
Controle	170,80±32,05 <sup>b</sup>
FP <sup>1</sup>	143,06±23,12 <sup>ab</sup>
FC <sup>2</sup>	151,81±13,30 <sup>b</sup>
FV <sup>3</sup>	150,66 ±19,99 <sup>b</sup>

As médias seguidas de uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

1. Dieta de feijão preto

2. Dieta de feijão carioquinha

3. Dieta de feijão vermelho

A dieta que continha feijão preto (FP) reduziu o colesterol sanguíneo em 16% em relação à dieta Controle, seguida de 12% de redução com a dieta de feijão vermelho (FV) e 11% do feijão carioquinha (FC) (Tabela 4). Embora as médias dos grupos alimentados com dietas de feijão não tenham diferido estatisticamente do grupo Controle, é importante salientar que, segundo Anderson et al. (8), a redução de 1% nos níveis do colesterol sérico resulta em redução de 2% de risco de

doenças coronarianas.

Rigotti et al. (19) observaram que ratos alimentados com dietas de feijão por 10 a 12 dias tiveram teores de colesterol total no soro menores do que os animais controle.

Outros dados da literatura são concordantes em indicar o mesmo efeito hipocolesterolemiantes do feijão (4, 6, 8).

Os mecanismos pelos quais uma dieta rica em leguminosas pode influenciar os lipídios sanguíneos são vários. Um dos relatos refere a ação dos componentes protéicos das leguminosas, especialmente em relação à composição dos seus aminoácidos. Essa ação hipocolesterolemiantes da proteína pode ser devida também a compostos não protéicos ligados a ela, como os minerais zinco e cobre, que são encontrados em teores mais elevados nas leguminosas do que na caseína (20).

O efeito hipocolesterolemiantes do feijão pode ser também atribuído à presença de componentes solúveis não digeríveis como as saponinas (21). Essas substâncias reduzem a absorção de colesterol (22), aumentam a excreção de esteróis fecais (23) e aumentam também a secreção e saturação do colesterol biliar em ratos (24).

As fibras solúveis, presentes no feijão, também podem alterar o metabolismo do colesterol, ligando-se aos ácidos biliares e interferindo na formação de micelas e na circulação entero-hepática, o que afeta o "pool" de ácido biliar total. As bactérias presentes no cólon fermentam as fibras solúveis, formando ácidos graxos de cadeia curta, como o acetato, butirato e propionato, que são absorvidos no intestino e transportados pela veia porta afetando a síntese de colesterol hepático (25).

Os polifenóis, encontrados em maior concentração na casca de sementes mais coloridas (26), podem estar atuando em conjunto com outros compostos de ação hipocolesterolemiantes presentes no feijão.

### Peso dos fígados

O consumo de colesterol e, ou, ácido cólico na dieta resulta no aumento do peso dos fígados de ratos (4). Observou-se neste experimento (Tabela 5), que a média de peso dos fígados dos animais na dieta Controle foi superior ( $p < 0,05$ ) à do grupo Padrão. A presença de feijão nas dietas parece ter anulado o efeito da adição de colesterol, uma vez que os pesos dos fígados dos animais com as dietas FP, FC e FV foram estatisticamente semelhantes ao Padrão. Esse aumento do peso dos fígados observado com a dieta Controle pode ser atribuído à deposição de lipídios (27), água (28), proteína (29) e glicogênio (27) no fígado, o que pode, de alguma forma, ter sido prevenido pelo consumo dos feijões.

### Lipídios totais dos fígados

Observa-se, na Tabela 5, que a adição de 1% de colesterol nas dietas promoveu aumento do teor de lipídios nos fígados dos animais, em comparação com a dieta Padrão. Essa retenção é devida ao fato de os ratos tenderem a acumular lipídios no fígado quando recebem dieta rica em colesterol (4). No entanto,

a adição dos feijões preto, carioquinha e vermelho não promoveu alteração significativa na deposição de lipídios nos fígados dos animais, em comparação com a dieta Controle, embora o peso dos fígados dos animais com dietas de feijão tenha sido significativamente menor que os alimentados com a dieta Controle. Isso significa que a adição de feijão preveniu a deposição de outros compostos no fígado dos ratos, como água (28), proteína (29) e glicogênio (27), mas não de lipídios.

TABELA 5

Peso e teor de lipídios totais dos fígados dos ratos alimentados com dietas experimentais (média  $\pm$  desvio padrão)

Dietas	Peso do Fígado (g)	Lipídios Totais (g/100g)
Padrão	12,05 $\pm$ 1,88 <sup>a</sup>	1,59 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>
Controle	16,15 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>	4,62 $\pm$ 0,90 <sup>b</sup>
FP <sup>1</sup>	13,20 $\pm$ 0,89 <sup>a</sup>	5,33 $\pm$ 1,71 <sup>b</sup>
FC <sup>2</sup>	13,26 $\pm$ 1,53 <sup>a</sup>	5,14 $\pm$ 1,25 <sup>b</sup>
FV <sup>3</sup>	13,05 $\pm$ 0,88 <sup>a</sup>	4,43 $\pm$ 0,79 <sup>b</sup>

\* As médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

1. Dieta de feijão preto
2. Dieta de feijão carioquinha
3. Dieta de feijão vermelho

### CONCLUSÃO

A adição de 1% de colesterol às dietas Controle, FP, FV e FC promoveu hipercolesterolemia moderada nos ratos.

O feijão promoveu redução nos níveis de colesterol sanguíneo, em relação à dieta Controle, porém em níveis não significativos devido, possivelmente a variabilidade de resposta entre os animais do mesmo grupo experimental.

O feijão preto reduziu o colesterol sanguíneo em 16%, o vermelho 12% e o carioquinha 11%.

A adição de colesterol às dietas provocou deposição de lipídios no fígado dos animais, mesmo naqueles que receberam dietas de feijão. Portanto, é possível que a redução de colesterol sanguíneo nos ratos seja acompanhada de uma maior retenção de colesterol no fígado dos animais.

Outros estudos se fazem necessários para elucidar os mecanismos pelos quais o feijão reduz colesterol sanguíneo e avaliar a influência da pigmentação do feijão no seu efeito hipocolesterolemiantes.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPEMIG e CNPq e a contribuição das professoras Maria Heidi Mendez e Sandra Casa Nova Derivi, da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, pelas análises de fibra.

## REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial De Saúde-OMS. Prevention of coronary heart disease, report of a Who Expert Committee. Geneva, 1982; p.53 (Technical report series, 678).
2. Shutler SM, Walker AF, Low AG. The cholesterol lowering effects of legumes. I - Effects of the major nutrients. Hum Nutr: Food Sci Nutr, 1987a; 41:71-86.
3. Shutler SM, Walker AF, Low AG. The cholesterol lowering effects of legumes. II - Effects of fibre, sterols, saponins and isoflavons. Hum Nutr: Food Sci Nutr, 1987b; 41:87-102.
4. Costa NMB. Investigation into the cholesterol-lowering property of baked beans (*Phaseolus vulgaris*). Reading. 200p. Tese (PhD University of Reading), 1992.
5. Shutler SM, Bircher GM, Tredger JA, Morgan LM, Walker AF, Low AG. The effect of daily baked bean (*Phaseolus vulgaris*) consumption on the plasma lipid levels of young, normo-cholesterolaemic men. Brit J Nutr, 1989; 61:257-65.
6. Jenkins DJ, Wong GS, Patten R, Bird J, Hall M, Buckley GC, McGuire V, Reichert R, Little JA. Leguminous seeds in the dietary management of hyperlipidemia. Am J Clin Nutr, 1983; 38:567-73.
7. Anderson JW, Story L, Sieling B, Chen WJL, Petro MS, Story JA. Hypocholesterolemic effect of oat-bran or bean intake for hipercholesterolemic men. Am J Clin Nutr, 1984; 40:1146-55.
8. Anderson JW, Gustafson NJ, Spencer DB, Tietzen J, Bryant CA. Serum lipid response of hypercholesterolemic men to single and divided doses of canned beans. Am J Clin Nutr, 1990; 51:1013-19.
9. Berdague C, Nunes RM, Rosa COB, Costa NMB. Estudo da ingestão alimentar de indivíduos hipercolesterolêmicos da cidade de Viçosa, MG. OIKOS, 1996, 9. In press.
10. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas, São Paulo, 1985. v.1.
11. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC. Washington, D.C., 1975; p.1094.
12. Mendez MHM, Derivi SCN, Rodrigues MCR, Fernandes ML. Método de fibra detergente neutro modificado para amostras ricas em amido. Ciênc Tecnol Alim, 1985; 5:123-31.
13. Van Soest PJ. Use detergents in the analysis of feeds. J Ass Off Agric Chem, 1963; 46:825-9.
14. McCready RM, McComb EA. Extraction and determination of total pectic material in fruits. Anal Chem, 1952; 24:1986-8.
15. American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on standards for nutritional studies. J Nutr, 1977; 107:1340-8.
16. Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem, 1974; 20: 470-5.
17. Siperstein MD, Jayko ME, Chaikoff IL, Dauben WG. Nature of the metabolic products of C14 -cholesterol excreted in bile and feces. Proc Soc Exp Biol Med, 1952; 81:720-4.
18. Wilson JD The quantification of cholesterol excretion and degradation in the isotopic steady state in the rat: the influence of dietary cholesterol. J Lipid Res, 1964; 5:409-17.
19. Rigotti A, Marzolo MP, Ulloa N, Gonzales O, Nervi F. Effect of bean intake on biliary lipid secretion and on hepatic cholesterol metabolism in the rat. J Lipid Res, 1989;30:1041-7.
20. Allotta, EC, Samman, S, Roberts, DCK. The importance of the non-protein components of the diet in the plasma cholesterol response of rabbits to casein. Brit J Nutr, 1985, 54: 87-94.
21. Oakenfull D. Saponins in food. A review. Food Chem, 1981; 6:19-40.
22. Malinow MR, McLaughlin P, Kohler GO, Levingston AL. Prevention of elevated cholesterolaemia in monkeys by alfalfa saponins. Steroids, 1977; 29:105-10.
23. Topping DL, Storer GB, Calvert GD, Illman RJ, Oakenfull DG, Weller RA. Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, plasma lipids and lipoprotein turnover in the pig. Am J Clin Nutr, 1980; 33:783-6.
24. Ulloa N, Nervi F. Mechanisms and kinetic characteristics of the uncoupling by plant steroid of biliary cholesterol from bile salt output. Bioch Biophys Acta, 1985; 837:181-9.
25. Anderson JW, Chen WJL. Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. Am J Clin Nutr, 1979; 32:346-363.
26. Bressani R, de Mora RD, Flores R, Gomes-Brenes R. Evaluación de dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteína. Arch Latinoamer Nutr, 1991; 41:569-83.
27. Meijer GW, Debruijne JJ, Beynen AC. Dietary cholesterol-fat type combinations and carbohydrate and lipid metabolism in rats and mice. Int J Vitam Nutr Res, 1987; 57:319-26.
28. Ridout JH, Lucas CC, Patterson JM, Best CH. Changes in chemical composition during the development of cholesterol fatty livers. Biochem J, 1954; 58:297-301.
29. Tawde S, Das BR. Studies in experimental hypercholesterolemia in rats. IV. Effect of dietary cholesterol on plasma and hepatic proteins of adult rats maintained on high fats diets. J Lab Clin Med, 1962; 60:284-90.

Recibido: 27-05-1997

Aceptado: 05-06-1998

## Avaliação da qualidade nutricional da proteína da folha de mandioca combinada com a caseína pela reação de plasteína<sup>1</sup>

*Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Luiz Carlos Guedes de Miranda, George Henrique Kling de Moraes,  
Luciano Esteves Peluzio*

Departamento de Nutrição e Saúde. Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa, MG, Brasil

**RESUMO.** Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de obter um produto protéico e avaliar o seu valor biológico visando o consumo humano e/ou animal. Para isso foram utilizadas folhas de mandioca como matéria prima protéica não convencional. Produziu-se um isolado protéico dessas folhas liofilizado, desengordurado e despigmentado (IPFM). Esse foi misturado à caseína para hidrólise e ressíntese enzimática das proteínas (Reação de plasteína) e, assim, foram obtidos os produtos plasteínas precipitada (PP) e sobrenadante (PS). Os teores protéicos determinados foram de 64,39% na PS, 61,36% na PP e 51,97% no IPFM. Os resultados das determinações da atividade do inibidor de tripsina revelaram um decréscimo de 41% da atividade do inibidor na PP, sugerindo que o tratamento térmico empregado para a inativação da enzima pode ser suficiente para a inativação parcial do inibidor, ou ainda, sugerindo que a diluição com a caseína diminui o inibidor. Foi avaliada a composição aminoacídica dos produtos, mostrando resultados satisfatórios de acordo com os padrões estabelecidos. Os resultados obtidos neste trabalho permitiram as seguintes conclusões: - A utilização de fontes não convencionais deve ser estimulada, principalmente, quando as proteínas destas fontes não convencionais apresentam-se com um perfil aminoacídico que pode ser utilizado para a complementação do teor de aminoácidos, em alimentos com deficiência em aminoácidos essenciais; - Os produtos protéicos obtidos pela reação da plasteína apresentaram teores satisfatórios de proteína; perfis aminoacídicos compatíveis com as recomendações FAO/OMS/UNU (1985), havendo complementação dos aminoácidos entre as duas fontes utilizadas; - A reação de plasteína pode ainda ser utilizada no processamento de alimentos, caso o processo seja adaptado e controlado em escala industrial. Uma destas utilizações seria, a eliminação de componentes responsáveis pelo sabor amargo e odor estranho de determinados produtos. Uma outra utilização, seria na descoloração de produtos à base de proteína.

**Palavras-chave:** Plasteína, folha de mandioca, proteína modificada, perfil aminoacídico.

### INTRODUÇÃO

Fontes não convencionais de proteínas tanto para rações animais como para consumo humano têm sido estudadas visando obter alimentos de boa qualidade com maior acesso aos consumidores (1).

Uma das alternativas viáveis para obtenção de alimentos

**SUMMARY. Nutritional evaluation of protein quality of cassava leaf combined with casein by plastein reaction.** The present work was conducted to obtain a proteic product and to evaluate its biological value in order to be used for human and/or domestic animal consumption. Thus, it were used cassava leaves as a non conventional source of protein. It was produced a freeze-dried, fat-free and colourless proteic isolated from those leaves (CLPI). This was mixed with casein and after the mixture as enzymatically hydrolized and re-synthesised (Plastein reaction) to obtain a precipitated (PP) and a soluble plastein (SP) fractions. The protein contents observed were 64.39% (PS), 61.36% (PP) and 51.97% (CLPI). Trypsin inhibitor activities values showed a 41% reduction in the PP fraction suggesting that the heat treatment used to inactivated the enzyme also inactivated partially the inhibitor or the reduction was due to the casein dilution. The aminoacid composition of the frations obtained showed values close to the standards established. It can be concluded: - the utilization of non-conventional source should be stimulated when the proteins from thoses sources have an aminoacidic profile that allow them to be used as an amino acid supplementation in food with low level of essential amino acids; - the fractions obtained by the plastein reaction showed satisfactory protein contents and their amino acid profiles were comparable with the FAO/OMS/UNU (1985) recommendations; - the plastein reaction can be utilized in food processing, after industrial scale adaptation remove compounds responsible to bitter taste, fetidness and to discolour protein products.

**Key words:** Plastein, cassava leaves, modified protein, aminoacidic profile.

não convencionais é a utilização da reação da plasteína. Esta reação é um método enzimático utilizado para modificação de

1. Parte de tese apresentada ao Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, pelo primeiro autor, como exigência para obtenção do grau de Magister Scientiae em Agroquímica.

proteínas, com o qual se pode corrigir mediante suplementação o teor de aminoácidos limitantes em determinada proteína. Também, pode ser utilizada para melhorar os aspectos organolépticos como aroma e sabor de alimentos, aspectos estes que têm limitado a introdução e aceitação de novos alimentos (2).

A obtenção da plasteína é baseada no processo de alongamento das cadeias peptídicas a partir de hidrolisados parciais de proteína de diferentes origens. Desta forma possibilita a incorporação de aminoácidos esterificados às cadeias protéicas, para posterior síntese de proteínas com melhor valor nutricional denominadas plasteínas. Resumidamente, a metodologia envolve extração e hidrólise enzimática parcial de proteínas de origens diferentes para posterior ressíntese ou alongamento do hidrolisado (3).

Jham et alii (4) observaram que é possível substituir até 6,5% do teor de nitrogênio fornecido pela farinha de soja por um concentrado protéico de folhas de mandioca sem alterar o desempenho de pintos de corte até os 21 dias de idade. Ravindran e Ravindran (5), analisando a composição nutricional da folha de mandioca, notaram variações quando as folhas eram separadas de acordo com o estágio de maturidade. A análise dos teores de aminoácidos revelou que as folhas de mandioca são ricas na maioria dos aminoácidos essenciais, com exceção da metionina e fenilalanina. Após maturação foliar, houve uma tendência de diminuir a concentração destes aminoácidos.

Rosas-Romero e Baratta (6) demonstraram que o concentrado protéico de folha de mandioca reduziu o peso corporal de ratos quando utilizado puro na dieta. Utilizando a reação de plasteína (caseína e proteínas da folha de mandioca) para melhorar a qualidade das proteínas foliares da mandioca, foi observado um aumento no conteúdo de proteína de 47 para 90%, e valores de quociente de eficiência protéica (PER) e quociente de eficiência líquida protéica (NPR) similares aos observados com dieta controle à base de caseína.

Sheen (7), comparando propriedades funcionais e químicas de concentrados protéicos de folhas de alfafa, soja, beterraba e tabaco, verificou haver vantagens no uso de proteínas vegetais na alimentação humana e, ainda, permitindo o total aproveitamento da biomassa vegetal num processo viável economicamente. Nas folhas de alfafa, além do teor adequado de proteínas, encontra-se ainda um resíduo fibroso que auxilia na digestão. A mesma utilização se aplica às folhas de beterraba e soja que, como as folhas de alfafa, são, em geral, utilizadas apenas como adubo orgânico (7).

O presente trabalho utilizou a reação da plasteína para modificar as proteínas da folha da mandioca com caseína para a obtenção de um produto protéico e avaliá-lo nutricionalmente para fins de utilização como insumo alimentar.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção do isolado protéico da folha de mandioca

Foram colhidas, aleatoriamente, folhas das plantas nas regiões basal, mediana e apical com pecíolo e, em seguida, acondicionadas em sacos plásticos para transporte. Imediatamente após, em laboratório, as folhas foram lavadas, retirados os pecíolos, limbos foliares picados e colocados em copo de liquidificador com água destilada na proporção de 1:10 (p/v) para trituração por cinco minutos. A parte fibrosa foi separada por coagem em dessorador de *nylon* e descartada. Do volume final obtido do filtrado, foi adicionado 30% de etanol para precipitação das proteínas. Em seguida, o material foi centrifugado por quinze minutos, a 10.240 x g. O precipitado foi separado, congelado e liofilizado. O rendimento de proteína a partir de folhas de mandioca foi de 0,70%.

Para despigmentação e desengorduramento, o precipitado liofilizado foi acondicionado em aparelho de Soxhlet, onde foi submetido a lavagem com acetona/álcool na proporção de 1:1, por oito horas. Após, o material foi triturado em moinho para homogeneização do isolado protéico de folha de mandioca (IPMF) e acondicionado em frasco próprio para posterior hidrólise enzimática.

### Hidrólise e ressíntese de proteínas

O IPMF foi misturado com caseína na proporção de 1:1 e dissolvidos em solução tampão fosfato de sódio, pH 7,5, na proporção de 1:10. Em seguida foi adicionado pancreatina a 4% do substrato (8). A hidrólise foi conduzida sob agitação à 37°C, por seis horas e, após, aquecido em banho-maria a 75°C por dez minutos para completa inativação da enzima. Após resfriamento, foi feita centrifugação à 10.240 x g por quinze minutos. O sobrenadante foi congelado e liofilizado para posterior utilização no processo de ressíntese. O precipitado foi descartado.

O material sobrenadante liofilizado foi dissolvido em solução a 40% (p/v em relação ao hidrolisado) de tampão fosfato de sódio, pH 5,5. Em seguida, foi adicionado 2% de pancreatina (p/v em relação ao substrato). A mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente sem agitação por 24 horas. Após este período, a mistura protéica foi precipitada com solução hidroalcoólica a 30% e, em seguida, centrifugada por quinze minutos a 10.240 x g.

O sobrenadante e o precipitado, foram congelados e liofilizados, obtendo-se assim a plasteína precipitada (PP) e a plasteína sobrenadante (PS) de acordo com metodologia descrita por Yamashita et alii (9).

### Determinação dos teores de proteína

Foram determinados os teores protéicos do IPMF, PP e PS pelo método semi-micro de Kjeldahl, com três repetições, conforme metodologia descrita no A.O.A.C. (10).

### Dosagem de inibidor de tripsina

Foram determinadas as atividades dos inibidores de tripsina no IPMF e nas frações PP e PS pelo método de Kakade et alii (11).

**Análise de aminoácidos**

Os aminoácidos foram dosados em analisador automático de aminoácidos, Perkin-Elmer, Mod. 034, a partir dos hidrolisados obtidos por hidrólise ácida, segundo técnica recomendada por Spackman et alii (12).

**Determinação de triptofano**

Foram determinados os teores de triptofano no IPMF, PP e PS utilizando-se o método de Villegas & Mertz (13).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os teores protéicos observados no IPMF, PP, PS e caseína e os resultados da atividade de inibidor de tripsina estão na Tabela 1.

TABELA 1

Teores protéicos e atividades de inibidor de tripsina (TUI)

	Caseína	IPFM <sup>1</sup>	PP <sup>2</sup>	PS <sup>3</sup>
Teor protéico (%)	76,05	51,97	61,36	64,39
TUI <sup>4</sup>	—	93,70	55,30	86,10

1. Isolado protéico da folha de mandioca
2. Plasteína precipitada
3. Plasteína sobrenadante.
4. Unidade de inibidor de tripsina

A avaliação do IPMF obtida no presente trabalho pela análise química mostrou um rendimento protéico de 51,97%, resultado comparável aos obtidos por Chaves (14). As folhas e a parte superior da planta (folhas + talo) apresentaram conteúdo protéico significativamente mais alto que o caule (14).

A aplicação da reação da plasteína no IPMF combinado com caseína, resultou em uma PS com 64,39% de proteína e uma PP com 61,36% de proteína. Estes resultados não são totalmente concordantes com os obtidos por Miranda et alii (15) que ao trabalharem com isolado protéico de soja e caseína utilizando, também, pancreatina como enzima hidrolítica e de ressíntese, obtiveram maior rendimento na PP (71,17%) e menor na PS (63,70%). O isolado obtido com folha de mandioca apresentou menor capacidade de ressolubilização e, portanto, ficou com teor protéico mais alto na PS pela predominância de pequenos peptídeos não combinados. Estes resultados concordam com os de Forato (16), que também obteve maior rendimento protéico para PS do que para PP.

Os resultados da atividade do inibidor de tripsina foram reduzidos após a reação de plasteína em 41,0% na PP em relação ao IPMF. Por outro lado, na PS, a redução da atividade do mesmo inibidor foi de apenas 8%. Rosas-Romero (6), comparando a composição do concentrado protéico da folha da mandioca e de uma plasteína obtida destas mesmas folhas, observou após a reação da plasteína, um aumento de 90% na

concentração da proteína, redução significativa no conteúdo de tanino, completa eliminação do HCN e diminuição na atividade do inibidor de tripsina, ficando essa atividade em nível de detecção bem abaixo do máximo aceitável em proteínas originárias de folhas.

A Tabela 2 mostra a composição aminoacídica do IPMF, PP e PS, bem como da proteína padrão caseína.

TABELA 2

Composição aminoacídica (mg %) da caseína, isolado protéico da folha de mandioca (IPMF), plasteína precipitada (PP) e plasteína sobrenadante (PS)

Aminoácidos	Caseína	IPMF	PP	PS
Arginina	—	3,57	2,45	2,52
Lisina	6,99	3,10	3,98	3,30
Histidina	2,46	1,14	1,22	1,30
Acido glutâmico	18,87	5,62	10,21	9,35
Acido aspártico	6,16	5,10	3,94	4,10
Fenilalanina	4,50	3,10	2,23	2,97
Tirosina	4,95	2,44	1,80	7,56
Triptofano	1,00 <sup>1</sup>	0,04	0,31	0,43
Treonina	3,67	2,51	2,21	2,25
Serina	5,10	2,54	3,73	2,99
Alanina	2,61	3,15	1,72	1,96
Valina	5,67	3,96	4,02	4,10
Leucina	8,13	5,02	4,54	4,77
Isoleucina	4,30	2,42	2,42	2,51
Metionina	2,28	1,35	1,23	1,51
Prolina	9,55	3,14	5,23	4,45
Glicina	1,59	2,83	1,13	1,51

1. Valor obtido por Sgarbieri, (21)

Os resultados obtidos são comparáveis, com pequenas variações, aos encontrados por Miranda et alii (17), quando utilizaram hidrolisados enzimáticos de proteína de soja e caseína, para determinar o perfil aminoacídico destes hidrolisados. A partir dos hidrolisados obtidos prepararam plasteínas e verificaram a interação entre os hidrolisados através do acompanhamento do perfil em aminoácidos das plasteínas obtidas em relação aos hidrolisados de origem. Concluíram que as misturas de hidrolisados para obtenção de plasteínas devem ser calculadas de acordo com a constituição aminoacídica desejada para o produto.

No presente estudo foi utilizado uma mistura na proporção de 50/50 (caseína + IPMF) e evidenciamos um resultado em que o perfil aminoacídico das plasteínas se apresenta bem superior em quase todos os aminoácidos essenciais ao isolado protéico da folha da mandioca. Grande melhoria pode ser notada principalmente no valor do ácido glutâmico, com 60% de aumento em relação ao isolado, e na tirosina, obtendo-se um valor superior ao padrão caseína.

Na hidrólise de substratos comumente usados em formulações nutricionais, especialmente caseína, uma mistura

de exo e endopeptidases é frequentemente usado. Em geral, enzimas purificadas não provêm um perfil de peso molecular que é compatível com formulações, sem o uso de ultrafiltração. Soluções enzimáticas puras são limitadas em sua capacidade de hidrólise (18). Portanto, apesar da melhoria do perfil aminoacídico em grande parte dos aminiácidos, talvez esta seja a explicação para as diferenças nas misturas de PP e PS, em alguns casos inferiores a IPMF.

É sabido que as proteínas das folhas e da parte aérea da mandioca apresentam boa qualidade, ou seja, um bom perfil aminoacídico, com deficiência apenas de alguns sulfurados, principalmente de metionina mas com teores elevados de lisina.

Yeoh e Chew; Montaldo citados por Carvalho e Kato (1), compararam a composição em aminoácidos das folhas e da parte aérea da mandioca, capim elefante, capim guiné e soja, e registraram a superioridade da folha da mandioca com relação á maioria dos aminoácidos essenciais. O teor relativamente alto de lisina na folha de mandioca, possibilitou a formulação de dieta, nas quais a parte aérea da folha entra como suplementadora de aminoácidos dos cereais, visando á obtenção de melhor qualidade protéica.

O conteúdo de aminoácidos essenciais da alimentação deve seguir o padrão sugerido pelo INFORME FAO/OMS/UNU (19) que foi baseado nas necessidades de aminoácidos essenciais para crianças pré-escolares, devendo ser utilizado para avaliar também os outros grupos, excetuando-se crianças de menos de um ano de idade (20).

Na Tabela 3 foi comparado o perfil aminoacídico do isolado protéico da folha da mandioca e das plasteínas, com as recomendações em composição aminoacídica para lactente, pré-escolar, escolar e adulto (20).

TABELA 3

Comparação de distribuições recomendadas das necessidades de aminoácidos segundo a faixa etária com a composição de aminoácidos do isolado protéico da folha de mandioca (IPFM) e das plasteínas precipitada (PP) e do sobrenadante (PS)

Aminoácidos	Necessidades recomendadas (mg/g)*				Valores observados (mg/g)		
	Lactente	Pré-escolar	Escolar	Adulto	IPFM	PS	PP
Histidina	26	19	19	16	22	19	21
Isoleucina	46	28	28	13	47	38	41
Leucina	93	66	44	19	97	70	78
Lisina	66	58	44	16	60	62	63
Metionina + Cisteína	42	25	22	17	26	19	25
Fenilalanina + Tirosina	72	63	22	19	60	35	48
Treonina	43	34	28	9	48	34	37
Triptofano	17	11	9	5	0,86	7	5
Valina	55	35	25	13	76	62	67

\* Referência (19)

Observa-se que o perfil aminoacídico varia muito de acordo com a faixa etária, e que apesar do resultado indicar um

percentual maior de proteína na plasteína sobrenadante (64,39%); a plasteína precipitada com menor percentual protéico (61,36%) apresentou um perfil aminoacídico mais adequado á comparação, porém, o isolado protéico da folha da mandioca apresenta ainda melhor em composição de aminoácidos essenciais, em relação ás plasteínas. Talvez este resultado venha comprovar a necessidade de se obter uma melhor solubilização e, conseqüentemente, melhor aproveitamento do isolado protéico, mostrando-se necessário uma purificação mais sofisticada da proteína isolada.

Para as diferentes fases da vida as quantidades recomendadas são variáveis, e o perfil aminoacídico de referência é encontrado nas proteínas de boa qualidade, geralmente de origem animal. Entretanto, misturas de proteínas vegetais, muitas vezes atingem padrões aminoacídicos aceitáveis. Como é o caso das proteínas analisadas no presente estudo, que á exceção da metionina e fenilalanina, que continuaram como aminoácido limitante para o lactente e pré-escolares, todos os outros aminoácidos estão compatíveis com as recomendações, tanto no isolado protéico quanto nas plasteínas.

## REFERÊNCIAS

- Carvalho VD & Kato MSA. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. Informe Agropecuário, 1987;145: 23-7.
- Baldini VLS, Campos SDS, Srebernich SM. Sabor dos alimentos: os problemas e sua modificação. Campinas, Boletim do ITAL, 1983; 20: 249-60.
- Eriksen S & Fagerson IS. The plastein reaction and its applications: A review. J Food Sci, 1976;41: 490-3.
- Jham GN, Morales GHK & Campos LG. Preliminary nutritional evaluation of cassava leaf protein concentrate in young chicks. Arq Biol Technol, 1989;32: 703-8.
- Ravindran G & Ravindran V. Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) beaves during maturity. Food Chemistry, 1988;27: 299-309.
- Rosas-Romero A & Baratta C. Composition, functional properties, and biological evaluation of a plastein from cassava leaf protein. Plant Foods for Human Nutrition, 1987;37: 85-96.
- Sheen SJ. Comparison of chemical and functional properties of soluble leaf proteins from four plant species. J Agric Food Chem, 1991;39: 681-5.
- Fukushima D. Effect of physical and chemical processing factors on the redispersibility or dried soy milk proteins. Cereal Chem, 1970;47: 571-9.
- Yamashita M, Arai S, Matsuyama J, Gonda M, Kato H & Fujimaki M. Enzymatic modification of proteins in foodstuffs. Part III. Phenomenal survey on  $\alpha$  - chymotryptic plastein synthesis from peptic hydrolyzate of soy protein. Agr Biol Chem, 1970; 34: 1484-91.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists. Horwitz W. (ed), 40 th. Washington, D.C., 1984; 1141p.
- Kakade ML, Simons N & Liener IE. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the anti-triptic activity of soybean samples. Cereal Chem, 1969; 46: 518-27.
- Spackman DH, Stain WH & Moore S. Automatic recording

- apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Analyt Chem*, 1958;30: 1190-206.
13. Villegas E, Mertz ET. Chemical screening methods for maize protein quality arcymmit. *International Maize and Wheat Improvement Center Ras, Bull.* 1971.
  14. Chavez JG. Extrato protéico das folhas de mandioca. *Informe agropecuário*, 1987;145:47-52.
  15. Miranda LCG, Mendonça RCS & Albuquerque TTO. Síntese de plasteínas: caracterização de algumas propriedades nutricionais. *Revista Ceres*, 1991;38: 277-85.
  16. Forato ALSC. Caracterização Nutricional da Plasteína Obtida da Proteína da Soja e das Proteínas do Soro de Queijo. Viçosa, M.G., UFV, 1994; 52 p. (Tese M.S.)
  17. Miranda LCG, Albuquerque TTO & Mendonça RCS. Composição aminoacídica de hidrolisados de proteína de soja, caseína e de plasteínas de soja e caseína. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 15a, Caxambú, 1992. Anais... Caxambú, MG, SBQ, 1992. n.p.(suplemento 2)
  18. Martins MTS, Galeazzi MAM. Alergia alimentar: considerações sobre o uso de proteínas modificadas enzimaticamente. *Cadernos de debate*, 1996;4: 89-110.
  19. Informe de una reunión consultiva conjunta FAO/OMS/ONU de expertos. *Necesidades de energia y de proteínas*, Ginebra, 1985; 220 p.
  20. Vannuchi H, Menezes EW, Campana HO & Lajolo FM. Aplicações das recomendações nutricionais adaptadas à população brasileira. *Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, Editora Legis Suma Ltda, Ribeirão Preto, SP, 1990, 156p.
  21. Sgarbieri VC. Alimentação e Nutrição: fator de saúde e desenvolvimento. *Campinas*, Editora da Unicamp, São Paulo, 1987, 387p.

Recibido: 02-07-1997

Aceptado: 18-08-1998

## Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido (*Opuntia ficus indica*) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteína y glucosa en sangre de ratas

María Luisa Cárdenas Medellín, Sergio O. Serna Saldívar, Jesús Velazco de la Garza

Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Monterrey, México

**RESUMEN.** El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del consumo de nopal en el crecimiento y en el perfil del colesterol total, lipoproteínas y glucosa en la sangre de ratas de laboratorio. El nopal (*Opuntia ficus indica*) es una cactácea alta en fibra dietética soluble e insoluble que ha sido utilizada como alimento autóctono de la población mexicana desde tiempos prehispánicos. Se evaluaron dos diferentes concentraciones (aproximadamente 6 y 12%) y dos presentaciones (crudo y cocido) de nopal deshidratado en el crecimiento y niveles sanguíneos de colesterol, lipoproteínas y glucosa con ratas de laboratorio. Muestras de nopal crudo y cocido fueron caracterizadas químicamente mediante el análisis de humedad, proteína, cenizas, fibra cruda, extracto etéreo, fibra dietética total, azúcares reductores, aminoácidos, minerales y energía bruta. El cocimiento del nopal afectó ligeramente algunos nutrientes analizados. Después de un mes de alimentación, muestras de sangre fueron tomadas mediante punción intracardiaca y analizadas para determinar contenido de glucosa, colesterol total, HDL, LDL y VLDL. Las ratas alimentadas con 12% de nopal tuvieron menores ganancias de peso ( $P < 0.05$ ) en comparación con contrapartes alimentadas con 6% de nopal. El consumo de nopal no afectó los niveles de glucosa, colesterol total y HDL. Sin embargo, las ratas alimentadas con 12% de nopal crudo tuvieron valores 34% menores de colesterol LDL; por lo tanto, se concluye que el nopal crudo tuvo un efecto benéfico en ratas de laboratorio.

**Palabras clave:** Nopal, colesterol total, lipoproteínas, glucosa sanguínea, fibra dietética.

**SUMMARY.** Effect of raw and cooked nopal (*Opuntia ficus indica*) ingestion on growth and total cholesterol, lipoproteins, and blood glucose in rats. Two different concentrations (aprox. 6 and 12%) and two presentations (raw and cooked) of dehydrated nopal were fed to laboratory rats and growth and serum total cholesterol, lipoprotein profile and glucose determined. Samples of raw and cooked nopal were chemically characterized for moisture, protein, ash, crude fiber, ether extract, total dietary fiber, reducing sugars, amino acids, minerals and gross energy. Cooking slightly affected some of the nutrients analyzed. After one month feeding, blood was withdrawn via intracardiac puncture and serum glucose, total cholesterol, HDL, LDL, and VLDL were determined. Rats fed 12% nopal had lower weight gains ( $P < 0.05$ ) when compared with counterparts fed 6% nopal or the control diet. Consumption of nopal did not affect ( $P > 0.05$ ) glucose, total cholesterol and HDL cholesterol levels. However, rats fed raw nopal at the 12% concentration level had a 34% reduction in LDL cholesterol levels; thus, it was concluded that raw nopal had a potentially beneficial effect for hypercholesterolemic individuals.

**Key words:** Nopal, total cholesterol, lipoproteins, blood glucose, dietary fiber.

### INTRODUCCION

La principal causa de muerte en el mundo son los ataques al corazón y éstos están muy relacionados con altos niveles sanguíneos de colesterol total, lipoproteínas y glucosa. El nopal es una cactácea que contiene una elevada cantidad de fibra. Se ha utilizado como alimento y remedio desde tiempos prehispánicos en México. Muchas de sus propiedades hipoglucémicas e hipocolesterémicas se le atribuyen a los componentes de su fibra dietética. El uso popular del nopal como remedio contra la diabetes, muy extendido en México y en otras regiones donde crece este cultivo, ha intrigado desde hace varios años a médicos y farmacólogos. En México, los géneros preferidos para este fin son *Opuntia* y *Lophocereus*.

Las diversas recetas para disminuir los síntomas diabéticos incluyen desde tomar los tallos crudos de estas especies machacados en agua, hasta beber sus jugos o extractos. En tiempos modernos una forma práctica de usar este remedio es mediante la preparación de licuados de las pencas tiernas del nopal. Sin importar la forma en que se prepara el remedio, debe usarse diariamente hasta que los síntomas desaparezcan (1).

Tröwell (2,3) establece que la diabetes mellitus en adultos puede ser una de las enfermedades de la civilización relacionadas con la deficiencia de fibra dietética. Diversos estudios han demostrado que el metabolismo de carbohidratos es afectado por las fibras viscosas. La viscosidad, ocasionada por la fibra dietética soluble, parece retardar y reducir la absorción

de la glucosa sanguínea (4). Según Story y Kritchevski (5) la fibra dietética es hipocolesterémica en humanos y además incrementa la excreción fecal de sales biliares. Estas son eliminadas por el ciclo enterohepático y deben ser sintetizadas de novo en el hígado a partir de colesterol. Si las pérdidas de colesterol no son compensadas por la nueva síntesis, sus niveles en el suero pueden reducirse. La absorción reducida del colesterol en alimentos con alto contenido de fibra fue previamente tratado por Anderson y Chen (6). La fibra actúa como una barrera física y acelera los movimientos intestinales ocasionando una reducción en la absorción. También puede ligar al colesterol propiciando una mayor excreción fecal. La excreción del colesterol y sus metabolitos se incrementa después del consumo de alimentos ricos en fibra dietética. Además ha sido postulado que las fibras dietéticas pueden ejercer su influencia en los lípidos del plasma a través de una reducción en los niveles de glucosa e insulina post-prandial (7,8). Se ha reportado que la insulina incrementa la biosíntesis del colesterol y de las lipoproteínas de muy baja densidad o VLDL. Una disminución en la concentración de insulina puede reducir la síntesis de lípidos del plasma.

Los objetivos de este trabajo de investigación fueron: 1) hacer una caracterización química-nutricional del nopal y 2) evaluar el efecto del consumo de una dieta rica en nopal en el crecimiento y en el perfil del colesterol total, lipoproteínas y glucosa sanguínea utilizando ratas de laboratorio como modelos experimentales.

## METODOLOGIA

**Preparación del Nopal.** El nopal (*Opuntia ficus indica*) procedió de la región de Cd. Victoria, Tamps., México. Primeramente se le retiraron las espinas y se picó en cuadros de 1 cm<sup>2</sup> aproximadamente. En seguida el nopal se dividió en dos lotes: uno crudo, mientras que el otro se coció en una marmita de acero inoxidable con agua en ebullición (100°C) por 15 min para después escurrir el exceso de agua. Posteriormente se efectuó el secado de ambos lotes mediante aire forzado con un horno Electrolux® (55°C durante 24 hrs). Finalmente se efectuó la molienda de ambos lotes en una licuadora de laboratorio para obtener un polvo de nopal seco.

**Análisis químicos.** A los dos tipos de nopal se les determinó humedad, proteína, cenizas, fibra cruda y fibra dietética siguiendo los procedimientos 925.10, 978.02, 923.03, 962.09 y 985.29 establecidos por la AOAC (9).

**Determinación de extracto etéreo:** se obtuvo mediante la extracción de la muestra con éter de petróleo por 8 hrs en un aparato de extracción Goldfish.

**Determinación de azúcares reductores:** se determinó utilizando el método de Somogyi-Nelson (10).

**Determinación de aminoácidos (AA):** se realizó con un aparato de cromatografía líquida Beckman 7300 con una columna de separación de intercambio iónico de sodio y tres

buffers sódicos de diferentes pH's. Después de la separación, los AA se derivatizaron con ninhidrina y se detectaron por absorbancia a 570 y 440 nm. El sistema de software Beckman Gold se usó para calcular la cantidad de cada AA en la muestra, mediante la comparación con la concentración conocida de una mezcla estándar calibradora. Con el contenido de aminoácidos se calculó el valor químico (VQ) del nopal utilizando la siguiente ecuación.

$$VQ = \frac{\text{g aminoácido esencial/100 g proteína de nopal}}{\text{requerimiento del aminoácido esencial de un niño expresado en g/100g de proteína}} \times 100$$

Este cálculo se realizó para todos los AA esenciales y el menor valor resultante fue denominado VQ de la proteína.

**Determinación de minerales:** el calcio, fósforo, magnesio, hierro, zinc y cobre del nopal fueron analizados después de la digestión de muestras con ácido nítrico y perclórico. Los minerales, a excepción del fósforo, fueron cuantificados por espectrometría de absorción atómica (11). Para los análisis de calcio y magnesio los hidrolizados fueron diluidos con 2% de solución de cloruro de lantano. El fósforo se determinó después de reaccionar con molibdato y ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico y se cuantificó con un espectrofotómetro (12).

**Determinación de energía bruta:** se determinó utilizando una bomba adiabática, siguiendo el método sugerido por Raymond et al. (13).

### Tratamientos experimentales y formulación de dietas.

El experimento consistió de seis diferentes tratamientos; cada uno representado por un tipo de dieta que se utilizó como alimento para las ratas durante el período de experimentación. Las dietas fueron isocalóricas e isoproteicas, con el mismo contenido de grasa animal y vegetal, azúcar, minerales, vitaminas y colesterol. Los factores que originaron los tratamientos fueron el proceso del nopal y el nivel incluido en las dietas. Los tratamientos experimentales se compararon con una dieta sintética (tratamiento 1) elaborada con almidón, celulosa y caseína (Tabla 1). Las dietas fueron balanceadas para conferir la misma cantidad de fibra dietética; éstas contenían el equivalente a la cantidad diaria recomendada para humanos en la concentración alta (tratamientos II, IV y VI), y el equivalente a la mitad en la denominada concentración baja (tratamientos I, III y V).

**Animales y su alimentación:** 36 ratas albinas Sprague Dawley de 9 semanas de edad se utilizaron para este experimento. Se usaron 18 hembras y 18 machos con un peso inicial de 165g +/- 1.09. Las ratas fueron bloqueadas por peso y se asignaron aleatoriamente a 6 bloques de 6 animales cada uno. Las ratas se sometieron a un período de 4 días de adaptación donde se alimentaron con una dieta comercial (Nutricubos Purina<sup>MR</sup>). Las ratas se colocaron en jaulas individuales de acero inoxidable, en las que se les proporcionó alimento y agua *ad libitum*. El experimento tuvo una duración de 4 semanas.

TABLA 1

Composición de los tratamientos utilizados para alimentar a las ratas en el estudio de crecimiento y de propiedades hipocolesterémicas e hipoglucémicas del nopal

Nutriente	Tratamientos <sup>1</sup>					
	I	II	III	IV	V	VI
Colesterol <sup>2</sup> (%)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Celulosa base (%)	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Celulosa adicional (%)	2.50	5.00	—	—	—	—
Grasa animal (%)	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Aceite vegetal (%)	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Caseína (%)	17.37	17.37	16.86	16.35	16.87	16.36
Minerales <sup>3</sup> (%)	4.00	4.00	3.23	2.46	3.35	2.71
Vitaminas <sup>4</sup> (%)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Azúcar (%)	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Nopal crudo (%)	—	—	6.23	12.46	—	—
Nopal cocido (%)	—	—	—	—	6.03	12.06
Almidón (%)	36.88	34.38	34.54	29.70	34.57	29.76

<sup>1</sup> I=celulosa (2.5%); II=celulosa (5%); III=nopal crudo deshidratado (6.23%); IV=nopal crudo deshidratado (12.46%); V=nopal cocido deshidratado (6.03%); VI=nopal cocido deshidratado (12.06%).

<sup>2</sup> Equivalente a 1,000 mg de colesterol en una dieta humana.

<sup>3</sup> Mezcla mineral AIN 76 (g/Kg), 500 fosfato cálcico dibásico, 74 cloruro de sodio, 220 citrato de potasio, 52 sulfato de potasio, 24 óxido de magnesio, 3.5 carbonato de manganeso, 6 citrato férrico, 1.6 carbonato de zinc, 0.3 carbonato cúprico, 0.01 iodato de potasio, 0.01 selenito de sodio, 0.055 sulfato crómico de potasio, y 118 sacarosa.

<sup>4</sup> Mezcla vitamínica AIN 76 (mg/Kg de mezcla), tiamina 600, riboflavina 600, piridoxina 700, ácido nicotínico 3000, pantotenato de calcio D 1600, ácido fólico 200, biotina D 20, cianocobalamina (B<sub>12</sub>) 1, retinil palmitato (Vit. A) 800, tocoferil acetato (Vit. E) 20, colecalciferol (Vit. D) 2.5, monoquinona (Vit. K) 5000, y sacarosa 972.9 g.

**Crecimiento de los animales experimentales:** durante el período de experimentación se monitoreó el peso de las ratas al principio, a la mitad y al final del mismo y se cuantificó y registró el alimento ingerido para determinar el efecto de cada uno de los tratamientos en el crecimiento de las ratas.

**Muestras de sangre:** después de 4 semanas de alimentar a las ratas con el tratamiento correspondiente, se les dejó en ayuno por 8 hrs en preparación para extraer sangre mediante una punción intracardiaca. La extracción de sangre se realizó después de anestesarlas en una atmósfera saturada con éter por aproximadamente 60 seg. Una vez que se obtuvo la sangre se depositó en un tubo de ensayo Vacutainer<sup>®</sup> con heparina. Inmediatamente después se centrifugó la sangre por 5 min a 3,500 rpm en una Centrífuga Sol-Bat, Modelo J-12, No. 5860. Posteriormente se separó el suero y se refrigeró aproximadamente 1 hr hasta el momento de realizar los análisis bioquímicos correspondientes.

#### Análisis bioquímicos sanguíneos

**Determinación de glucosa:** se realizó mediante el uso de los reactivos de Sigma, específicamente el kit No. 510. En este método la muestra de suero se agregó a una mezcla que contenía glucosa oxidada, peroxidasa y o-dianisidina. La

glucosa en presencia agua, oxígeno y glucosa oxidasa reacciona para convertirse en ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno oxida a la o-dianisidina y ésta se vuelve de color café. La intensidad del color determinada con un espectrofotómetro fue proporcional a la concentración de glucosa.

**Determinación de colesterol total y fracciones lipoproteicas:** el contenido de colesterol total y fracciones lipoproteicas se determinaron utilizando los kits de Sigma No. 352 y 352-3. Estos procedimientos involucran básicamente reacciones enzimáticas mediante las cuales los ésteres de colesterol son hidrolizados a colesterol por la colesterol esterasa. El colesterol producido es oxidado por la colesterol oxidasa, produciendo colest-4-en-3-one y peróxido de hidrógeno. Este último producido se combina con el cromógeno en la presencia de la peroxidasa para producir un tinte cuya máxima absorbancia es a los 500 nm. La intensidad del color se midió en un espectrofotómetro Beckman y fue directamente proporcional al colesterol total de la muestra. La fracción HDL se determinó después de precipitar con sales de Mg a las lipoproteínas LDL y VLDL, dejando las HDL en solución. La separación se logró después de centrifugar a 2,500 rpm durante 5 min en una centrifuga Eppendorf 5415C. Las fracciones lipoproteicas LDL y VLDL se calcularon de la siguiente manera: Colesterol LDL+VLDL = Colesterol total - Colesterol HDL.

**Análisis estadísticos:** los resultados fueron analizados estadísticamente como un diseño en parcelas divididas con bloques completamente al azar en la parcela grande realizando un análisis de varianza con el paquete estadístico SAS (14). El modelo obedece a la ecuación 3, donde  $\mu$  es la media, A es el efecto de la parcela grande, blq es el efecto del bloque, error A es el error de la parcela grande, B es el efecto de la parcela pequeña, AB es el efecto de la interacción de ambas parcelas, y error B es el error de la parcela pequeña. Las variables independientes de este diseño fueron los tratamientos mientras que las variables dependientes fueron bloque, sexo, peso inicial, peso final, cambio en peso, alimento consumido,  $\Delta$  peso/alimento, glucosa, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y colesterol VLDL.

$$\text{Respuesta} = \mu + A + \text{blq} + \text{error A} + B + AB + \text{error}$$

## RESULTADOS Y DISCUSION

**Análisis químicos:** la Tabla 2 muestra los resultados de la composición química nutrimental de los nopales. Estos análisis se realizaron utilizando como muestras nopal crudo o cocido parcialmente deshidratado (con una humedad de 9.82% en el nopal crudo y 6.69% en el nopal cocido). El nopal fresco originalmente contenía 93.8% de humedad. El contenido de humedad del nopal fresco (93.8%) coincide con el reportado por Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (15). El contenido de

proteína (7.86% en el nopal crudo y 8.03% en el nopal cocido) está por debajo del 15.48% reportado por Fernández (16). Martínez (17) reporta un contenido de grasa en las pencas de nopal de 2.16%, ligeramente superior al resultado del análisis (1.81 y 1.25% en el nopal crudo y cocido, respectivamente). El contenido de fibra cruda fue de 5.69% en el nopal crudo y 5.90% en el cocido, menor al 14.37% reportado por Martínez (17). Mientras que el resultado de fibra dietética total fue de 42.80% para el nopal crudo y 41.26 en el nopal cocido. El contenido de cenizas encontrado (13.68 y 11.46 para el nopal crudo y cocido, respectivamente) es ligeramente menor al 15.2% reportado por Villarreal et al. (18); pero se encuentra dentro del rango de 13.67 a 21.05% reportado por Fernández (16). El contenido de azúcares reductores fue de 1.22% en el nopal crudo y 1.50% en el nopal cocido. El contenido de energía bruta del nopal crudo fue ligeramente menor que el del nopal cocido. Se puede observar que el proceso de cocimiento provocó que se concentraran algunos nutrientes como es el caso de la proteína, la fibra cruda, y los azúcares reductores; mientras que disminuyó la concentración de extracto etéreo, fibra dietética total y cenizas. La causa de la variabilidad que existe entre los valores encontrados y los reportados por otros autores es que la composición química del nopal, como la del resto de los productos vegetales, depende de varios factores genéticos y ambientales, como la composición química y textura del suelo y humedad. Según Granados y Castañeda (19) el nopal varía su composición de acuerdo con la época del año; además la humedad también varía según la edad del tallo.

TABLA 2

Composición química-nutricional del nopal deshidratado crudo y cocido

Nutriente	g/100 g	
	Nopal Crudo	Nopal Cocido
Humedad <sup>1</sup>	9.82	6.69
Proteína	7.86	8.03
Extracto etéreo	1.81	1.25
Fibra cruda	5.69	5.90
Fibra dietética total	42.80	41.26
Cenizas	13.68	11.46
Azúcares reductores	1.22	1.50
Extracto libre de nitrógeno	62.14	66.67
Energía bruta, kcal/kg	3279.80	3409.00

<sup>1</sup> El contenido de humedad inicial del nopal fue de 93.8%. Los análisis practicados se hicieron al nopal parcialmente deshidratado. Todos los valores, a excepción de la humedad están expresados en base seca.

El contenido de los diferentes AA en el nopal crudo y en el cocido se muestra en la Tabla 3. Existe diferencia entre la composición de los AA entre el nopal crudo y cocido; la

cantidad de ácido aspártico, treonina, serina, glutamina, prolina, alanina, cistina y fenilalanina es mayor en el nopal crudo, mientras que la cantidad de glicina, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, histidina, lisina y arginina es menor en el nopal crudo que en el cocido. Es decir, durante el tratamiento térmico se concentraron algunos AA y se perdieron otros probablemente por lixiviación. Con los valores obtenidos con el análisis se calculó el VQ de estos productos (Tabla 4) y se obtuvo 84.6 para el nopal crudo y 124.8 para el nopal cocido. Al compararlos con los valores químicos de la carne, leche y huevo (de 100 a 120 aprox) (20) se observó que ambos valores calculados fueron muy altos, lo que indica que el nopal tuvo un muy buen balance de AA esenciales. En el nopal crudo el primer AA limitante fue la fenilalanina+tirosina; mientras que el nopal cocido no tuvo AA limitantes. A pesar de que el VQ es alto, la digestibilidad de la proteína del nopal fue muy pobre. En un estudio preliminar donde se alimentaron ratas exclusivamente con nopal se obtuvieron tasas de digestibilidad de la materia seca y proteína muy bajas de tal manera que las ratas murieron aprox. 5 días después de iniciar la colección de heces fecales. Por lo tanto se concluye que la calidad proteica del nopal es mala debido a su pobre tasa de digestión. La calidad proteica depende principalmente de la cantidad que contiene de cada uno de los AA esenciales (valor químico), de la digestibilidad de la proteína y de la cantidad de factores antinutricionales que contenga el alimento (21).

TABLA 3

Contenido de aminoácidos del nopal crudo y del nopal cocido

Aminoácido	Nopal Crudo (g de AA/100 g proteína)	Nopal Cocido (g de AA/100 g proteína)
Ac. aspártico (Asp)	10.01	9.68
Treonina (Thr)	5.05	4.85
Serina (Ser)	5.81	5.34
Ac. glutámico (Glu)	14.40	13.11
Prolina (Pro)	6.14	5.82
Glicina (Gly)	5.04	5.45
Alanina (Ala)	7.43	6.96
Cistina (Acido Cys)	1.51	1.50
Valina (Val)	5.82	6.23
Metionina (Met)	1.75	1.95
Isoleucina (Ile)	4.57	5.18
Leucina (Leu)	9.22	9.43
Tirosina (Tyr)	4.31	4.48
Fenilalanina (Phe)	5.02	3.85
Histidina (His)	2.23	2.38
Lisina (Lys)	6.69	7.24
Arginina (Arg)	5.67	6.09

TABLA 4  
Valor químico del nopal crudo y nopal cocido

Aminoácido	Contenido de AA/100 g proteína			Valor Químico	
	Nopal crudo	Nopal cocido	Requerimiento <sup>1</sup>	Nopal crudo	Nopal cocido
Lisina	6.69	7.24	5.8	115.34	124.82
Met+Cys	3.26	3.45	2.5	130.40	138.00
Triptófano	—	—	1.1	—	—
Treonina	5.05	4.85	3.4	148.53	142.65
Valina	5.82	6.23	3.5	166.28	178.00
Leucina	9.22	9.43	6.6	139.70	142.88
Isoleucina	4.57	5.18	2.8	163.21	185.00
Phe+Tyr	5.33	8.33	6.3	84.60	132.22
Histidina	2.23	2.38	1.9	117.37	125.26

<sup>1</sup> Requerimiento de aminoácidos para un niño de 2 a 5 años.

El contenido de minerales del nopal se muestra en la Tabla 5. Al igual que en el caso de los aminoácidos, el tratamiento térmico cambió la proporción de los minerales. El contenido de minerales del nopal fue muy alto, pero lo más sobresaliente fue la alta cantidad de potasio y calcio observada. El nopal (4.87 g/100 g de nopal crudo deshidratado) contiene aproximadamente 7 veces más potasio que la carne (0.625g de potasio/100 g de carne cruda seca) (22). El contenido de calcio del nopal (2.54 g/100 g de nopal deshidratado), es mucho mayor al de la leche (0.94 g/100 g de leche deshidratada) (23). A pesar de la gran cantidad de calcio presente en el nopal es necesario realizar estudios de biodisponibilidad para el humano.

TABLA 5  
Contenido de minerales del nopal crudo y del nopal cocido

Mineral	Nopal Crudo <sup>1</sup>	Nopal Cocido <sup>1</sup>
Fósforo, (%)	0.20	0.23
Potasio, (%)	4.87	3.71
Calcio, (%)	2.54	2.58
Magnesio, (%)	0.93	0.91
Sodio, (ppm)	166.31	305.44
Zinc, (ppm)	19.40	22.50
Hierro, (ppm)	59.87	39.65
Cobre, (ppm)	4.43	6.43
Manganeso, (ppm)	253.38	60.55

<sup>1</sup> Los valores están expresados en base seca.

*Estudio de crecimiento:* en la Tabla 6 se muestran los resultados del estudio de crecimiento. El peso inicial de las ratas asignadas a cada uno de los tratamientos fue muy parecido debido a que los animales asignados aleatoriamente a bloques de acuerdo a su peso inicial; el rango de peso varió de 162.22 a 168.53 g con un pequeño error estándar de 1.09. Sin embargo, al finalizar el experimento, se observó una diferencia en los pesos; las ratas alimentadas con la dieta

control (tratamiento I) tuvieron un peso significativamente ( $P < 0.05$ ) mayor (195.03 g); mientras que las del tratamiento VI, resultaron ser las de menor peso (156.15 g) debido a que consumieron la dieta más rica en fibra; las ratas correspondientes al resto de los tratamientos tuvieron pesos intermedios que fueron similares estadísticamente ( $P > 0.05$ ). Las ratas sometidas al tratamiento I, aumentaron de peso con una media de 26.73 g ( $P > 0.05$ ), mientras que las del tratamiento VI bajaron de peso (-8.47 g). Los tratamientos II, III, IV, y V mostraron medias dentro del rango de los valores de los tratamientos I y VI (14.67, 6.77, 1.33 y 10.67 g, respectivamente). De la misma manera, la cantidad de alimento consumido fue mayor para el tratamiento I (253.65 g), menor para el tratamiento VI (192.08 g), e intermedia para los tratamientos II (231.13 g), III (209.77 g), IV (207.62 g), y V (219.68 g). La razón  $\Delta$  peso/alimento consumido mostró ser superior para el tratamiento I, es decir, las ratas alimentadas con este tratamiento tuvieron la mayor eficiencia de conversión alimenticia. El resultado fue intermedio para los tratamientos II, III, IV, y V, e inferior para el tratamiento VI, cuya proporción de carbohidratos digestibles fue menor. La razón  $\Delta$  peso/alimento fue positiva (+) para los tratamientos I, II, III y V. Sin embargo, para los tratamientos IV y VI esta relación fue negativa, lo que indica que la concentración alta de nopal (crudo o cocido) utilizada en este experimento ocasionó una disminución en el peso corporal de los animales experimentales.

*Análisis bioquímicos sanguíneos:* el nivel de glucosa en suero sanguíneo fue similar ( $P > 0.05$ ) para los tratamientos (Tabla 7). Sin embargo, no se cuantificó cuanta glucosa se debió a la gluconeogénesis. Los valores de glucosa oscilaron entre 78.77 mg/dl (tratamiento III) y 91.39 mg/dl (tratamiento V). Esto difiere de los resultados obtenidos en un estudio realizado con humanos en el que una dieta rica en fibra dietética total (aprox. 10%) redujo considerablemente el nivel de glucosa sanguínea (24). En otra investigación realizada en humanos por Anderson et al. (25) se observó que una dieta control suplementada con 30 g/día de fibra insoluble de avena disminuyó en un 13% el valor de glucosa en el suero después de ayuno. La disminución de glucosa se debió a que la viscosidad de la fibra soluble provoca una disminución de la velocidad del vaciado estomacal, el atrapamiento físico de nutrientes, la resistencia a los movimientos de mezclado de las contracciones intestinales, la inhibición de la actividad enzimática y el incremento en la producción de mucina (26). Al igual que en la investigación presente, Mongeau et al. (27) no encontraron diferencias en la cantidad de glucosa en la sangre entre el control (dieta sin fibra dietética) y los tratamientos basados en fibra dietética concentrada de apio, nabo sueco, chirivía, trigo y avena. La cantidad de fibra de estos tratamientos osciló entre 7.7 y 29.4%. Estos resultados muestran que, a diferencia de lo esperado, el nopal no tiene la propiedad de reducir el nivel de glucosa sanguínea en ratas en

TABLA 6  
Efecto de la adición de nopal crudo o cocido en el crecimiento de ratas de laboratorio

Variable	Tratamiento <sup>1</sup>						EE	DMS <sup>2</sup>
	I	II	III	IV	V	VI		
Peso inicial, g	168.30 a	168.53 a	162.22 a	162.40 a	167.15 a	164.62 a	1.09	8.06
Peso final, g	195.03 a	166.53 ab	168.98 ab	163.73 ab	179.48 ab	156.15 b	4.40	32.50
Ganancia peso, g	26.73 a	14.67 ab	6.77 ab	1.33 ab	10.67 ab	-8.47 b	3.90	28.78
Consumo de alimento, g	253.65 a	231.13 ab	209.77 ab	207.62 ab	219.68 ab	192.08 b	6.32	46.66
Δ peso/alimento	0.090 a	0.030 ab	0.020 ab	-0.018 ab	0.017 ab	-0.108 b	0.02	0.1743

<sup>1</sup> I=celulosa (2.5%); II=celulosa (5%); III=nopal crudo deshidratado (6.23%); IV=nopal crudo deshidratado (12.46%); V=nopal cocido deshidratado (6.03%); VI=nopal cocido deshidratado (12.06%).

<sup>2</sup> DMS = Diferencia Mínima Significativa ( $\alpha=0.05$ ).

Medias con letras iguales dentro del mismo renglón, no son diferentes significativamente ( $P>0.05$ ).

TABLA 7  
Resultados de niveles de glucosa, colesterol total, HDL, LDL y VLDL en ratas alimentadas con nopal deshidratado crudo o cocido

Variable	Tratamiento <sup>1</sup>						EE	DMS <sup>2</sup>
	I	II	III	IV	V	VI		
Glucosa, mg/dl	90.68 a	89.23 a	78.77 a	89.76 a	91.39 a	86.29 a	3.13	23.11
Colesterol total, mg/dl	95.83 a	73.81 a	79.71 a	70.98 a	68.12 a	69.35 a	4.13	30.48
HDL, mg/dl	52.88 a	39.99 a	56.72 a	56.43 a	50.57 a	43.57 a	2.55	18.82
LDL +VLDL, mg/dl	42.94 a	33.81 ab	22.99 ab	14.55 b	17.55 ab	25.79 ab	3.58	26.42

<sup>1</sup> I=celulosa (2.5%); II=celulosa (5%); III=nopal crudo deshidratado (6.23%); IV=nopal crudo deshidratado (12.46%); V=nopal cocido deshidratado (6.03%); VI=nopal cocido deshidratado (12.06%).

<sup>2</sup> DMS = Diferencia Mínima Significativa ( $\alpha=0.05$ ).

Medias con letras iguales dentro del mismo renglón, no son diferentes significativamente ( $P>0.05$ ).

las concentraciones utilizadas en este experimento.

En el caso del nivel sanguíneo de colesterol total, los valores oscilaron entre 68.12 mg/dl (tratamiento V) y 95.83 mg/dl (tratamiento I), sin embargo esta diferencia no fue significativa estadísticamente ( $P>0.05$ ). En este caso el error estándar fue de 4.13. Si el error fuera más pequeño la diferencia quizás se tornaría significativa. Nuevamente, el resultado fue diferente al esperado, ya que varios autores (24,15) han reportado que las dietas ricas en fibra producen una reducción en el nivel sanguíneo de colesterol. Anderson y Chen (28) establecieron que, tanto en estudios con humanos como con animales, se ha confirmado la hipótesis de que el aumento en el consumo de fibra hidrosoluble resulta en un aumento en la excreción fecal de sales biliares y esteroides neutros. Esto sugiere un efecto potencial hipocolesterémico, ya que la mayor pérdida de ácidos biliares puede desviar al colesterol de la síntesis hepática de lipoproteínas a la síntesis de ácidos biliares de *novo*. Otro mecanismo mediante el cual las fibras hidrosolubles pueden tener un efecto hipocolesterémico involucra los productos de fermentación microbiana de la fibra dietética en el intestino grueso. De la degradación anaeróbica de los polisacáridos se obtienen los ácidos grasos

de cadena corta acético, propiónico y butírico (29). Se ha reportado que el propionato es un inhibidor de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril Co-A reductasa, que es la enzima que controla la síntesis hepática del colesterol (30); además Chen et al. (31) reportaron que cuando se alimentaron ratas con propionato, éste redujo el colesterol sanguíneo. Anderson et al. (25) reportaron un descenso del 7% en el colesterol total, como resultado del consumo de una dieta de prueba con 15% de fibra de avena. Anderson (32) reportó que los alimentos ricos en fibras hidrosolubles disminuyen el colesterol total y la fracción LDL del suero en 19% y 22%, respectivamente. Sin embargo, Mongeau et al. (27) no observaron diferencias en los niveles de colesterol total de ratas sometidas a diferentes tratamientos (control y concentrados de fibra dietética de diversas fuentes) similar a este estudio. Para la fracción HDL, los resultados fueron similares, no mostraron diferencia significativa ( $P>0.05$ ). Una reducción en el colesterol total no siempre es benéfica, si esta reducción ocurre en el colesterol asociado con las HDL ya que se incrementa el riesgo de una enfermedad cardíaca (33). Schneeman et al. (34) reportaron que no se observó diferencia en el colesterol de las HDL cuando se usaron diferentes fibras para determinar su efecto en

la composición de las apoproteínas en las HDL.

A diferencia de lo que ocurrió en las variables anteriores, en la fracciones LDL y VLDL sí existió diferencia significativa entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). El tratamiento control resultó con el mayor valor (42.94 mg/dl), los tratamientos II, III, V, y VI fueron considerados similares y tuvieron valores de 33.81 a 17.55 mg/dl, y el tratamiento IV mostró un valor significativamente menor (14.55 mg/dl), lo que indica una reducción del 34% con respecto al grupo control. Esta reducción es sumamente benéfica, ya que se estima que una disminución en cualquiera de estas dos lipoproteínas (LDL y VLDL) decrece el riesgo de enfermedades coronarias (35). Se ha reportado que la pectina, rica en ácido galacturónico y constituyente de la fibra dietética, reduce significativamente el colesterol sanguíneo asociado con las lipoproteínas LDL o VLDL (36). Específicamente, se reportó que la pectina disminuyó el colesterol LDL en 18% en personas saludables (37) y en 35% en personas con hipercolesteremia familiar (38). Durante la absorción de grasa, el intestino delgado sintetiza apoproteínas para la formación de lipoproteínas intestinales; estas proteínas contribuyen significativamente al compartimiento de apoproteínas circulantes en el plasma (39,40). La velocidad y lugar de la absorción de los lípidos pueden alterar la contribución del intestino delgado a la composición de lipoproteínas en el plasma. Las fibras hidrosolubles parecen disminuir la absorción de carbohidratos y lípidos del intestino delgado.

### CONCLUSIONES

Se puede concluir que el nopal tiene un alto (> a 11% en base seca) contenido de fibra dietética total, extracto libre de nitrógeno y cenizas. De las cenizas, los principales componentes fueron potasio y calcio. El nopal cocido en una concentración aproximada del 12% de la dieta ocasionó una disminución en el peso de las ratas, en comparación con dosis menores de nopal o la misma dosis de celulosa. El incremento en peso corporal que produce cada gramo de alimento con nopal cocido en concentración alta, es menor al aumento provocado por todos los otros tratamientos. Es importante mencionar que esta investigación se realizó con ratas sanas, por lo que estos resultados no se pueden extrapolar a personas diabéticas, ya que su metabolismo es distinto al de individuos sanos. La adición de nopal, en una proporción de 6 a 12%, a la dieta no provocó la disminución de los niveles sanguíneos de glucosa, colesterol total, y colesterol asociado con las lipoproteínas HDL. Sin embargo, el nopal crudo en concentración alta (12%), mostró una marcada reducción en el nivel de colesterol asociado con las lipoproteínas LDL y VLDL, lo que indica una reducción de aproximadamente 34% comparada con el tratamiento control. Este efecto del nopal es altamente benéfico, ya que se sabe que decrece el riesgo de una enfermedad coronaria.

### REFERENCIAS

1. Bravo-Hollis H, Sánchez-Mejorada H. Las Cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 1991; pp.501-520.
2. Trowell HC. Dietary fibre, ischaemic heart disease and diabetes mellitus. Proc. Nutr. Soc. 1973; 32:151-157.
3. Trowell HC. Definitions of fibre. Lancet 1974; 1:503.
4. Jenkins DJ, Wolever TM, Leeds AR, Gassull MA, Haisman P, Dilawari J et al. Dietary fibres, fibre analogues and glucose tolerance: importance of viscosity. Br. Med. J. 1978; 1:1392-1384.
5. Story JA, Kritchevsky D. Comparison of the binding of various bile acids and bile salts in vitro by several types of fiber. J Nutr, 1976; 106:1292-1294.
6. Anderson JW, Chen WJ. Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. Am J Clin Nutr, 1979; 32:346-363.
7. Albrink MJ, Newman T, Davidson PC. Effect of high and low fiber diets on plasma lipids and insulin. Am J Clin Nutr, 1979; 32:1486-1496.
8. Jenkins DJ, Wolever TM, Bacon S, Nineham R, Lees R, Rowden R, et al. Diabetic diets. High carbohydrate combined with high fiber. Am J Clin Nutr, 1980; 33:1729-1733.
9. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 14th ed. The Association 1990; Washington, D.C.
10. Somoyi M. Notes on Sugar Determination. Journal of Biological Chemistry 1952; 195:19-23.
11. Walsh A. The Application of Atomic Absorption Spectra to Chemical Analysis. Spectrochim 1955. Acta 7,108-112.
12. Fiske CH, Subarrow Y. The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem, 1925; 66:375.
13. Raymond WF, Canaway RJ, Harris CE. An automatic adiabatic bomb calorimeter. J Sci Instrum. 1957; 34:50.
14. Sas Institute, Inc. SAS User's Guide: Statistics. Version 5 ed. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA. 1985.
15. Bravo-Hollis H, Sánchez-Mejorada H. Las Cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México; 1978; pp. 62-82.
16. Fernández Landero MC. Estudio químico del nopal. Tesis profesional. UNAM. México, 1949.
17. Martínez M. La Familia Cactaceae. En: Martínez, H. y Matuda, E. Flora del Estado de México. Biblioteca Enciclopédica del Estado de México. Toluca, México, 1979.
18. Villarreal F, Rojas P, Arellano V, Moreno J. Estudio químico sobre seis especies de nopales (*Opuntia spp.*). Ciencia Méx. 1963; 23(2):75-82.
19. Granados Sánchez D, Castañeda Pérez AD. El Nopal. Historia, Fisiología, Genética e Importancia Frutícola. Editorial Trillas. México. 1996; pp. 71-75.
20. Robinson DS. Bioquímica y Valor Nutritivo de los Alimentos. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1991; pp. 125, 136-137.
21. Serna Saldívar SO. Química, Almacenamiento e Industrialización de los Cereales. AGT Editor. México. 1996; pp. 452-454.
22. United States Department of Agriculture. Composition of Foods. Agriculture handbook, No. 8-7. Science and Education Administration. Washington, D.C., USA. 1980; pp. 46.
23. Holland B, Unwin ID, Buss DH. Milk Products and Eggs. Royal Society of Chemistry. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Cambridge, United Kingdom. 1989; pp. 12-14.

24. Rivellese A, Ricardi G, Giaco A, Pacioni D, Genovese S, Mattioli PL, et al. Effect of dietary fibre on glucose control and serum lipoproteins in diabetic patients. *Lancet* 1980; 2:447-450.
25. Anderson JW, Hamilton CC, Horn JL, Spencer DB, Dillon DW, Zeigler J. Metabolic effects of insoluble oat fiber on lean men with type II diabetes. *Cereal Chem.* 1991; 68(3):291-294.
26. Kritchevsky D, Bonfield C. *Dietary Fiber In Health & Disease*. Eagan Press. St. Paul, MN, USA. pp. 59-67, 106, 133, 142-152, 336-344, 1995.
27. Mongeau R, Siddiqui IR, Emery J, Brassard R. Effect of dietary fiber concentrated from celery, parsnip, and rutabaga on intestinal function, serum cholesterol, and blood glucose response in rats. *J Agric Food Chem.* 1990; 38:195-200.
28. Anderson JW, Chen WJ. Cholesterol-lowering properties of oat products. In *Oat Chemistry and Technology*, F. Webster (ed.) American Association of Cereal Chemists, Minneapolis, MN, USA, 1986.
29. Smith CJ, Bryant MP. Introduction to metabolic activities of intestinal flora. *Am J Clin Nutr*, 1979; 32:149.
30. Ide T, Okamatsu H, Sugano M. Regulation by dietary fats of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in rat liver. *J Nutr* 1978; 108:60.
31. Chen WJ, Anderson JW, Jennings D. Propionate may mediate the hypcholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol fed rats. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1984; 175:215-8.
32. Anderson JW. Dietary fiber, lipids and Atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 1987; 60:17G-22G.
33. Miller NE, Forde OH, Thelle DS, Mjos OD. The Tromso heart study. High density lipoprotein and coronary heart disease: A prospective case-control study. *Lancet.* 1977; 1:965.
34. Schneeman BO, Cimmarusti J, Cohen W, Downes L, Lefevre M. Composition of high density lipoproteins in rats fed various dietary fibers. *J. Nutr.* 1984; 114:1320-1326.
35. Witzum J, Schonfeld G. High density lipoproteins. *Diabetes.* 1979; 28:326.
36. Arjmandi BH, Anh J, Nathani S, Reeves R. Dietary soluble fiber and cholesterol affect serum cholesterol, hepatic portal venous short-chain fatty acid concentration and fecal sterol excretion in rats. *J Nutr*, 1992; 122:246-253.
37. Durrington PN, Manning AP, Bolton CH, Hartog M. Effect of pectin on serum lipids and lipoproteins, whole-gut transit-time and stool weight. *Lancet.* 1976; 2:394.
38. Schwandt P, Richter WO, Weisweiler P, Neureuther G. Cholestyramine plus pectin in treatment of patients with familiar hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 1982; 44:379.
39. Tall AR, Green PH, Glickman RM, Riley JW. Metabolic fate of chylomicron phospholipids and apoproteins in the rat. *J Clin Invest.* 1979; 64:977-989.
40. Redgrave TG, Small DM. Quantitation of the transfer of surface phospholipid of chylomicrons to the high density lipoprotein fraction during the catabolism of chylomicrons in the rat. *J Clin Invest.* 1979; 64:162-171.

Recibido: 12-01-1998

Aceptado: 10-08-1998

## Evaluación químico-nutricional de *Sorghum saccharatum* var. *sugar drip*. Estudio de complementación con proteína de lactosuero

Mirta L. de Arellano, José A. Cid, Isabel T. Gimenez, Sara Mucciarelli

Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis (Argentina)

**RESUMEN.** Se determinó la composición química y algunos índices de calidad biológica de la harina integral, sin lavar, de sorgo (*Sorghum saccharatum*, var. *sugar drip*), cuyo cultivo y selección fue ensayado en la Estación Experimental "San Roque". Dirección de Agricultura. Subsecretaría de Asuntos Agrarios. San Luis, República Argentina. El valor del contenido proteico de la harina obtenida por nosotros fue de 7.5% (N x 6.25). Los valores de utilización proteica neta (NPU), digestibilidad verdadera (tD), razón proteínica neta (NPR) y razón proteínica neta relativa (RNPR), fueron: 12.4±0.6, 22.0±0.2, 0.8±0.1 y 24% respectivamente. El deficiente aprovechamiento nitrogenado limita el uso de sorgo. Dada la abundancia de este cereal y su bajo costo, este puede ser una fuente alimenticia aprovechable si es convenientemente complementado, sin aumentar costos. Se realizaron estudios de harina de sorgo complementada con proteína recuperada de suero de ricota (50:50), residuo industrial, tendiente a mejorar el déficit de lisina y treonina del cereal. En la mezcla ensayada se obtuvo un valor de RNPR de 85.7%. Esto nos permite inferir que un cereal de escaso valor biológico es aprovechable mediante adecuada complementación, con potencial utilización como alimento para aves.

**Palabras clave:** Sorgo, proteínas, complementación, valor biológico.

**SUMMARY.** Chemical nutritional evaluation of *Sorghum saccharatum* var. *sugar drip*. A supplementation study with proteins. The chemical-nutritional composition and some indexes of biological quality of sorghum (*Sorghum saccharum*, var. *sugar drip*) unwashed whole flour were studied. The culture and selection of sorghum were assayed in the "San Roque" Experimental Station of the Agriculture Department, Undersecretary of Agricultural Affairs, San Luis, Argentina. The obtained protein content was 7.5% (N x 6.25). The values for net protein utilization (NPU); true digestibility (tD); net protein ratio (NPR) and relative net protein ratio (RNPR) were 12.4±0.6, 22.0±0.2, 0.8±0.1 and 24%, respectively. Deficient nitrogen utilization constitutes a limitation for the use of sorghum. However, considering its abundance and low cost, sorghum could become a profitable feeding resource if conveniently supplemented without increasing costs. Sorghum flour was supplemented with protein recovered from ricotta serum (50:50), discarded as industrial waste, in order to compensate for lysine and threonine deficiency in this cereal. Studies performed on this mixture gave RNPR values of 85.7%. This might permit us to infer that despite its low biological value, sorghum can be used as food resource, potentially for poultry, with adequate supplementation.

**Key words:** Sorghum, proteins, supplementation, biological value.

### INTRODUCCION

El sorgo es originario de Africa y parte de Asia. Esta considerado entre los doce cultivos tropicales mas importantes y ocupa el quinto lugar en la producción de cereales destacados (1). En el mundo su cultivo solo es excedido por trigo, arroz, maíz y cebada. En los Estados Unidos ocupa el segundo lugar en el cultivo de grano forrajero, especialmente en la gran llanura y en el sudoeste (2). El sorgo (*Sorghum sp*) se emplea en dietas para aves, como fuente energética principal, en sustitución del maíz. Su cultivo ha recibido considerable atención durante los últimos años por parte de agricultores (3). Su bajo valor nutricional, limita su uso como alimento por su proteína deficiente en lisina y treonina (4).

En este estudio nos propusimos ensayar la complementación de harina de sorgo con proteína recuperada del suero de ricota, el que es considerado un desecho industrial.

### MATERIALES Y METODOS

#### Material

Para las experiencias se uso como fuente de aporte proteico complementario de la harina de sorgo (HSr) la proteína recuperada del suero remanente de la obtención de ricota (PR). La ricota fue obtenida usando suero de queso. El suero fue provisto por la industria lechera local.

#### Análisis químico

Los materiales a usar fueron analizados por su contenido en proteína mediante el método de Kjeldahl, modificado por Winkler (5) N x 6.25.

El PR se obtuvo por precipitación mediante corriente de vapor, 75-80°C a pH 4.5, obtenido por acidificación con ácido acético, con posterior centrifugación a 4000 rpm. El precipitado prensado fue secado a 45-50°C en estufa de aire forzado.

De 1000 ml de suero se obtuvieron 2 g de PR, con una concentración proteínica de 78 g/100g. Si bien la recuperación de proteína es baja, se aprovecha un residuo industrial.

El perfil aminoacídico fue determinado usando muestra desengrasada durante 6 hs con éter de petróleo en caliente (extracción continua). La muestra se hidrolizó con HCl 6 N en ampollas evacuadas y selladas a 110°C durante 22 hs. Para la cuantificación final se usó un analizador Beckman, modelo 122 - Cl.

Triptofano fue determinado, previa hidrólisis con papaína, en base a la formación de un cromóforo por reacción con p-dimetilaminobenzaldehído (6).

El cálculo de cómputo químico (CQ) para aminoácidos esenciales y semiesenciales se hizo tomando como referencia la proteína Patrón FAO/OMS/UNU, 1985 (7).

La caracterización química de harina de sorgo consistió, además en determinación de humedad, extracto etéreo, fibra cruda y cenizas de acuerdo a técnicas descriptas por la AOAC (8).

### Ensayos biológicos

La evaluación biológica se llevó a cabo utilizando ratas cepa Wistar, distribuidas según su peso entre las dietas experimentales, que se alojaron en jaulas metálicas con fondos levadizos. Cuando se evaluó HS sin complementar las dietas tuvieron una concentración de 7.5% (operativo) (9). En la preparación de las dietas con aporte proteico de las mezclas se usaron concentraciones de 8 y 10% según el caso (NPR o NPU), las que fueron preparadas de acuerdo a Sambucetti, Gallegos y Sanahuja (10).

Los ensayos consistieron en la determinación de:

- Relación proteínica neta (NPR) y relación proteínica neta relativa (RNPR) (pruebas basadas en el incremento de peso corporal) según la técnica de Bender y Doell (11). La dieta de referencia (caseína) se suplementó al 0.2% con DL-metionina.
- Utilización proteínica neta (NPU) (basada en la ganancia de nitrógeno corporal), siguiendo el método de Miller y Bender (12).
- La digestibilidad verdadera (tD) (nitrógeno absorbido), se determinó junto con la prueba de NPU.
- El valor biológico (BV), se estableció por cálculo, como el cociente de NPU y tD.
- Análisis estadístico, se realizó Análisis de la Varianza (ANOVA) de una vía y posteriores comparaciones por Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 detalla la composición química porcentual de la harina de sorgo.

En la Tabla 2 se consigna la composición aminoacídica del concentrado proteico recuperado del suero remanente de la

obtención industrial de ricota, así como el patrón internacional de la FAO/OMS/UNU (1985), tomado como referencia para cálculo de cómputo químico (7). Estos datos indican que el concentrado obtenido tiene una proteína muy bien equilibrada, de acuerdo a los requerimientos del patrón utilizado como referencia. De la observación de los valores de CQ se desprende que el PR es muy rico en aminoácidos esenciales, especialmente lisina, triptofano y aminoácidos azufrados, con considerable interés por su elevado valor nutritivo. Del perfil aminoacídico de HSr y de su CQ se desprende su limitación, en primer lugar en lisina (CQ=29), lo que es compensado por el contenido de este aminoácido en la proteína del suero de ricota.

TABLA 1  
Composición química porcentual de sorgo (g/100 g)

Humedad	11.87
Proteína	7.50
Extracto etéreo (éter de petróleo)	3.99
Fibra cruda	2.88
Carbohidratos*	73.76
Cenizas	1.65

\* Calculado por diferencia

TABLA 2  
Contenido de aminoácidos de suero de ricota y harina de sorgo (mg/g prot.). Valores de cómputo químico

Amino ácido	*FAO/OMS/UNU	Proteína de suero de ricota	Harina de sorgo**	Cómputo Químico PR	Cómputo Químico HSr
Treonina	34	34	25	100	73
Valina	35	49	30	>100	86
Metionina					
+ Cisteína	25	38	28	>100	>100
Isoleucina	28	44	21	>100	75
Leucina	66	95	81	>100	>100
Fenilalanina					
+ Tirosina	63	109	55	>100	87
Lisina	58	88	17	>100	29
Triptofano	11	15	39	>100	>100
Histidina	19	27	#NI	>100	

\* Modificado FAO/ OMS/ UNU (1985).

\*\* Datos extraídos de cita bibliográfica (1)

# NI: No informado

La Tabla 3 detalla el consumo de alimento y aumento de peso con cada una de las dietas evaluadas, registro efectuado al determinar NPU. Los datos biológicos obtenidos con las distintas dietas ensayadas se muestran en la Tabla 4. Al comparar el aumento de peso del lote alimentado con HSr 100% y HSr-PR 50:50 respecto a caseína, para la primera se obtiene un  $p \leq 0.00001$  y para la segunda un  $p \leq 0.001$ . Los valores de las Tablas 3 y 4 se comparan en la Figura 1.

**TABLA 3**  
Consumo y aumento de peso de ratas alimentadas con las dietas ensayadas (g/10 días) (1)

Fuente proteica %	Consumo de alimento	Aumento de peso
HSr 100%	98.6±6.1 <sup>a</sup>	-5.4±0.6 <sup>c</sup>
HSr 50%	82.5±5.9 <sup>b</sup>	18.0±1.1 <sup>d</sup>
PR 50%		
Caseína 100%	85.2±7.0 <sup>b</sup>	30.6±2.8 <sup>e</sup>

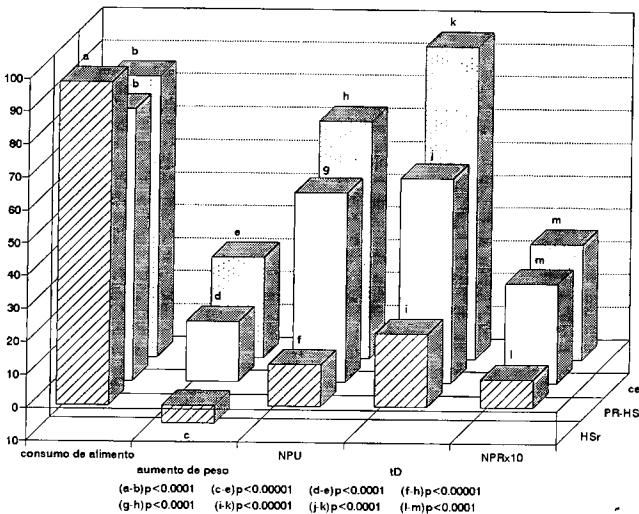
(1) M ± límites de confianza de la media para p= 0.05 para (a≠b) p≤0.0001, para (c≠e), p≤0.00001 y (d≠e), p≤0.001

**TABLA 4**  
Calidad biológica de harina de sorgo y mezcla ensayada (1)

Fuente proteica %	NPU	tD	BV	NPR	RNPR %
HSr 100%	12.4±0.6 <sup>a</sup>	22.0±0.2 <sup>d</sup>	56	0.84±0.1 <sup>g</sup>	24 <sup>i</sup>
HSr 50%	57.5±7.1 <sup>b</sup>	62.1±8.0 <sup>e</sup>	96	3±1.3 <sup>h</sup>	85.7 <sup>j</sup>
PR 50%					
Caseína 100%	72.0±6.5 <sup>c</sup>	95.0±11.0 <sup>f</sup>	76	3.5±1.6 <sup>h</sup>	

(1) M ± límites de confianza de la media para p = 0.05 para (a≠c), p≤0.00001, para (b≠c), p≤0.0001 para (d≠f), p≤0.00001, para (e≠f), para p≤0.0001 para (g=h), p≤0.0001 para (i=j), p≤0.00001

**FIGURA 1**



### CONCLUSIONES

De la observación de las Tablas 3 y 4 se infiere que la harina de sorgo sin complementar es un alimento de muy bajo valor biológico para animales monogástricos, si bien la ingesta es buena, 98.6±6.1 g/10 días, su nitrógeno no es aprovechado, ocasionando una disminución de peso en la rata, semejante al detectado con una dieta apteica. Es de destacar la baja

digestibilidad (22.0).

Al complementar el sorgo con proteína de suero de ricota, se mejora el aprovechamiento, el que se traduce en un mayor aumento de peso, 18.0±1.1 g/10 días, un aceptable NPU y destacable valor de RNPR. Tomando la caseína como proteína de referencia, a la cual se asigna un valor de 100, se puede concluir que el valor de NPU indicaría un aprovechamiento de 80%, y si se refiere a valores de RNPR este resulta de 85.7%, con una diferencia muy significativa con respecto al valor obtenido para HSr 100% de 24 (p≤0.00001).

Es nuestro propósito seguir estudiando el valor alimenticio potencial, para monogástricos, del sorgo; en una próxima etapa intentaremos eliminar la corteza para disminuir así, la concentración de polifenoles, que de acuerdo a lo expresado por Bressani y colaboradores (13), decrecería la calidad de la proteína por disminución de la digestibilidad. Por otra parte se están realizando ensayos, tendientes a abaratar costos y lograr una mayor recuperación, mediante el uso de ultrafiltración con membranas cerámicas.

### AGRADECIMIENTOS

El trabajo surge de un Proyecto financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de San Luis, Argentina.

Industria Láctea Puntana Lila S.A.

### REFERENCIAS

1. Delucchi Zaparrart MI y Mastrodi Salgado J. Avaliação química e nutricional de farinha de sorgo integral (*Sorghum bicolor* L. Moench), complementação com feijão e soro de leite, aplicação em panificação. Arch Latinoamer Nutr, 1994;44:151-157.
2. Neucere NJ and Sumrell G. Chemical composition of different varieties of grain sorghum. J Agric Food Chem. 1980;28:19-21.
3. Cabezas MT, Cuevas B, Murillo B, Elías LG y Bressani R. Evaluación nutricional de la sustitución de la harina de soya y sorgo por harina de frijol caupí crudo (*Vigna sinensis*). Arch Latinoamer Nutr, 1982;32:559-578.
4. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Amino-acid Content of Foods. By the Food Policy and Food Science Service, Nutrition Division, FAO, 1976.
5. Jacobs MB. The Chemical Analysis of Foods Products. New York, N. Y., Krieger Publishing Co. Inc., 1973, p. 34.
6. Lombard JH and Lange DJ. The chemical determination of tryptophan in food and mixed diets. Anal Biochem. 1965;10:260-265.
7. Organización Mundial de la Salud. Necesidades de Energía y de Proteínas. Informe de una Reunión Consultiva Conjunta FAO/OMS/ONU de Expertos, Ginebra, OMS, 1985. (Serie de Informes Técnicos N° 724).
8. AOAC. Official Methods of Analysis; 15th. ed. in Kenneth Helrich. Virginia 22201, USA, 1990.
9. Pellett PL y Young VR. Evaluación Nutricional de Alimentos

- Proteínicos. Ed. Universidad de las Naciones Unidas, Japón, 1980, p.149.
10. Sambucetti ME, Gallegos G y Sanahuja JC. Estudio de la proteína extraída de semillas de lino. Valor nutritivo e inocuidad. Arch Latinoamer Nutr, 1973; 23:79-94.
  11. Bender AE & Doell BH. Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. Brit J Nutr, 1957;11:138-143.
  12. Miller DS & Bender AE. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. Brit J Nutr, 1955; 9:382-388.
  13. Bressani R, Elías LG, Wolzak A, Hagerman AE and Butler LG. Tannin in common beans: methods of analysis and effects on protein quality. J Foods Sci. 1983;48:1001-1003.

Recibido: 17-11-1997

Aceptado: 18-08-1998

## Efecto de la cocción sobre la composición química y valor nutricional de la semilla de *Pithecellobium flexicaule* (Bent)

Ma. Guadalupe Alanis Guzmán, Mario Rafael González Quijada, Roberto Mercado Hernández

Laboratorio de Ciencia de Alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, México

**RESUMEN.** El *Pithecellobium flexicaule* (Bent) o ébano, leguminosa arbórea de alta productividad distribuida en el Noreste de México, produce semillas tradicionalmente consumidas por comunidades de la región, cocidas tiernas y maduras tostadas. Muestra de tres localidades presentó en las semillas maduras 35.3% de proteína, 25% de grasa y 13.2% de fibra dietaria total (FDT). El tostado por 10 minutos a 80-90°C mejora la digestibilidad verdadera de 79.3 a 91.8%, disminuye hasta 35% los fitatos y 96% los inhibidores de tripsina, sin embargo, los taninos como mg equivalentes de catequina/100g se incrementaron de 12.4 a 235.6, ya que éstos pasan durante el tostado de la testa a los cotiledones y la pérdida de aminoácidos azufrados por efecto del tostado ocasiona la disminución del puntaje químico (P.Q.) corregido con digestibilidad verdadera (D.V.) de 44.4 a 34.9. Las semillas tiernas tienen 12.7% de proteína, 6.6% de grasa y 3.5% de FDT. Al cocinarlas tradicionalmente hervidas en su vaina (SVT1), aunque los fitatos se reducen en un 72%, la digestibilidad es de 85.8%, igual a la semilla cruda ya que los taninos se incrementaron de 4.9 a 226 mg. Por lo que se probó hervirlas libres de vaina y testa, logrando una reducción de 73.5% en los taninos, de 88.6% en los fitatos y digestibilidad de 94.5%. Igual que en otras leguminosas, los aminoácidos limitantes son los azufrados; el puntaje químico corregido con digestibilidad proteica verdadera de 50.6% en SVT1, similar al frijol pinto.

**Palabras clave:** Composición, *Pithecellobium*, ébano, valor nutricional.

### INTRODUCCION

El *Pithecellobium flexicaule* (Benth). Coult (1) o *Pithecellobium ebano* (Berl) Muller (2), conocido comúnmente como ébano, es un arbusto o árbol de hasta 15 m de altura, el fruto que nos ocupa es una vaina de 6 a 13 cm de largo y de 1.8 a 3 cm de ancho, internamente septada conteniendo las semillas de aproximadamente 1.3 cm de longitud y 0.63 cm de ancho, color marrón y de revestimiento grueso. Se encuentra distribuido en el estado de Texas en E.U. y en el Noreste de la República Mexicana en los estados de Nuevo León, Tamaulipas y Coahuila, incluyendo el sureste del estado de San Luis Potosí. También se reporta en el Noroeste de la República Mexicana en el estado de Baja California (3).

Los árboles de ébano ofrecen algunos aspectos agrobiológicos ventajosos como son: su capacidad de fijación de nitrógeno, lo que le permite crecer en suelos pobres,

**SUMMARY.** Effect of cooking on the chemical and nutritional value of the *Pithecellobium flexicaule* (Bent) seed. The leguminous *P. flexicaule* grows at the Northeast of Mexico. People living at this region traditionally consume the seeds (unripe cooked or toasted mature). Three localities samples of mature seeds were analyzed. The main results were: Protein (Nx6.25) 35.3%, lipids 25% and total dietary fiber (TDF) 13.2%. After a toasted treatment during 10 minutes (80-90°C), the true protein digestibility increased from 79.3-91.8%, the phytate content and protein inhibitors decreased up to 35 and 96% respectively. Tannin concentration increased from 12.4 to 236 mg eq. catechine/100g, probably because during the treatment they passed from the shell to the cotyledons. Unripe seeds gave; protein 12.7%, lipids 6.6%, TDF 3.5%. When the unripe seeds in their sheath were boiling, the true protein digestibility was 85.8% (same value of the raw seeds), phytate content was reduced 68.4% and tannin concentration rose from 4.9 to 226 mg. Due to these results, the seeds free of the shell and sheaths were boiling, this time the tannin and phytate concentration were reduced 73.5 and 88.6% respectively, the true protein digestibility was 94.5%. The sulphur containing amino acids were the limit, as in other leguminous, the protein digestibility corrected amino acid score was 50.6% (unripe seeds), similar to that of pinto beans.

**Key words:** *Pithecellobium* seeds, chemical composition.

tolerancia a las altas y bajas temperaturas, resistencia a patógenos, numerosa producción de semilla, facilidad de propagación y resistencia a largos períodos de sequía; todo lo anterior lo convierte en un árbol de alta productividad en zonas áridas y semiáridas (4).

Las semillas son consumidas por las comunidades del Noreste de la República Mexicana, cocidas cuando están tiernas y tostadas cuando maduras, estas últimas también suelen ser molidas y utilizadas como sustituto de café. En las poblaciones se comercializa la semilla tanto verde cruda como madura una vez tostada (1,5,3).

Girat et al. (6), en un estudio de 15 leguminosas silvestres de la República Mexicana, determinaron un 31.54% de proteína en la semilla de ébano madura cruda, reportándola deficiente en aminoácidos azufrados (Met + Cys) con un contenido de 1.07g/100g de proteína y el contenido de triptófano 0.85g/100g de proteína. El hecho de que es consumida por grupos

humanos sin un estudio nutricional previo y que las condiciones de procesamiento alteran la relación de aminoácidos de las proteínas (7) y la digestibilidad de las mismas, aunado todo esto a que se trata de un árbol de alta productividad se considera de importancia evaluar la calidad de la proteína de la semilla de ébano tierna y madura cocinada en la forma que tradicionalmente se realiza.

## MATERIALES Y METODOS

Se colectaron semillas tiernas y maduras (secas) de árboles de *Pithecellobium flexicaule* (Benth.), muestreados aleatoriamente, en los siguientes municipios del estado de Nuevo León, México: General Escobedo, que cuenta con una población de 176.831 habitantes; General Terán, con 16,608 habitantes y Marín, con 4.023 habitantes. La altitud de estos municipios citados en el orden respectivo son: 500, 310 y 400 m. Las características climáticas son similares ya que las tres localidades se ubican en la Llanura Costera del Golfo Norte, presentando temperatura media alta de 29-30°C en los meses de Julio y Agosto. La temperatura media baja de 14-15°C en los meses de Diciembre y Enero. Sin embargo se registran temperaturas extremas de -3°C y 43°C. La precipitación media anual es de 587 a 800 mm, siendo en Septiembre la máxima precipitación (8,9).

Las vainas tiernas se cosecharon con un grado de desarrollo próximo a la completa maduración ya que en condiciones similares son cocidas, para el consumo de la semilla, por habitantes de los citados municipios. Las vainas fueron transportadas y mantenidas en refrigeración hasta su uso.

Con las muestras obtenidas en los diferentes municipios se obtuvo una muestra poblacional, ya que Alanís et al. 1997 (observaciones inéditas), no encontraron diferencias significativas en composición química, entre las semillas de las tres localidades muestreadas.

### Tratamientos

Las semillas tiernas se dividieron en tres lotes y el manejo fue el siguiente:

Tratamiento 0 (CVT0), las semillas de un lote en cantidad suficiente para obtener 500 gramos de muestra en peso seco, fueron separadas de la vaina y testa obteniendo los cotiledones crudos.

Tratamiento 1 (CVT1), un segundo lote fue cocinado como tradicionalmente se realiza, con las vainas sumergidas en agua a ebullición y a presión atmosférica por 30 minutos, posteriormente fueron removidas de su vaina y testa, obteniendo solamente los cotiledones.

Tratamiento 2 (CVT2), el tercer lote de semillas de igual tamaño fue primero separado de la vaina y testa manualmente, para cocinar los cotiledones en las condiciones ya descritas.

Los cotiledones crudos y cocidos fueron secados a 60°C durante 12 horas en una estufa marca Narca, modelo 630, con circulación de aire. Posteriormente fueron molidos en un

molino casero de café marca Cofret modelo 518, hasta ser convertidos en harinas finas las cuales fueron tamizadas en mallas de 1 mm. Estas harinas se almacenaron en recipientes de vidrio, sobre material desecante y se mantuvieron refrigeradas de 4 a 6°C hasta su análisis.

Las semillas maduras también en cantidad necesaria para producir dos lotes de 500 g cada uno de muestra procesada en peso seco, fueron separadas de la vaina, se retiró la testa obteniendo los cotiledones crudos (CMT0). Las semillas del segundo lote fueron tostadas sobre un baño de arena a temperaturas entre 80 y 90°C por 10 minutos (CMT1), esto ante la imposibilidad de registrar la temperatura en el tostado casero en comal (superficie de metal calentada con fuego), posteriormente fueron quebradas y descascarilladas, y los cotiledones molidos, tamizados y almacenados en las condiciones ya descritas para las semillas tiernas.

### Composición química

A las harinas así preparadas, se les realizaron los siguientes análisis por triplicado: Contenido de proteína, grasa (EE), fibra cruda, humedad, cenizas y carbohidratos totales como extracto libre de nitrógeno (ELN), por los procedimientos de la AOAC (10). Los taninos fueron determinados como equivalentes de catequina por el método de HCl-vainillina, modificado por Price et al. (11) y Desphande y Cheryan (12). El contenido de ácido fítico se determinó mediante una modificación del procedimiento de extracción de Wheeler y Ferrel, propuesta por Davis (13), realizando la extracción con ácido tricloroacético, la precipitación con FeCl<sub>3</sub> y la determinación colorimétrica del fósforo fítico, previa hidrólisis. La actividad de los inhibidores de tripsina fue determinada por cuadruplicado de acuerdo a la metodología propuesta por Kakade et al. (14) utilizando tripsina y clorhidrato de benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPA); la actividad del inhibidor de tripsina fue expresada en UIT (Unidades de Tripsina Inhibidas), definiéndose una UT como el incremento de 0.01 unidades de absorción en una mezcla de reacción de 10 mL medida a 410 nm.

La fibra dietaria total fue cuantificada por el método enzimático-gravimétrico de la AOAC (10).

### Evaluación nutricional

Con la finalidad de valor el efecto del tratamiento sobre la calidad nutricional de las semillas se realizaron las siguientes determinaciones:

#### A. Análisis de aminoácidos.

a) Se realizó la hidrólisis descrita por Pellett y Young (15), con HCl 6N a 110°C por 24 horas en atmósfera inerte. Para la cuantificación se utilizó un autoanalizador Beckman, modelo 6300, previsto de columnas de intercambio iónico. La detección se realizó por reacción postcolumna con ninhidrina a 570 y 440 nm (16).

b) En la determinación de aminoácidos azufrados, las

muestras fueron pre-oxidadas con ácido per fórmico (15) e hidrolizadas como se describió en a) y el ácido cisteico fue determinado con un equipo modular HPLC, sistema Gold de Beckman.

- c) Para el análisis de triptofano se hidrolizó la muestra según metodología de Chiou y Wang (17), utilizando ácido metanosulfónico 4N y 3- (2-Cloruro de Aminoetil-indol) a 110°C, bajo vacío por 22 horas, se realizó derivatización con OPA (O-ftaldehído al 0.1%) y se utilizó el equipo HPLC mencionado anteriormente, equipado con un detector de fluorescencia marca Gilson, Modelo 126.
- B. La digestibilidad *in vivo* se realizó (7), con ratas machos de la raza Sprague-Dawley, de 21 días de nacidos. Los animales fueron alojados en jaulas individuales. Cada dieta fue ensayada con 8 ratas.
- C. El puntaje químico corregido con la digestibilidad verdadera fue calculado (7), utilizando el patrón de 1985 para niños en edad preescolar.

#### Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar y las diferencias entre tratamientos fueron evaluadas mediante un análisis de varianza de un factor y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (18).

El cambio por la cocción en el contenido de taninos y en la digestibilidad verdadera fue evaluado mediante un ANOVA no paramétrico, con la prueba de Kruskal-Wallis. Y las diferencias entre pares de tratamientos (cruda-cocida) en digestibilidad fueron analizadas por la prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon (18).

Los cálculos estadísticos fueron realizados utilizando el programa computacional SPSS. Un valor de  $P < 0.05$  fue considerado significativo.

## RESULTADOS Y DISCUSION

#### Composición química

Los resultados del análisis proximal en base húmeda se muestra en la Tabla 1, en ella se observa que la composición química de los cotiledones de la semilla tierna cocida con vaina tienen un mayor contenido de fibra cruda, fibra dietética y cenizas que la misma semilla cocida sin vaina y testa, lo cuál hace pensar en una pérdida por solubilización de estos componentes en el agua de cocción, sin embargo si se comparan las semillas cocidas con las semillas crudas, se observa que estas son estadísticamente similares a las tratadas sin vaina y testa; y que las cocinadas en su vaina tienen mayor contenido de fibra y cenizas que las semillas crudas lo que refleja en todo caso que se presentó migración de estos componentes de la vaina a los cotiledones durante la cocción o contaminación con residuos de testa y vaina al separar manualmente estas estructuras de los cotiledones. En ambos tratamientos también se disminuye la humedad y los carbohidratos, incrementándose

el contenido de proteína y grasa.

TABLA 1  
Composición proximal y fibra dietética de las harinas de cotiledones de ébano, crudos y tratados\*

Tratamientos**	CVT0	CVT1	CVT2	CMT0	CMT1
Humedad	66.7±0.5b	63.3±0.7c	62.3±0.5c	3.3±0.1a	2.6±0.1a
Proteína	12.7±0.01b	13.3±0.04c	13.7±0.1c	35.3±0.15a	35.9±0.1a
Ceniza	0.1±0.02c	1.3±0.03d	0.7±0.1c	3.8±0.05a	3.6±0.1b
Grasa	6.6±0.04c	10.2±0.03d	10.8±0.2d	25.0±0.5a	27.0±0.4b
Fibra cruda	0.1±0.01c	1.3±0.06d	0.7±0.03c	3.6±0.1a	3.2±0.1b
Carbohidratos	13.0±0.4b	10.7±0.5c	11.6±0.3c	29.1±0.3a	27.6±0.4a
Fibra dietética total	3.5±0.3b	5.9±0.07c	4.9±0.06d	13.2±0.8a	12.2±0.6a

\* g/100g de muestra en base húmeda, media ±D.E., n=3

\*\* CVT0: Cotiledones tiernos crudos, CVT1: Cotiledones tiernos hervidos en su testa y vaina, CVT2: Cotiledones tiernos hervidos desprovistos de testa y vaina, CMT0: Cotiledones maduros crudos y CMT1: Cotiledones maduros tostados en su testa. a-d medias en la misma línea compartiendo una letra común no son significativamente diferentes a  $P \leq 0.05$ .

En la misma Tabla 1 se observa la composición química de la semilla madura (CMT0) así como los cambios observados después del tratamiento térmico o tostado, en este caso la proteína, humedad y los carbohidratos totales son similares en la semilla cruda y cocida, sin embargo la semilla cocida tiene un menor contenido de fibra y cenizas, y mayor contenido de grasa.

Los contenidos de proteína y grasa son comparables a los de algunas variedades de soya (19) y superiores al frijól común (20).

La fibra dietaria reportada en la Tabla 1, no varió significativamente por efecto del tostado en las semillas maduras, pero sí en las semillas tiernas en que se presentaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) y el valor mayor correspondió a las semillas cocidas en su vaina. Si se comparan los resultados en base seca las diferencias se hacen más evidentes y así las semillas tiernas crudas tienen 11% de FDT, cocinada con vaina 17% y cocinadas sin vaina 13.94%. Se han reportado (21) incrementos en los contenidos de fibra obtenidos en base seca por el método con detergente neutro (NDF) y detergente ácido (ADF) en garbanzos y frijól al cocinarlos a presión atmosférica, previo remojo.

En la Tabla 2 se observa que los taninos aumentaron significativamente en las semillas maduras tostadas y en las tiernas cocidas con vaina con respecto a las crudas; disminuyendo por el contrario en las semillas tiernas cocidas sin vaina y testa.

Durante la maduración del frijól caupí hay una disminución en el contenido de taninos en el cotiledón e incremento en la testa, encontrando el 96% de los taninos en ésta última. El cocimiento de frijól caupí redujo de 38 a 76% el contenido de taninos (22). Otros autores sin embargo (23), han encontrado en habas que más del 50% de los taninos pasan al agua de cocción, mientras que la destrucción de estos compuestos por efecto de la cocción es de apenas 10%. Considerando que los

taninos e encuentran hasta un 96% en la testa de frijol (22) y observando los resultados de la Tabla 2 se concluye que las semillas cocidas tradicionalmente con testa y vaina absorbiéron y fijaron taninos en sus cotiledones, lo cuál es importante ya que el agua de cocción habitualmente se desecha, pero se consume las semillas una vez separadas de las vainas y testa que llevan ya un alto contenido de taninos. Por este resultado se incluyó el tratamiento 2 confirmando que el cocinar las semillas sin vaina (CVT2) permite obtener un alimento de mejor calidad.

TABLA 2

Contenido de compuestos antinutricionales de harinas de cotiledones de ébano crudos y tratados\*

Tratamiento**	CVT0	CVT1	CVT2	CMT0	CMT1
Taninos mg/100g	4.9±0.16c	226.1±1.3d	1.3±0.18c	12.4±0.1a	235.6±2.4b
Ac. fítico mg/g	7.9±0.10c	2.5±0.1d	0.9±0.1e	27.2±0.3a	17.7±0.6b
Inhibidores de tripsina UIT/mg <sup>π</sup>	36.0±1.1c	0.6±0.01d	0.8±0.04d	204±2.0a	8.4±0.8b

\*Media ± D.E., n=3, determinaciones en base húmeda.

\*\*Como se señala en la Tabla 1

<sup>π</sup>n=4

a-d medias en la misma línea compartiendo una letra en común no son significativamente diferentes a P≤0.05.

En la Tabla 2 se observan los contenidos de ácido fítico, presentándose una disminución significativa de estos compuestos en las semillas cocidas tanto tiernas como maduras, observándose una reducción de 35% en las semillas tostadas, de 68% en las semillas cocidas en su vaina y la máxima reducción de 88%, en las semillas cocidas sin vaina, esto debido quizás a la mayor penetración de calor y a la facilidad de solubilización de los fitatos. Los fitatos son disminuidos 47.18% en frijoles comunes remojados y cocidos tradicionalmente (24). En las habas cocidas tradicionalmente (23), previo remojo se redujo un 26% de los fitatos y un 14% al considerar las habas junto con el agua de cocción.

La actividad de los inhibidores de tripsina de los cotiledones de la semilla de ébano se muestran en la Tabla 2. La naturaleza termolábil de este inhibidor, permitió la reducción de 96% por el tostado en las semillas maduras y de 98% en las semillas tiernas cocidas en ambos tratamientos. El contenido de los inhibidores se incrementa en la maduración de la semilla de manera importante; de 36UIT/mg a 204UIT/mg. Estos compuestos se han disminuido un 98% en frijol cocido previo remojo (24) y en habas cocidas tradicionalmente previo remojo 62% y solo 51% cuando se analiza la semilla junto al agua de cocción (23).

### Evaluación nutricia

Se muestra en la Tabla 3 la composición aminoácídica observando que en las semillas maduras crudas, excepto para triptofano se obtuvieron valores más altos que los reportados por Giral et al. (6) para la misma leguminosa cruda. Compa-

rando la composición aminoácídica con el patrón de la FAO/OMS de 1985 para niños en edad preescolar (7), se tienen relativamente altos valores de lisina, leucina, isoleucina y valina, siendo los aminoácidos azufrados el primer limitante con un puntaje químico de 56 y el triptofano el segundo limitante con un puntaje de 71 (Tabla 4). Al tostar estas semillas maduras se observa una reducción en todos los aminoácidos esenciales, siendo más drástica la pérdida en los aminoácidos azufrados, 32.6% y en el triptofano 42% (Tabla 3), por lo que el puntaje químico bajó a 38. Yañez et al. (25), tostaron semillas de *Lupinus albus* c.v. Multolupa a temperaturas de 80 a 90°C durante 10,20,30 y 40 minutos y encontraron un descenso gradual en el contenido de aminoácidos esenciales en relación al tiempo de tostado, siendo mayores las pérdidas en lisina (51%) y azufrados (29%). El tostado a los 10 minutos aumento el PER de 0.80 en la semilla cruda a 0.92 al incrementar el tiempo de tostado el valor de PER disminuyó.

TABLA 3

Contenido de aminoácidos esenciales de harinas de cotiledones de ébano crudo y tratados\*

Tratamientos**	CVT0	CVT1	CMT0	CMT1	Patrón <sup>π</sup>
Isoleucina	28.1	34.3	34.3	29.4	28
Leucina	57.3	66.6	67.8	65.9	66
Lisina	47.7	60.1	62.2	51.5	58
Metionina	6.4	7.7	7.6	5.9	
Cistina+Cisteína	7.5	7.1	6.5	3.6	
Met+Cis.	13.9	14.8	14.1	9.5	25
Fenilalanina	11.9	12.7	13.2	9.3	
Tirosina	34.0	41.2	41.5	35.7	
Fenilal+Tiros	45.9	53.9	54.7	45.0	63
Treonina	26.0	28.2	28.1	21.2	34
Triptofano	5.7	ND.	7.1	4.1	11
Valina	43.4	52.1	51.5	43.4	35
Histidina	12.8	16.4	16.7	13.3	19

\*mg/g de proteína, \*\*Como se señala en la Tabla 1

<sup>π</sup> FAO/OMS/UNU 1985 (7), ND: No determinado

TABLA 4

Parámetros de calidad proteica de harinas de cotiledones de ébano crudos y tratados\*

Tratamientos**	CVT0	CVT1	CVT2	CMT0	CMT1
Digestibilidad verdadera (DV)%*	83.2±1.7a	85.8±1.9a	94.5±0.5b	79.3±3.6a	91.8±2.2c
Puntaje químico (PQ)	55	59	ND	56	38
PQ Corregido con DV.	45.7	50.6	ND	44.4	34.9

\*Media ± D.E., n=8, \*\* Como se señala en la Tabla 1

(PQ) Razón aminoácídica. Aminoácidos azufrados primer limitante.

ND: No se determinó

a-c medias en la misma línea compartiendo una letra común no son significativamente diferentes a P≤0.05.

En el tostado de ébano las pérdidas de lisina fueron de 17% sin embargo no fue determinada su disponibilidad.

En cuanto a la semilla tierna el contenido de aminoácidos esenciales en ésta es 16% menor a la semilla madura siendo el puntaje químico muy similar. La cocción en su vaina ocasionó un incremento en todos los aminoácidos esenciales analizados (Tabla 3), causando un incremento en el puntaje a 59 (Tabla 4). Aunque diversos autores (26,27), señalan que el remojo previo y la cocción mejoran el valor nutricional de las leguminosas, otros (28) afirman que períodos largos de cocción o temperaturas elevadas producen una disminución en el valor nutricional de la proteína debido al cambio en el contenido de aminoácidos esenciales, especialmente lisina, la cuál decrece proporcionalmente al tiempo de cocción. En este trabajo las semillas tiernas fueron cocidas en su vaina, en agua a ebullición por 30 minutos y sin remojo; corto tiempo si se consideran los tiempos necesarios en la cocción de la mayoría de los frijoles comunes. No se detectaron pérdidas en los aminoácidos durante el tratamiento sino que se incrementaron con relación a la semilla cruda.

La digestibilidad verdadera y el puntaje químico corregido con la digestibilidad se muestra en la Tabla 4, donde se observa que aunque el tostado mejoró substancialmente la digestibilidad de la proteína, la pérdida de aminoácidos esenciales es muy importante disminuyendo drásticamente el valor nutricional de la proteína a solamente 34.9%. Por el contrario la semilla tierna fue mejorada con la cocción aumentando su valor nutricional en un 10.7% a un puntaje corregido de 50.6%. La semilla tierna cocida sin su vaina, mejoró la digestibilidad verdadera a 94.5%, sin embargo no le fue determinada su composición aminoacídica por lo que el puntaje químico no pudo ser calculado.

La diferencia en la digestibilidad de las proteínas puede atribuirse a la naturaleza de la fuente proteica, a la presencia de constituyentes no proteicos tales como fibra dietética y compuestos antinutricionales que disminuyen la digestibilidad, o bien, a condiciones de procesamiento que alteran la relación de aminoácidos de las proteínas (7). En la semilla madura su valor nutricional se disminuye con el tostado en un 32%, esto debido a la pérdida de aminoácidos esenciales y al incremento en la concentración de taninos que presenta, sin embargo, es importante mencionar que los cotiledones tostados solamente son consumidos aderezados con sal, chile y limón como bocados y la semilla completa tostada es utilizada como sustituto de café.

### AGRADECIMIENTO

Universidad de Oriente, Fundación Gran Mariscal de Ayacucho, Venezuela, por el apoyo financiero brindado al M.C. Mario Rafael González para la realización de este trabajo.

Laboratorio de Química y Análisis del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química y a la

Unidad de Análisis de Aminoácidos del Inst. de Inv. Biomed. de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el apoyo técnico prestado a los análisis de aminoácidos.

### REFERENCIAS

1. Correl DS, Johnston MC. Manual of vascular plants of Texas. Texas Research Foundation. Renner, Texas. USA. 1970; p. 769.
2. Estrada AE, Marroquín JS. Leguminosas en el centro-sur de Nuevo León. Reporte Científico Especial, Fac. de Ciencias Forestales, UANL. Linares, N.L. México. 1992; (10):71.
3. Vires RA. Trees, shrubs, and woods vines of the southwest. University Texas Press. Austin, Texas, USA. 1986; p. 514.
4. Felker P. Uses of tree legumes in semiarid regions. *Economic Botany* 1981; 35(2):174.
5. Rocas AN. Árboles y arbustos útiles de México - Naturales e introducidos. Edit Limusa. México. 1990; 0. 146.
6. Giral F, Sotelo A, Lucas B, De la Vega A. Chemical composition and toxic factors content in fifteen leguminous seeds. *Quart J. Crude Drug Res.* 1978; 16(3):143-9.
7. FAO/WHO. Protein quality evaluation. Report of Joint Expert Consultation. Bethesda, MD, USA. 1989; p. 18-28, 32-9.
8. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Síntesis geográfica del estado de Nuevo León. 1986; p. 13-4.
9. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Anuario estadístico del estado de Nuevo León. 1996.
10. Association of Official Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis. 15th edition. Washington, D.C. 1990; p. 72,79,80,777,788,1105-6.
11. Price ML, VanScoyoc S, Butler LG. A critical evaluation of vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J Agric Food Chem.* 1978; 26:1214-8.
12. Deshpande SS, Cheryan M. Determination of phenolic compounds of dry beans using vanillin, redox and precipitation assays. *J Food Sci.* 1987; 52:332-4.
13. Davis KR. Proximate composition, phytic acid and total phosphorus of selected breakfast cereals. *Cereal Chem.* 1981; 58:347-50.
14. Kakade ML, Rackis JJ, McGhee JE, Puski G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.* 1974; 51:376-82.
15. Pellet PL, Young VR, editores. Evaluación nutricional de alimentos proteínicos. Publicación técnica. UNU. 1980; p. 99-102.
16. Moore S, Stein WH. Chromatographic determination of amino acids by use of automatic recording equipment. *Meth Enzymol.* 1963; 6:819.
17. Chiou S, Wang KT. Simplified protein hydrolysis with methanesulfonic acid. *J Chromatogr.* 1988; 404-8.
18. Zar JH. Bioestatistical Analysis. Prentice-Hall, Inc., Englewood, Cliffs NJ. 1974; p. 109,133-142,153.
19. Kriworuchko D, Kaba H, Sambucetti ME, Sanahuaja JC. Maturation time and some seed composition characters affecting nutritive value in soybean varieties. *Cereal Chem.* 1979; 56:217-9.
20. Wu W, Williams WP, Kunkel ME, Acton JC, Wardlaw FB.

- Huang Y, Grimes LW. Thermal effects on *in vitro* protein quality of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Food Sci.* 1994; 59:1187-91.
21. Vidal-Valverde C, Frias J. Legume processing effects on dietary fiber components. *J Food Sci.* 1991; 56:1350-2.
  22. Chang MJ, Collins JL, Bailey JW, Coffey DL. Cowpeas tannins related to cultivar, maturity, dehulling and heating. *J Food Sci.* 1994; 59:1034-6.
  23. Ziena HM, Youssef MM, El-Mahdy AR. Amino acid composition and some antinutritional factors of cooked faba beans (Medamnis): Effects of cooking temperature and time. *J Food Sci.* 1991; 56:1347-9.
  24. Barampagna Z, Simard RE. Oligosaccharides antinutritional factors and protein digestibility of dry beans as affected by processing. *J Food Sci.* 1994; 59:833-8.
  25. Yañez E, Lobos P, Díaz G, Ballester D. Effect of roasting on the chemical composition and protein quality of lupin seeds (*Lupinus albus* c.v. Multolupa). *J Food Sci.* 1986; 51:1235-8.
  26. Kaul M, Bajwa M. Effect of heat and natural fermentation on trypsin inhibitor and hemagglutinin of black gram (*Phaseolus mungo*). *J Nutr Dietet.* 1987; 24:40-4.
  27. Gómez R, Elias LG, Molina M, De la Fuente G, Bressani R. Changes in chemical composition and nutritive value for common beans (*Phaseolus vulgaris*) and other legumes during house cooking. In Jaffé WG, editors. Nutritional aspects of common beans and other legumes seeds as animal and human foods. USAID-SLAN. Brasil. 1973; p. 93-105.
  28. Bressani R, Elias LG, Valiente AT. Effect of cooking and amino acid supplementation on the nutritive value of black beans (*Phaseolus vulgaris*). *Brit J Nutr.* 1973; 17:69.

Recibido: 13-10-1997

Aceptado: 25-06-1998

## Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran

*Alex Augusto Gonçalves, Eliana Badiale-Furlong, Leonor Almeida de Souza-Soares, Simone Treibs Stiervs*

Fundação Universidade de Rio Grande-FURG, Rio Grande, Brazil

**SUMMARY.** The information about dietary fiber presents controversies in many research areas such as in nomenclature, related illnesses, recommended quantities and terminology, mainly because of lack of analytical data. Different needs and interests for the dietary fiber composition of foods and forages have led to a proliferation of methods for its analysis. This research, a further adaptation of the enzymatic method of Asp et al. (1983) for its application is proposed for rice and wheat bran, byproducts of agroindustries in the southern region of Rio Grande do Sul (Brazil). The inclusion of Amyloglucosidase in the proposed methodology contributed to the decrease in the content of residual starch at the end of the experiment, like Prosky et al (1992). To increase the efficiency of the enzyme system in this type of samples, other changes were made with respect to incubation time and proteolytic enzyme concentration. In the final adaptation, a decrease of 51.33% of the starch content was observed in rice bran (RB) and of 52.93% in wheat bran (WB). This decrease was also verified in the model system (MS) (52.08%), which demonstrates the adequacy of the proposed adaptation. With respect to the residual protein, it was verified that the measures adopted provoked a reduction of 42.15% (RB), 52.19% (WB) and 42.11% (MS) as compared to the original method. Then the proposed conditions has been shown to be efficient in decreasing the level of interference (indigestible starch and protein) in the quantification of dietary fiber in rice and wheat bran.

**Key words:** Dietary fiber, enzymatic determination, rice bran, wheat bran.

**RESUMEN. Determinación enzimática de la fibra dietética soluble e insoluble en salvados de arroz y trigo.** Las informaciones sobre fibra dietética muestran controversias en diferentes áreas de investigación, referentes a la nomenclatura, enfermedades relacionadas, cantidades recomendadas y terminología, principalmente por la carencia de datos analíticos. Diferentes necesidades e intereses, con relación a la composición de la fibra dietética en los alimentos, han llevado a una proliferación de métodos para este tipo de análisis. En este trabajo fue propuesta una adaptación del método enzimático de Asp y col. (1983), específico para salvados de arroz y trigo, ambos sub-productos de la agroindustria del sur de Rio Grande do Sul, Brasil. La inclusión de la enzima amiloglucosidasa dentro de la metodología propuesta favoreció la reducción del contenido de almidón residual al final de la experiencia (Prosky y col., 1992). Para aumentar la eficiencia del sistema enzimático para estos tipos de muestras, fueron realizados otros cambios, relacionados con los tiempos de incubación y concentración de las enzimas proteolíticas. Al final de la adaptación fue verificada una disminución de 51.33% en el contenido de almidón en el salvado de arroz (RB) y 52.93% en el salvado de trigo (WB). Esta caída también fue verificada en el sistema modelo (MS) (52.08%), lo que demostró la adecuación de la adaptación propuesta. Con respecto a la proteína residual, se verificó que los cálculos adaptados provocaron una reducción de 42.15% (RB), 52.19% (WB) y 42.11% (MS), cuando fueron comparados con el método original. Así, las condiciones propuestas se mostraron eficientes para disminuir los niveles de interferencia (ocasionada por almidón y proteína no digeribles) en el cálculo de la fibra dietética de salvado de arroz y trigo.

**Palabras clave:** Fibra dietética, determinación enzimática, salvado de arroz, salvado de trigo.

### INTRODUCTION

A great concern of professionals in the area of Nutrition and Food Science nowadays is related to the adequate consumption of dietary fiber (1). Thus there is a necessity to obtain quantitative and qualitative data about its presence in food. The information about fiber presents controversies in many research areas such as in nomenclature, related illnesses, recommended quantities and terminology, mainly because of lack of analytical data.

The inadequate use of techniques in the determination of

the fiber content of a specific food may result in damage to the human organism. For example, in the analysis of beans, it was found that the fiber content obtained by acid and alkaline digestion is much smaller than that called "dietary fiber" or "physiological fiber" obtained after enzymatic digestion with evident implications in the calculation of the caloric value of that food (2).

It is known that part of the starch associated with the fiber fraction called "resistant starch" and which is difficult to analyze, may be metabolized by bacteria in the large intestine producing short chain fatty acids which take part in the energy

metabolism of the enterocyte and show constant action in the control of the intestinal pH and in the cellular proliferation of the mucosa (2,3).

The analytical evaluation of this fraction and the knowledge of its distribution in vegetable food and its physiological action when present in diets are necessary for the elaboration of fiber rich products, since the consumption of fiber rich food has recently grown indiscriminately.

The enzymatic-gravimetric method, developed by Hellendoorn et al. (4) and later modified by Asp et al. (5), and more recently by Prosky et al. (6), determines the total content of the fiber fraction of the food. Although its execution is very fast when compared with others methods, and this method does not allow for the complete isolation of each component, although it can determine the soluble and insoluble fractions separately.

On a national level, few studies about the dietary fiber content of Brazilian food have been developed. The work of Filisetti-Cozzi & Lajolo (7) can be mentioned as a contribution to the elaboration of a system of reliable data about the total fiber content of Brazilian foods.

This work belongs to a research string that studies the exploitation of by-products of agroindustries (particularly rice and wheat bran) in the southern region of Rio Grande do Sul (Brazil) and was intended to evaluate the dietary fiber of the same ones. As there were no enzymes and no materials recommended for the official method (6), this research was a further modification of Asp et al. (5)'s enzymatic method proposed for application to rice and wheat bran. Such a method was adjusted better for our laboratory conditions, obtaining satisfactory results as well as that of diminishing the content of indigestible starch which is the main problem with this kind of matrix.

Deffated rice bran was used initially, because it shows a great potencial as a food ingredient when compared to wheat bran, which is already very much use, and also because it is abundant in the region.

Basically the modifications were made in the conditions used for enzymatic hydrolysis for in the gravimetric procedures, enzymatic and chemical stages were being used which extracting compounds which are not part of the fiber fraction (8).

## MATERIAL AND METHODS

### Reagents

The following reagents were used according to A.O.A.C. (9): phosphate buffer 0.1 M (pH 6.0), 95% ethanol, 78% ethanol, acetone p.a., HCl (1:1), NaOH (1:1), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,0099 N) HCl, 15% potassium ferrocyanide, 30% zinc sulfate, Fehling A and B solutions, 1% fenolfalein, methylene blue solution and distilled water.

### Enzymes

The following enzymes were used: Termamyl ( $\alpha$ -amylase) 1:10 (120 L - NOVO - 120 KNU/g), Amyloglucosidase 1:10 (NOVO - 300 AGU/ml), Pepsin (Riedel de Haëneg-Seelze-Hannover-10000 E/g) and Pancreatin (MERCK - 0.1 m Ansom - Protease E/mg; 7.5 FIP - Lypase U/mg; 10 Amylase U/mg).

### Samples

The samples of deffated rice bran (RB) (*Oryza sativa*, L.) were obtained directly from a local rice processing plant, and the samples of wheat bran (WB) (*Triticum aestivum*, L.) were obtained from a wheat mill, in Rio Grande, Rio Grande do Sul (Brazil).

These samples were first sifted to remove chucks and dirt. After sifting, the samples were homogenized by crushing and sifted again. They were then packed and stored in freezers at -20°C.

To test the efficiency of the new method, a model system (MS) was made up from the chemical composition of the deffated rice bran, with the same granulometry of others samples and is described in Table 1.

TABLE 1  
Proximate Composition (g/100 g) of Model System

Moisture	13.6	Endogenous humidity of each component
Protein	14.8	7.375 g of bovine albumin and 7.375 g of casein
Lipid	2.8	2.7 g of soya oil
Starch	36.4	36.4 g fo commercial corn starch
Insoluble fiber	26.1	26.1 g of grounded filter paper
Soluble fiber	4.5	4.5 g of pectin powder
		1.39 g of P; 1.31 g of K; 0.035 g of Ca; 0.88 g of Mg;
Ash	10.9	0.0044 g of Na; 0.10253 g of Fe; 0.05445g of Mn; 0.0042 g of Cu; 0.04047 g of Zn

The quantities of each component of the ash were calculated according to Alencar & Alvarenga (11).

## METHODOLOGY

The centesimal composition of the samples were made in triplicate and determined according to the A.O.A.C. (9) procedures for moisture, ash, protein, lipid and raw fiber.

The method described by Asp et al. (5) was used as the standard method. This uses a rapid system of enzymatic assays in the quantification of soluble and insoluble dietary fiber, with some adaptations specific to our laboratory. Based on the standard method, sucessive changes were made with respect to the incubation time and the inclusion fo other amylolitic enzyme in the process (Table 2).

TABLE 2  
Modifications to the enzymatic method of Asp et al. (5)

Methods	Changes
Standar	2 ml of Termamyl (15 min.) 400 mg of Pepsin (60 min.) 400 mg of Pancreatin (60 min.)
First Modification	The amount of enzymes were doubled 2 ml of Termamyl (15 min.) 800 mg of Pepsin (60 min.) 800 mg of Pancreatin (60 min.)
Second Modification	Amyloglucosidase was added to the system 2 ml of Termamyl (15 min.) 2 ml of Amyloglucosidase (30 min.) 800 mg of Pepsin (60 min.) 800 mg of Pancreatin (60 min.)
Third Modification	Termamyl action time was increased 2 ml of Termamyl (30 min.) 2 ml of Amyloglucosidase (30 min.) 800 mg of Pepsin (60 min.) 800 mg of Pancreatin (60 min.)
Fourth Modification	The enzymes were solubilized 2 ml of Termamyl (30 min.) 2 ml of Amyloglucosidase (30 min.) 5 ml of Pepsin (60 min.) 5 ml of Pancreatin (60 min.)
Fifth Modification	Amyloglucosidase action time were increased 2 ml of Termamyl (30 min.) 2 ml of Amyloglucosidase (60 min.) 5 ml of Pepsin (60 min.) 5 ml of Pancreatin (60 min.)

The different combinations of time, temperature, pH and enzyme concentrations were chosen by a preliminary study of enzymatic activity for each enzyme according A.O.A.C. (9). The specific activity was: for Termamyl (21 µg product/min.µg protein) and for Pancreatin (2,4 µg product/min.µg protein). For Termamyl, the ideal incubation temperature/time is 95°C/15 min. Thus, the utilization of incubation temperature of 70°C was used to increase the incubation time (30 min.) and not to cause its denaturation.

The soluble and insoluble fiber fractions in the rice and wheat bran and model system samples were made in triplicate and quantified according to the following procedure: First, 1 g of sample was dissolved in 25 ml of phosphate buffer solution (0,1M- pH 6.0); 2 ml of Termamyl solution (1:10) was added, and the mixture was incubated in a water bath (70°C) for 30 minutes with occasional stirring; 2 ml of Amyloglucosidase (1:10) was then added and incubated in a

water bath (60°C) for 30 minutes with constant stirring. When cool, the pH was adjusted to 1.5 with HCl 1:1 and 5 ml of pepsin (160 mg/ml) was added and incubating in water bath at 40°C with stirring for 60 minutes. The pH was then adjusted to 6.8 with NaOH, 5 ml of pancreatin was added and the mixture incubated in water bath (40°C) with stirring for 60 minutes. The pH was adjusted to 4.5 with HCl 1:1, and the contents allowed to sediment for 1 hour, before being filtered in a previously weighed sintered glass crucible (ASTM porosity 4.4 - 5.0, 50 ml Pyrex, CORNING N° 32940 GOOCH). The precipitate was washed twice with 10 ml of distilled water, twice with 10 ml of 95% ethanol and twice with 10 ml of acetone. It was then dried at 105°C to constant weight and incinerated at 550°C for at least 5 hours, and weighed again after being cool in the desiccator, thus obtaining the value of insoluble fiber. The filtrate was collected in a beaker and completed to 100 ml with distilled water; 400 ml of 95% ethanol were then added and incubated in water bath at 60°C for one hour. The mixture was then filtered in a previously weighed crucible, washed twice with 10ml of 78% ethanol, twice with 10 ml of 95% ethanol and twice with 10 ml of acetone before drying to constant weight at 105°C and finally incinerated at 550°C for at least 5 hours and then cooled in the desiccator to obtain the value of soluble fiber.

#### Determination of indigestible protein and starch

The bran samples were separated at the end of each filtration, and dried in an oven (105°C) for an hour before determining protein and starch.

The total nitrogen content was dosed according to the microkjeldahl method, methodology described by A.O.A.C. (9), using a factor of 5.95 (for cereals) for the protein calculation. Starch was determined according to the methodology described by A.O.A.C. (9).

## RESULTS AND DISCUSSION

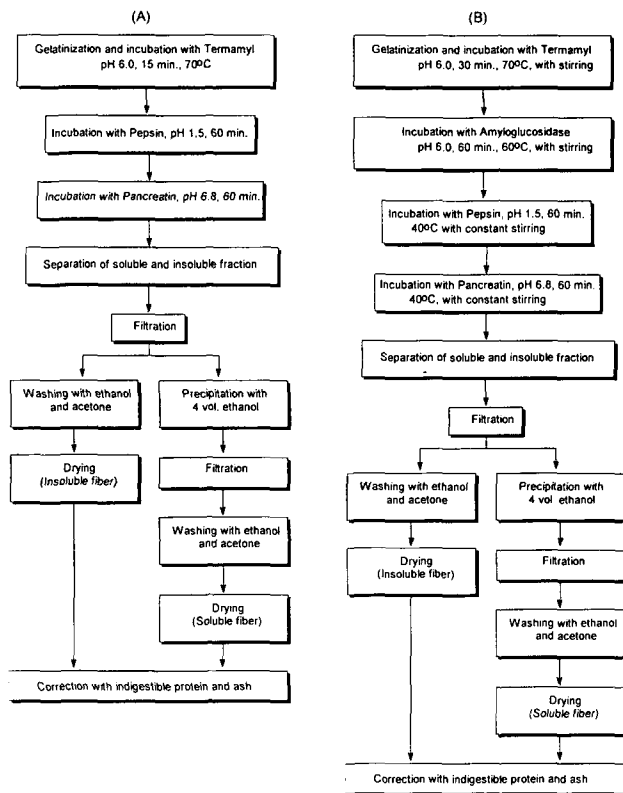
The centesimal composition (moist base) of the rice and wheat bran are in agreement with the literature as shown in Table 3.

TABLE 3  
Proximate composition (g/100 g) of rice bran (RB) and wheat bran (WB)

Components	Rice Bran	Wheat Bran
Moisture	13.55 ± 1.43	13.96 ± 0.51
Ash	10.92 ± 0.71	4.92 ± 0.47
Protein $\pi$	14.75 ± 0.80	13.73 ± 0.75
Lipid	2.68 ± 0.18	6.84 ± 0.34
Starch	36.40 ± 0.82	40.97 ± 0.32
Crude Fiber	7.10 ± 0.17	7.08 ± 0.15

To get a better view of the proposed procedure and to have a comparison to the original method, the main stages are described in the following flowsheet (Fig. 1).

FIGURE 1  
Simplified flowsheet of (A) original method of Asp et al. (4) and (B) proposed method (fifth modification)



The results for the contents of soluble and insoluble fiber, residual starch and protein of the rice bran, wheat bran and model system are presented in Table 4 and 5.

It was verified that the first modification of the method did not affect the results for the total contents of dietary fiber of the bran samples, which changed from 39.6 g/100 g to 38.9 g/100 g (RB) and from 47.4 g/100 g to 45.1 g/100 g (WB). However, when a new enzyme system (Amyloglucosidase) was added (second modification), a decrease in the content of total dietary fiber was observed giving values of 34.8 g/100 g and 43.7 g/100 g, results already obtained by Prosky et al. (6).

TABLE 4  
Soluble and insoluble fiber (g/100 g). Original and proposed methods

Methods	Rice Bran	Wheat Bran	Model System
ASP et al (5)	IF: 35.43±0.36 SF: 4.16±0.07 TF: 39.59±0.42 (c.v. =1.06)	IF: 40.01±0.05 SF: 7.35±0.02 TF: 47.36±0.05 (c.v. = 0.13)	IF: 36.41±0.35 SF: 5.48±0.58 TF: 41.89±0.85 (c.v. = 2.03)
First modification	IF: 31.03±0.66 SF: 7.91±0.16 TF: 38.94±0.62 (c.v. = 1.59)	IF: 38.01±0.48 SF: 7.11±0.21 TF: 45.13±0.34 (c.v. = 0.75)	-
Second modification	IF: 26.62±0.08 SF: 8.24±0.38 TF: 34.86±0.45 (c.v. + 1.29)	IF: 36.68±0.08 SF: 7.07±0.21 TF: 43.75±0.29 (c.v. = 0.66)	-
Third modification	IF: 26.54±0.30 SF: 6.26±0.22 TF: 32.80±0.33 (c.v. = 1.01)	IF: 36.13±0.30 SF: 5.31±0.12 TF: 41.44±0.42 (c.v. = 1.01)	-
Fourth modification	IF: 26.15±0.05 SF: 5.57±0.34 TF: 31.71±0.29 (c.v. = 0.91)	IF: 30.26±0.05 SF: 5.64±0.17 TF: 35.90±0.67 (c.v. = 1.87)	-
Fifth modification (proposed)	IF: 26.14±0.09 SF: 4.52±0.04 TF: 30.66±0.05 (c.v. = 0.16)	IF: 29.84±0.41 SF: 5.13±0.17 TF: 34.97±0.05 (c.v. = 1.43)	IF: 27.07±0.30 SF: 5.52±0.28 TF: 32.59±0.56 (c.v. = 1.72)

IF= Insoluble fiber; SF = Soluble fiber; TF = Total dietary fiber; c.v. = Coefficient of variation

TABLE 5  
Indigestible protein\* and starch\* before and after last modification

Methods	Rice Bran		Wheat Bran		Model System	
	Protein	Starch	Protein	Starch	Protein	Starch
Asp et al. (1983)	10.25	15.00	9.58	17.23	9.00	12.50
Fifth modification	5.93	7.30	4.58	8.11	5.21	5.99

\* g/100 g of indigestible residue

Due to the fact that these samples are rich in starch, 36.4 g/100 g (RB) and 41 g/100 g (WB), the inclusion of this enzyme in the proposed methodology contributed to the decrease in the content of indigestible starch at the end of the experiment, as mentioned in the literature.

To increase the efficiency of the enzyme system, other changes were made with respect to incubation time and

enzyme concentration since proteins also contribute greatly to the determined high values of fiber.

In the fifth modification a decrease of 51.33% of the starch content was noted in RB and of 52.93% in WB. This decrease was also verified in the model system (52.08%), which demonstrates the adequacy of the proposed methodology. Under these conditions, the interferences by the residual content became more acceptable for the gravimetric determinations.

With respect to the indigestible protein, it was verified that the measures adopted caused a reduction of 42.15% (RB), 52.19% (WB) and 42.11% (SM) as compared to the original method.

It can be considered that the remaining mass, after correction for compounds not totally removed, such as digested protein and starch, corresponds to the dietary fiber, as stated by Filizetti-Cozzi (8); since it is considered that in the digestive process all starch, and protein are barely digested in highly rich fiber matrices.

### CONCLUSIONS

The inclusion of a new enzyme and the increase in incubation time and concentration of each enzyme, have been shown to be efficient in decreasing the level of interference (*in vitro* indigestible starch and protein) in the quantification of dietary fiber.

The level of confidence of the proposed methodology was confirmed by the use of the model system.

The values obtained for dietary fiber in the bran were 17.43 g/100 g (RB) and 22.28 g/100 g (WB).

### ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to express their gratitude to Mrs. Arlete Würsching Gonçalves for her technical English assistance and careful reading of the manuscript.

### REFERENCES

1. Sánchez-Castillo CP, Dewey PIS, Bourger H & James PT. Dietary fiber, What it is and How it is measured. Archivos Latinoamer Nutr, 1994;44(2):68-75.
2. Lajolo FM. Composição de Alimentos. Bol. SBCTA, 1995;29(1):57-69.
3. Potty VH. Physio-chemical aspects, physiological functions, nutritional importance and technological significance of dietary fibres - A critical appraisal. J Food Sci Tech, 1996;33(1):1-18.
4. Hellendron EW, Noordheff MG & Slagman J. Enzymatic determination of the indigestible residue content of human food. J Sci Food Agric, 1975;26:1461-1469.
5. Asp NG, Johansson CG, Hallmer H & Siljeström M. Rapid Enzymatic Assay of Insoluble and Soluble Dietary Fiber. J Agric Food Chem, 1983;31:476-482.
6. Prosky L, Asp NG, Schweizer TF, De Vries JW & Furda I. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: Collaborative Study. J Assoc Off Anal Chem Int, 1992;75(2):360-367.
7. Filizetti-Cozzi TMCC & Lajolo FM. Fibra alimentar insolúvel, solúvel e total em alimentos brasileiros. Rev Farm Bioquím, Universidade de São Paulo, 1991;27(1):83-99.
8. Filizetti-Cozzi TMCC. Controversies in the determination of dietary fiber. In: International Symposium of Latin American and Caribbean Section - A.O.A.C. International. São Paulo, Brazil, 1995, June 22-23, Round Tables.
9. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. 16a. ed., Washington, D.C. 1995.
10. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 3a. ed., São Paulo:IAL, 1985, 533p.
11. Alencar MLCBB & Alvarenga MG. Farelo de arroz (I). Composição química e seu potencial como alimento. Arq Biol Tecnol, 1991;34(1):95-108.

Recibido: 15-12-1997

Aceptado: 31-07-1998

## Avaliação da composição em aminoácidos de *Pleurotus* spp. cultivados em folha de bananeira

Marcia Regina T. de Camargo Ranzani, Gilma L. Sturion

Universidade de Campinas, Brasil

**RESUMO.** A qualidade da proteína de cogumelos, além de ser específica para a espécie/linhagem, pode variar também com o substrato de cultivo. Esse estudo teve por objetivo determinar a composição em aminoácidos da proteína dos cogumelos comestíveis - *Pleurotus* sp. «Florida» (L1), *P. ostreatoroseus* (L2) e *P. sajor-caju* (L3), cultivados em folha de bananeira (PB) unicamente e, esta misturada ao bagaço de cana (PBBC). Foram avaliados os aminoácidos totais, cistina e triptofano; calculou-se o escore químico e o PDCAAS - "protein digestibility-correct amino acid scoring". As espécies estudadas apresentaram todos os aminoácidos essenciais, de ambos substratos; os aminoácidos presentes em maiores quantidades foram, em ordem decrescente, ácido glutâmico, ácido aspártico, leucina e lisina. O escore químico da proteína de L1 foi de 90,4, com limitação em sulfurados e aromáticos no substrato PB e, no PBBC, o escore químico foi de 88,7 com limitação em aromáticos. O escore químico de L2 e L3 foi igual 100, independente do substrato de cultivo. O PDCAAS calculado, considerando-se 90% de digestibilidade recomendado, variou entre 80,0 a 96%. As proteínas de L1 apresentaram-se limitantes em sulfurados e aromáticos e com menor valor de PDCAAS ( $\approx 80,0$ ) nos dois substratos empregados; a proteína de L3 apresentou limitação em aromáticos, sulfurados e triptofano dependendo do substrato de cultivo; as proteínas de L2 apresentaram o maior valor de PDCAAS (96%) e limitação em aromáticos e/ou sulfurados, dependendo do substrato de cultivo. Considerando-se as condições desse estudo, a proteína das espécies estudadas é incompleta porém de alto valor biológico, comparáveis à da carne.

**Palavras-chave:** Composição em aminoácidos, cogumelos comestíveis, *Pleurotus* spp., substrato, folha de bananeira.

**SUMMARY.** Amino acid composition evaluation of edible mushrooms (*Pleurotus* spp.) cultivated on banana leaves. The protein quality of edible mushrooms besides being species/strain specific, could also vary with the growth substrate. The aim of this work was to determine the amino acid composition of the protein from edible mushrooms - *Pleurotus* sp. «Florida»(L1), *P. ostreatoroseus* (L2) and *P. sajor-caju* (L3), cultivated on banana leaves (BL) single and, mixed with sugar cane bagasse (BLSCB). Total amino acids, cystine and tryptophan were evaluated; the chemical score index and PDCAAS - "protein digestibility-correct amino acid scoring" were calculated. From both substrates, the studied species contain all essential amino acids; in decreasing order, the amino acids in great amounts were glutamic acid, aspartic acid, leucine and lysine. The L1 chemical score was 90.4, with limitation in sulfur and aromatic aminoacids when from BL substrate; and, from BLSC substrate the chemical score was 88.7 with limitation in aromatics only. The L2 and L3 was 100.0, independent of cultivation substrate. The calculated PDCAAS value, considering 90% of recommended digestibility, varied between 80.0 - 96%. The L1 proteins were limiting in sulfur and aromatic amino acids and had the lowest value of PDCAAS ( $\approx 80,0$ ) in both substrates; the L3 proteins were limiting in aromatic, sulfur and tryptophan, dependent of cultivation substrate; the L2 proteins had the greatest value of PDCAAS ( $\approx 96\%$ ) and were limiting in aromatic and/or sulfur amino acids, dependent of cultivation substrate. Considering the conditions of this study, the protein of the studied species is incomplete, although of high biological value, comparable to meat.

**Key words:** amino acid composition, edible mushrooms, *Pleurotus* spp., substrate, banana leaves.

### INTRODUÇÃO

A produção de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* passou do 6° lugar da produção mundial em 1983-84 para o 2° na década de 90 (1). Várias espécies deste fungo da podridão branca da madeira são encontradas por todo o mundo, sendo apreciadas particularmente na Europa e na Ásia (2). Na Europa, este cogumelo é popularmente conhecido como «oyster mushrooms», no oriente como hiratake e, determinadas espécies, sob condições especiais de cultivo, têm sido chamadas de shimeji. No Brasil é também conhecido como cogumelo

gigante ou caetetuba (3).

Na última década dado ao aumento de sua popularidade passou a ser mais extensivamente cultivado naqueles continentes em países tais como Itália, Alemanha, Holanda, Bélgica, China, Japão, Taiwan, Índia, Singapura, Tailândia e, seu cultivo alcançou países tais como a Nigéria, México, Canadá e Estados Unidos (2).

No Brasil, uma produção incipiente de *Pleurotus* spp. deu-se na década de 70 porém, em meados da década de 80 também verificou-se um aumento da sua produção decorrente de trabalho de divulgação desse cogumelo comestível aliado ao

fato do aumento no consumo de cogumelos em geral, e da necessidade de importação desses pela América do Sul (3).

Embora, mundialmente, cogumelos comestíveis do gênero *Agaricus* sejam os mais cultivados (2,3), o grande interesse nas espécies de *Pleurotus* está relacionado com as facilidades de cultivo desse cogumelo quando comparadas ao primeiro. Entre elas citam-se a existência de espécies que crescem bem em áreas tropicais e subtropicais o que resulta em menor dispêndio de energia; apresentam uma produtividade maior e de menor custo e, crescem numa grande variedade de resíduos agrícolas e industriais graças à produção de enzimas lignocelulolíticas (4). No Brasil, *Pleurotus* spp. têm sido cultivado com sucesso em bagaço de cana (3) e novos substratos agroindustriais vêm sendo avaliados (5).

Quanto a seu valor nutricional, equipara-se ao de outros cogumelos, sendo mais ricos em vitaminas hidrossolúveis que a maioria dos vegetais bem como em proteínas de melhor qualidade (6). *Pleurotus* spp. têm baixo teor de gordura, nenhum colesterol, não contém amido, são boas fontes de vitaminas do complexo B principalmente niacina, riboflavina e ácido fólico, são ricos em minerais especialmente potássio e ferro e, têm baixo teor de sódio (4). Consequentemente, são considerados um alimento ideal para diabéticos e outras dietas especiais (4,6).

De um modo geral, embora a proteína de cogumelos possua os nove aminoácidos essenciais, sendo especialmente rica em lisina e leucina, é classificada como incompleta porque, no caso de *Pleurotus* spp., tem baixo teor de aminoácidos sulfurados e aromáticos quando comparada com a proteína do ovo (4). Todavia, a qualidade da proteína de cogumelos, além de ser específica para espécie são específica para a linhagem, é determinada também pelo substrato de cultivo dada a influência que esses fatores exercem no teor da proteína e na sua composição em aminoácidos (4,7). Assim sendo, alguns cogumelos são considerados de alto valor nutritivo com escores protéicos próximos ao do leite (6,7) podendo sua utilização ser recomendada como fonte de proteína desde que suplementada ou complementada (8).

Portanto, com o aumento do interesse na produção e consumo de *Pleurotus* spp., da possibilidade de produzir-se proteína de qualidade com menor dispêndio de terras e maior eficiência biológica do que proteínas de fontes animais com o emprego de resíduos agroindustriais, o objetivo deste estudo foi determinar a composição em aminoácidos de três espécies de *Pleurotus* cultivadas em palha de folha de bananeira e esta misturada ao bagaço de cana.

## MATERIAL E MÉTODO

**Culturas:** as espécies estudadas foram *Pleurotus* sp. «Florida» (001), *P. ostreatoroseus* (016) e *P. sajor-caju* (020), fornecidas pela Seção de Micologia do Instituto de Botânica de São Paulo. No trabalho estão identificadas como L1, L2 e L3, respectivamente, de acordo com Sturion & Oetterer (9).

**Cultivo:** a manutenção das culturas e produção do micélio bem como preparo dos substratos e condições de cultivo estão descritos em Sturion & Oetterer (9). Os substratos empregados foram palha de folha de bananeira (PB) e, PB misturada ao bagaço de cana (PBBC, 50:50 em peso seco), previamente picados, reumedecidos (maceração 12 horas) e pasteurizados em vapor fluente a 80-90°C/1 hora. Após resfriamento os substratos foram colocados em sacos de polietileno e inoculados; a corrida do micélio fez-se em ambiente com temperatura controlada (24-25°C) na ausência de luz e ocorreu por completo em 30-40 dias; no período de frutificação a umidade relativa e a temperatura foram controladas, 85-90% e 28-30°C, respectivamente, assim como a luminosidade com um fotoperíodo de 12 horas.

**Colheita e preparo das amostras de cogumelos para análises químicas:** estabeleceu-se o limite de 100 dias de cultivo (inclusive o tempo para corrida do micélio), procedendo-se à colheita de todos os fluxos no período de frutificação. Os corpos de frutificação (incluindo a estipe) colhidos, após 3 a 5 dias da saída dos primórdios, foram pesados em balança eletrônica, secos em estufa de circulação de ar forçado a temperatura de 55±5°C por 24 horas, pesados novamente, moídos em moinho de facas, embalados em sacos de polietileno e armazenados, em vidros hermeticamente fechados, sob refrigeração a 5±2°C (9,10). As determinações do nitrogênio e composição centesimal destas amostras de cogumelos foram executadas por Sturion & Oetterer (10). Estas mesmas amostras foram cedidas e avaliadas na sua composição aminoacídica.

## Análises

- a. **Determinação de aminoácidos totais** (exceto cistina e triptofano), executada da seguinte forma, de acordo com Moore & Stein (11): O preparo da amostra foi feito a partir do material (cogumelo) seco e a hidrólise ácida foi executada com HCl 6 N em ampolas seladas à vácuo, durante 22 horas a 110°C. O HCl foi removido em dessecador contendo pastilhas de NaOH. Após secagem, a amostra foi suspensa em tampão citrato, convenientemente diluída e filtrada por membrana de 0,22 µm. A amostra preparada dessa forma foi avaliada para todos os aminoácidos protéicos, exceto cistina e triptofano que são totalmente destruídos durante a hidrólise. A análise da amostra foi feita em autoanalisador de aminoácidos (cromatografia de troca iônica, marca Beckman, modelo 7300), segundo instrução do fabricante para análise do hidrolisado protéico. A identificação e quantificação de cada aminoácido foi feita por comparação dos tempos de retenção e integração da área debaixo de cada pico, em integrador Hewlett Packard 3398A, com áreas obtidas a partir de uma mistura padrão de aminoácidos.
- b. **Determinação da cistina:** foi determinada de acordo com a seguinte metodologia visando a preservação desse aminoácido: de cada amostra foram pesadas o equivalentes

te a 25 mg as quais foram hidrolisadas, à vácuo, com 10 ml de HCl 6,0 N, à temperatura de 140°C por 4 horas. As amostras foram recuperadas em diluente pH 2,2 (marca Pickering). Alíquotas de 25 ml foram injetadas no analisador Dionex DX 300 para separação dos aminoácidos em coluna de troca iônica e reação pós-coluna com ninidrina, usando-se como referência solução padrão de aminoácidos Pierce, segundo Spackman, Stein e Moore citados por Sales (12).

c. **Triptofano:** após hidrólise enzimática da proteína de cogumelo com pronase, o triptofano presente foi determinado por colorimetria segundo metodologia descrita por Spies (13).

**Escore químico**

O escore químico da proteína ou escore protéico (mg do aminoácido essencial em 1 g da proteína em estudo/mg do mesmo aminoácido em 1 g da proteína padrão X 100) foi calculado para os 9 aminoácidos essenciais empregando-se o padrão de necessidades de aminoácidos essenciais da criança pré-escolar estabelecido pela FAO/WHO/UNU (1985)(14).

O escore químico da proteína é obtido considerando-se os valores acima de 100 igual a 100; valores abaixo de 100 são mantidos e o menor valor encontrado determina o aminoácido mais limitante, o qual oferece uma estimativa do valor biológico ou nutritivo da proteína em estudo em relação à proteína de referência empregada (15).

Nesse estudo o escore químico obtido está apresentado sem a correção para os aminoácidos que obtiveram valores acima de 100 pois, para o cálculo do PDCAAS recomenda-se o emprego do escore químico não-corrigido (16).

**PDCAAS**

A FAO/WHO (17) recomenda o emprego do índice PDCAAS (“Protein Digestibility - Corrected Amino Acid Scoring”) como método de rotina mais desejável na avaliação da qualidade de proteínas de produtos vegetais (e outros produtos alimentícios). O PDCAAS é obtido corrigindo-se o escore químico pela digestibilidade verdadeira da proteína. Proteínas com PDCAAS igual a 1,0 ou 100 são de alta qualidade e completas, atendendo às necessidades humanas em aminoácidos. Proteínas com PDCAAS menor que 1,0 ou 100 são consideradas de menor qualidade ou por apresentarem perfil de aminoácidos essenciais menor que as necessidades do grupo de crianças de 2-5 anos e/ou existirem menores taxas de digestibilidade (16).

O cálculo do PDCAAS obedece os seguintes procedimentos (16):

- 1° Análise da composição aproximada de nitrogênio;
- 2° Cálculo do teor de proteína (N x 6,25 ou fator de conversão específico);

- 3° Análise de aminoácidos essenciais;
- 4° Determinação do escore químico (não-corrigido)- EQ<sub>nc</sub>:  
EQ<sub>nc</sub> = mg do aminoácido essencial em 1 g da proteína/ mg do aminoácido essencial em 1 g de proteína de referência\*
- 5° Análise da digestibilidade verdadeira;
- 6° Cálculo do PDCAAS:  
PDCAAS = escore químico menor não-corrigido X digestibilidade verdadeira da proteína.

A digestibilidade verdadeira de um alimento deve ser determinada por ensaios com animais (17). No entanto, a FAO/WHO (17) permite a utilização de dados publicados de digestibilidade verdadeira para estimar-se o PDCAAS de alimentos definidos e quando os propósitos relacionam-se à rotulagem de valores nutricionais dos alimentos em questão (16, 17).

De acordo com a lista de alimentos publicada por Shapiro (18), onde são dados os valores aceitáveis de digestibilidade verdadeira para propósitos de rotulagem, a digestibilidade verdadeira para cogumelos é de 90%; valor adotado para o cálculo do PDCAAS neste trabalho.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os teores de nitrogênio para as espécies de *Pleurotus* cultivadas em palha de folha de bananeira (PB) e em PB mais bagaço de cana (PBBC), foram determinados por Sturion & Oetterer (10) pelo método Kjeldahl. A seguir, na Tabela 1, estão compilados os valores de N e o teor protéico encontrado por aqueles pesquisadores que empregaram o fator de conversão N x 4,38 (4,6,7,19).

TABELA 1  
Teor de nitrogênio e proteína bruta das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, conforme substrato de cultivo (PB, PBBC)<sup>b</sup>

Constituintes	PB			PBBC		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3
Nitrogênio	5,5	4,4	4,4	4,0	4,0	4,4
Proteína (Nx4,38)	24,1	19,3	19,1	17,4	17,4	19,4

- a L1= *P. “Florida”* sp; L2= *P. ostreatoroseus*; L3= *P. sajor caju*
- b PB = palha de folha de bananeira; PBBC = PB + bagaço de cana (BC)

Fonte: Sturion & Oetterer (10).

Os teores de proteína bruta encontrados por Sturion & Oetterer (10) nas amostras de *Pleurotus* estudadas variaram de 17,4 a 24,1.

Os teores de proteína bruta de cogumelos em geral podem

\* FAO/WHO (1985).

variando de 8,9 a 38,7%, em base seca (4), e segundo Lau (20) de 15,0 a 50,0. Em média 19,8% é o esperado, empregando-se o fator de conversão  $N \times 4,38$  (6).

O emprego do fator de conversão  $N \times 4,38$  que vem sendo recomendado (4,6,7,21) representa 70% do valor  $N \times 6,25$  que superestima o teor de proteínas de cogumelos em geral devido a alta concentração de nitrogênio não-protéico, principalmente da quitina (4,6,7,22) além de outros compostos nitrogenados tais como uréia e nucleotídeos, entre outros (23,24). A redução para 70% é uma média estimada da proteína bruta digerível para o teor de nitrogênio protéico presente em cogumelos (4,7,23), principalmente quando o nitrogênio foi determinado pelo método Kjeldahl, que quantifica o nitrogênio total (23). Essa redução, no entanto, não invalida a premissa de que os cogumelos têm teor de proteína maior que muitos vegetais (23).

De acordo com FAO/WHO/UNU (14) o fator de conversão  $N \times 6,25$  é um fator apropriado quando se pretende relacionar a ingesta protéica com as necessidades recomendadas pois este é o fator empregado na determinação dos padrões de necessidades protéicas.

No entanto, quando se pretende fazer uma comparação precisa da composição em aminoácidos dos alimentos, a FAO/WHO/UNU (14) recomenda a utilização de fatores de conversão específicos de nitrogênio que foram determinados para alguns alimentos.

Na Tabela 2 encontram-se os dados obtidos dos aminoácidos detectados e quantificados nas espécies de *Pleurotus* estudadas relacionados aos seus respectivos substratos de cultivo. As espécies de *Pleurotus* estudadas possuem todos os aminoácidos essenciais bem como aminoácidos não essenciais e compostos nitrogenados, tal como a amônia, detectada pelo método empregado. Os teores de amônia encontrados foram: 3,13; 3,20; 2,65; 2,90; 3,05; e 2,97 para PBL1, PBL2, PBL3, PBBCL1, PBBCL2 e PBBCL3, respectivamente.

Os valores para aminoácidos totais recuperados para as espécies de *Pleurotus* estudadas estiveram entre 100,00 a 115,16%. De acordo com Lanfer Marquez (25) recomenda-se que a recuperação de aminoácidos totais esteja entre 85 a 105%, desde que a amostra contenha um teor de nitrogênio não protéico desprezível. Esse não é o caso dos cogumelos como já discutido anteriormente. Segundo Lanfer Marquez (25) valores diferentes dessas porcentagens podem resultar do emprego de um fator de conversão não apropriado para sua proteína, super ou subestimando o valor da mesma.

Desta forma o teor de proteína das amostras de *Pleurotus* estudadas, que apresentaram valores de aminoácidos recuperados acima de 105%, podem estar sendo subestimados. Embora o fator de conversão  $N \times 4,38$  para cálculo protéico seja recomendado, segundo Danell & Eaker (23) o valor de conversão do nitrogênio para cálculo da proteína de cogumelos pode ser diferente entre as espécies devido à variação no teor de quitina, amônia e outros compostos nitrogenados não-

protéicos, fato esse investigado e confirmado por Fujihara et al. (26) que encontrou um valor médio para o fator de conversão de  $3,99 \pm 0,76$ , após estudo com vários cogumelos comestíveis, inclusive *Pleurotus ostreatus*. Tshinyangu & Hennebert (28) propõe o valor de conversão 6,58 considerando-se apenas o nitrogênio protéico ( $N$  total- $N$  da quitina, este último da ordem de 0,34% em peso seco).

TABELA 2  
Composição em aminoácidos das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, conforme substrato de cultivo (PB,PBBC)<sup>b</sup>

Aminoácidos <sup>c</sup> (g/100 g de proteína, em p.s.)	L1		L2		L3	
	PB	PBBC	PB	PBBC	PB	PBBC
Leucina	7,93	8,24	8,74	8,50	8,30	9,46
Isoleucina	3,84	3,99	4,31	4,32	4,23	4,64
Valina	5,25	5,41	5,80	6,21	5,57	5,56
Triptofano	1,39	1,62	1,50	1,58	1,56	1,13
Lisina	7,55	7,53	8,69	9,03	7,42	7,83
Treonina	5,46	5,63	6,33	6,22	5,84	5,53
Fenilalanina	4,20	4,07	4,76	4,71	4,66	5,09
Tirosina	2,00	1,52	2,01	2,12	2,03	2,70
Metionina	1,98	2,09	2,20	2,10	2,08	2,23
Cistina	0,28	0,46	0,64	0,59	0,47	0,51
Histidina	2,69	2,57	2,83	2,86	2,57	2,82
Total de aminoácidos essenciais <sup>d</sup>	42,57	43,13	47,20	48,24	44,73	47,50
Acido aspártico	10,38	10,93	11,81	12,26	12,18	11,82
Serina	5,23	5,47	5,99	5,99	5,37	5,38
Acido glutâmico	19,36	18,56	22,58	21,44	19,66	21,66
Prolina	4,54	4,51	4,84	4,66	4,83	4,71
Glicina	4,85	4,97	5,56	5,67	5,33	5,42
Alanina	6,10	6,50	7,54	7,93	6,73	7,23
Arginina	6,97	5,77	9,64	6,96	7,39	7,24
Total de aminoácidos <sup>e</sup>	100,00	99,84	115,16	113,15	106,22	110,96

a L1= *P. "Florida"* sp; L2= *P. ostreatoroseus*; L3= *P. sajor caju*

b PB=palha de folha de bananeira; PBBC=PB+bagaço de cana (BC)

c Média (de três repetições)

d Média e desvio padrão= 45,663±2,509

e Média e desvio padrão= 107,55±6,62; coeficiente de variação=7,86%

Para todas as espécies estudadas, independente do substrato de origem, os aminoácidos presentes em maior quantidade, em ordem decrescente, foram o ácido glutâmico, o ácido aspártico, a leucina e a lisina. O total de aminoácidos essenciais encontrado está de acordo com os limites percentuais esperados, ao redor de 40%. Dos aminoácidos essenciais presentes

em menores quantidades citam-se a cistina e o triptofano, seguidos da metionina e histidina. Esses resultados estão de acordo com observado por outros pesquisadores (4,19,27,29-31).

Os cogumelos comestíveis possuem todos os aminoácidos essenciais (7,8) bem como não essenciais e amidas que ocorrem comumente (7). Do conteúdo total de aminoácidos, 25-40% representam aminoácidos essenciais, podendo variar dentro de um intervalo de 10-50%. Do total de aminoácidos, aproximadamente 25-35% ocorrem como aminoácidos livres, o restante estando combinado na proteína (7).

Segundo Chang (6,8) a proteína de cogumelos, em geral, é especialmente rica em lisina e leucina (6,8,31) que faltam na maioria dos cereais básicos da alimentação humana. Entre outros aminoácidos detectados nas diferentes espécies de *Pleurotus* em altas concentrações citam-se a treonina, valina, leucina, fenilalanina e lisina (29,31) bem como a isoleucina (27,32). Dos aminoácidos totais os não-essenciais, ácido glutâmico e o aspártico, aparecem em maiores quantidades (19,29,30).

Entre os aminoácidos presentes em menores quantidades citam-se a metionina e fenilalanina (27), a cistina e a metionina (19,27,29,30).

No entanto, de acordo com Crisan & Sands (7) e Kurtzman (24) a comparação entre os resultados da composição química, especialmente teor de proteína e conteúdo aminoacídico, obtidos por diferentes pesquisadores, é difícil de ser avaliado, mesmo em relação a uma mesma espécie, pois esta composição é afetada por inúmeras variáveis. Entre estas incluem-se as diferenças básicas entre linhagens, a composição do substrato de crescimento e o método de análise. Além disso os dados em tabelas de composição de alimentos são frequentemente apresentados em diferentes unidades de medida com base na alta variação de peso fresco ou peso seco, dificultando ainda a comparação dos mesmos (7).

Importante mencionar é que alguns trabalhos não especificam as condições e os substratos de crescimento, os métodos de análise empregados na avaliação da composição em aminoácidos e, na apresentação dos resultados não especificam o total de aminoácidos recuperados.

Na Tabela 3 estão compilados os dados obtidos por outros pesquisadores que exemplificam estas variações na composição aminoacídica nas diferentes espécies de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus*, bem como ilustram as possíveis generalizações em relação aos aminoácidos presentes em maiores e menores quantidades acima mencionados. No rodapé estão compiladas informações quanto ao método de análise, substrato e método de cultivo, quando mencionados nos trabalhos de origem.

TABELA 3  
Comparação da composição em aminoácidos de várias espécies/linhagens de *Pleurotus*

Aminoácidos (g/100 g de proteína, em p.s.)	<i>Pleurotus florida</i>	<i>P. ostreatus</i> cfr. "Florida"	<i>P. sp.</i> cfr. "Florida"	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. sajor-caju</i>		
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)
Leucina	5,27	7,50	5,07	7,74	6,8	7,0	9,47
Isoleucina	3,66	5,20	2,74	4,89	4,2	4,4	5,80
Valina	4,85	6,90	4,44	5,95	5,5	5,3	6,91
Triptofano	0,83	1,10	n.d.	n.d.	1,3	1,2	n.d.
Lisina	6,97	9,90	4,03	6,82	4,5	5,7	8,51
Treonina	4,31	6,40	3,49	5,25	4,6	5,5	6,60
Fenilalanina	2,48	3,50	2,99	4,72	3,7	5,0	5,8
Tirosina	1,89	2,70	2,49	3,89	3,0	6,3	4,65
Metionina	2,15	3,00	1,91	5,51	1,5	1,8	4,58
Cistina	0,20	0,20	1,16	n.d.	0,4	1,2	n.d.
Histidina	1,96	2,80	6,23	n.d.	1,7	2,2	n.d.
Total de aminoácidos essenciais	34,57	46,60	34,55	44,77	37,2	45,6	54,52
Acido aspártico	n.d.	n.d.	7,36	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Serina	n.d.	n.d.	3,99	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Acido glutâmico	n.d.	n.d.	9,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Prolina	n.d.	n.d.	2,49	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Glicina	n.d.	n.d.	3,74	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Alanina	n.d.	n.d.	5,32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Arginina	2,24	3,20	5,03	n.d.	5,3	6,2	n.d.

n.d. = não determinado

(a): Bano et al. (27); (a)-substrato não citado; análise quantitativa de aminoácidos = Ensaio microbiológico de acordo com Barton-Wright, 1952; (g)-substrato = palha de trigo; análise quantitativa de aminoácidos = Ensaio microbiológico de acordo com Barton-Wright, 1952).

(b,e,f): Bano & Rajarathnam (4)

(c) Adaptado de Hadar & Cohen-Arazi (19)-substrato = palha de algodão; análise quantitativa de aminoácidos = após hidrólise ácida em HCl 6N, determinação em analisador automático de aminoácidos, LC700.

(d,g) Adaptado de Pei-Ji & Jian-Jun (31)-substrato = casca de caroço de algodão; análise de aminoácidos = não citado.

O efeito da composição do substrato é significativo no teor de proteína dos corpos de frutificação de *Pleurotus*. Bano et al. e Rajarathnam et al., citados por Bano & Rajarathnam (4), observaram que os corpos de frutificação de *Pleurotus flabellatus*, crescidos em pó de semente de algodão e torta de amendoim, torta de gergilim e micélio, apresentaram um aumento no teor de proteína quando comparados àqueles produzidos somente em palha de arroz. Quando suplementados com pó de semente de algodão o aumento no teor protéico foi duplicado. Resultados similares foram também observados em *Pleurotus sajor-caju*. Zadrzil (33) obteve um aumento no teor de proteína dos corpos de frutificação de *P. sajor-caju* quando o substrato foi suplementado com alfafa e torta de soja. Essa diferença no teor protéico de *P. sp.* "Florida" foi constatada em relação ao substrato de cultivo por Sturion & Oetterer (10) quando o teor protéico foi maior em PB (24,1%) em relação a PBBC (17,4%).

As variações na composição protéica com a variação do substrato têm sido observadas em cogumelos comestíveis cultivados, em geral. De acordo com Crisan & Sands (7), a composição do substrato de crescimento pode também ter um efeito significativo na composição de aminoácidos do cogumelo, sem alterar o teor de proteína aparente. Maggioni et al., citado por Crisan & Sands (7), observaram que cogumelos cultivados em compostos suplementados com uréia mais sulfato de amônio exibiram um conteúdo de aminoácidos menor, com limitada produção de prolina e arginina, enquanto houve aumento na produção de metionina, ácido aspártico, valina e alanina quando comparados com cogumelos crescidos apenas com suplementação de sulfato de amônio. Essas mudanças na composição tornam-se menos pronunciadas no decorrer de colheitas sucessivas.

As características fisiológicas e bioquímicas de cogumelos introduzem uma variação adicional nos dados. A natureza genética de uma dada linhagem ligada ao metabolismo tipicamente heterotrófico determina como esta utiliza os nutrientes de um determinado substrato e quais efeitos, se algum, o substrato tem sobre a composição. Desde que os cogumelos são organismos vivos, e assim permanecem até o preparo para consumo, sua composição química está num estado contínuo de fluxo durante o crescimento e depois da colheita. Mudanças significativas na composição podem ocorrer com a idade ou um estágio particular de desenvolvimento e, sob várias condições de armazenamento após a colheita. Todas as outras condições sendo iguais, diferentes porções de um único esporóforo conterá proporcionalmente diferentes quantidades de um dado componente nutricional (7).

Diferenças entre os métodos de análise determinam outra fonte de erros na comparação dos resultados da composição em aminoácidos (24,34). Segundo Sarwar & McDonough (34) variações inter e intralaboratoriais na análise de aminoácidos em alimentos, determinados por cromatografia de troca iônica de amostras hidrosalisadas em HCl 6N, normalmente estão ao redor de 10 e 3%, respectivamente. Variações interlaboratoriais para o triptofano (acima de 24%), cistina (acima de 18%) e metionina (acima de 16%) são consideradas altas. Avalia-se que essas variações interlaboratoriais são produzidas mais no preparo dos hidrolisados do que durante as medidas cromatográficas ou analíticas (34,35). Entre os exemplos dessa natureza estão o caso dos aminoácidos sulfurados e do triptofano onde recomenda-se que as amostras sejam preparadas em ácido perclórico e NaOH 4,2N, respectivamente, antes da hidrólise ácida para evitar-se a total destruição dos mesmos (20,24,25).

Na Tabela 3, observa-se que na maioria dos trabalhos em que a cistina, metionina e triptofano foram determinados, não foram considerados os métodos recomendados ou estes não são citados nos trabalhos de origem. Ainda muitas das pesquisas referentes à análise daqueles aminoácidos apresentam resultados após a hidrólise ácida (19,29,30).

Embora a pré-oxidação dos aminoácidos sulfurados garanta uma melhor recuperação destes, a hidrólise ácida empregada também no presente estudo é considerada uma metodologia clássica na análise de aminoácidos de acordo com Lanfer Marquez (25). Esse método converte sulfóxido de metionina em metionina reduzida, podendo esta ser parcialmente destruída; também a estabilidade da cisteína/cistina, em maior proporção que a metionina, é afetada, porém, a destruição dos sulfurados pode ser parcial dependendo da matriz da amostra (25,35).

Nesse estudo o teor de aminoácidos sulfurados esteve ao redor de 1,98 a 2,23 para metionina e 0,28 a 0,64 para cistina (Tabela 2). Observando-se os valores encontrados por outros pesquisadores (Tabela 3) para metionina, verifica-se que os teores encontrados estão dentro dos limites esperados, exceto para os valores obtidos por Pei-Ji & Jian-Jun (31) para *Pleurotus sp.* "Florida" e *P. sajor-caju*, de 5,51 e 4,58, respectivamente. Embora esses pesquisadores não tenham citado o método de análise empregado na determinação de aminoácidos, sabe-se que a hidrólise ácida tende a subestimá-los, o que pode ter ocasionado as diferenças observadas entre os valores frequentemente esperados para a metionina. Essa justificativa, no entanto, não pode explicar os altos teores (1,16 e 1,2) de cistina encontrados por Hadar & Cohen-Arazi e Bano & Rajarathnam (4), quando comparados com os nossos resultados, uma vez que a metodologia citada pelo primeiro foi a hidrólise ácida.

Com base no conteúdo de aminoácidos essenciais da proteína de cogumelos, o escore químico tem sido empregado para determinar ou prever o valor nutricional dos mesmos dado a ausência de extensos ensaios biológicos (7,32). A limitação em determinados aminoácidos, no entanto, vai depender da proteína padrão adotada como referência para o cálculo do escore químico além das variações acima citadas na determinação de aminoácidos.

Crisan & Sands (7), avaliando dados disponíveis da composição em aminoácidos de várias espécies de cogumelos comestíveis, concluíram que estes são limitantes em pelo menos um aminoácido sendo que muitos são limitantes em 5 até 7 aminoácidos. A metade dos cogumelos avaliados indicaram limitações em somente um ou dois aminoácidos. Em ordem decrescente, os cogumelos analisados foram limitantes em aminoácidos sulfurados, leucina, isoleucina e valina, lisina e aminoácidos aromáticos, incluindo algumas espécies de *Pleurotus*. A proteína de referência adotada por aqueles pesquisadores refere-se à recomendada pela FAO (1973).

Segundo Bano & Rajarathnam (4), quando o escore químico é calculado empregando-se a proteína do ovo como referência, os aminoácidos sulfurados tornaram-se os primeiros limitantes em todas as espécies de *Pleurotus* e os aromáticos aparecem em segundo para algumas espécies. Em outras espécies a isoleucina passa a ser o segundo aminoácido limitante e o triptofano o terceiro.

A FAO/WHO/UNU (1985) (14) sugere que se adote como padrão de referência para o cálculo do escore químico o padrão de aminoácidos essenciais recomendado para a criança pré-escolar, sendo aplicado a crianças e adultos (incluindo uma margem de segurança). Essa recomendação originou-se após comprovação de que a proteína do ôvo integral bem como os padrões anteriormente adotados pela FAO/WHO sugeriam valores para os aminoácidos sulfurados (metionina e cistina) significativamente maiores que as necessidades de aminoácidos para crianças (21-27 meses). Desta forma tendiam a subestimar o valor biológico de grande número de proteínas, particularmente as que são limitantes em aminoácidos sulfurados (17), como é o caso do cogumelo.

Sendo assim, no presente estudo considerou-se para os cálculos do escore químico o índice da FAO/WHO/UNU (1985) (14). Nas tabelas 4 e 5 estão apresentados os aminoácidos essenciais e escore químico não corrigido das espécies de *Pleurotus* estudadas.

TABELA 4

Aminoácidos essenciais, escore químico não corrigido e escore protéico das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, cultivadas em palha de folha de bananeira (PB)

Aminoácidos essenciais (g/100g de proteína, em p.s.)	L1 L2 L3			FAO/WHO/UNU/1985c	Escore químico não corrigido <sup>b</sup>		
	L1	L2	L3		L1	L2	L3
Leucina	7,93	8,74	8,30	6,60	120,2	130,9	125,8
Isoleucina	3,84	4,31	4,23	2,80	137,1	153,9	151,1
Valina	5,25	5,80	5,57	3,50	150,0	165,7	159,1
Triptofano	1,39	1,50	1,56	1,10	126,4	136,4	141,8
Lisina	7,55	8,69	7,42	5,80	130,2	149,8	127,9
Treonina	5,46	6,33	5,84	3,40	160,6	186,2	171,8
Fenil.+Tiros.	6,20	6,77	6,69	6,30	98,4 <sup>d</sup>	107,5	106,2
Metion.+Cist.	2,26	2,84	2,55	2,50	90,4 <sup>d</sup>	113,6	102,0
Histidina	2,69	2,83	2,57	1,90	141,6	148,9	135,3
Escore protéico					90,4	100,0	100,0

<sup>a</sup> L1=*Pleurotus sp.* «Florida»; L2=*P. ostreatoroseus*; L3=*P. sajor-caju*

<sup>b</sup> FAO/WHO/UNU (14)

<sup>c</sup> Escore químico= (mg do aminoácido essencial em 1 g de proteína/ mg do mesmo aminoácido em 1 g da proteína de referência)x100

<sup>d</sup> Aminoácidos limitantes

Dos dados obtidos nas Tabelas 4 e 5 algumas considerações podem ser feitas. Os valores para o escore químico entre 88,7 a 100,0 são obviamente maiores que aqueles encontrados por outros pesquisadores (40,0 a 71,8) para proteína de cogumelos

do gênero *Pleurotus*, uma vez que as proteínas de referência empregadas por estes foram aquelas anteriores a FAO/WHO/UNU (1985) (14) as quais superestimavam, como já discutido acima, a necessidade em aminoácidos, especialmente os sulfurados.

TABELA 5

Aminoácidos essenciais, escore químico não corrigido e escore protéico das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, cultivadas em palha de folha de bananeira misturada ao bagaço de cana (PBBC)

Aminoácidos essenciais (g/100g de proteína, em p.s.)	L1 L2 L3			FAO/WHO/UNU/1985c	Escore químico não corrigido <sup>b</sup>		
	L1	L2	L3		L1	L2	L3
Leucina	8,24	8,50	9,46	6,60	124,8	128,7	143,3
Isoleucina	3,99	4,32	4,64	2,80	142,5	154,3	165,7
Valina	5,41	6,21	5,56	3,50	154,6	177,4	158,8
Triptofano	1,62	1,58	1,13	1,10	147,3	143,6	102,7
Lisina	7,53	9,03	7,83	5,80	129,8	155,7	135,0
Treonina	5,63	6,22	5,53	3,40	165,6	182,9	162,6
Fenil.+Tiros.	5,59	6,83	7,79	6,30	88,7 <sup>d</sup>	108,4	123,6
Metion.+Cist.	2,55	2,69	2,74	2,50	102,0	107,6	109,6
Histidina	2,57	2,86	2,82	1,90	135,2	150,5	148,4
Escore protéico					88,7	100,0	100,0

<sup>a</sup> L1=*Pleurotus sp.* «Florida»; L2=*P. ostreatoroseus*; L3=*P. sajor-caju*

<sup>b</sup> FAO/WHO/UNU, 1985 (14)

<sup>c</sup> Escore químico= (mg do aminoácido essencial em 1 g de proteína/ mg do mesmo aminoácido em 1 g da proteína de referência)x100

<sup>d</sup> Aminoácidos limitantes

Isto também explica o fato das espécies de *Pleurotus* estudadas neste trabalho não apresentarem limitação em aminoácidos essenciais, exceto a espécie *P. sp* "Florida" que foi limitante em sulfurados e/ou aromáticos, dependendo do substrato de cultivo. Considerando-se, portanto, somente o escore protéico poder-se-ia concluir que as espécies de *P. sajor-caju* e *P. ostreatoroseus* apresentam uma proteína completa.

No entanto, o escore químico é apenas uma medida simples de avaliação da qualidade de uma proteína porque não leva em consideração a disponibilidade biológica dos aminoácidos, a digestibilidade da proteína ou a habilidade da mesma em manter a síntese celular (15).

A FAO/WHO (1989) (17) recomenda o emprego do índice PDCAAS como método de rotina desejável na avaliação da qualidade de proteínas de produtos vegetais (e outros produtos alimentícios) que corrige o escore químico pela digestibilidade verdadeira da proteína.

Embora, neste estudo a digestibilidade verdadeira da proteína das espécies de *Pleurotus* estudadas não tenha sido determinado, o cálculo do PDCAAS foi realizado (Tabelas 6 e 7). Esse cálculo considerou o valor de 90% de digestibilidade verdadeira da proteína de cogumelos, utilizada para propósitos de rotulagem segundo Shapiro (18), e em acordo com as recomendações dadas quando não se dispõe do valor da digestibilidade verdadeira avaliado para o alimento em específico (26).

TABELA 6

Cálculo do PDCAAS para a proteína das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, cultivadas em palha de folha de bananeira (PB)

Aminoácidos essenciais	L1		L2		L3	
	Escore químico não corrigido	PDCAAS <sup>b</sup>	Escore químico não corrigido	PDCAAS	Escore químico não corrigido	PDCAAS
Leucina	120,2	100,0	130,9	100,0	125,8	100,0
Isoleucina	137,1	100,0	153,9	100,0	151,1	100,0
Valina	150,0	100,0	165,7	100,0	159,1	100,0
Triptofano	126,4	100,0	136,4	100,0	141,8	100,0
Lisina	130,2	100,0	149,8	100,0	127,9	100,0
Treonina	160,6	100,0	186,2	100,0	171,8	100,0
Fenilalan.						
+ Tiros.	98,4	88,6	107,5	95,86	106,2	95,58
Metionina						
+ Cistina	90,4	81,36	113,6	100,0	102,0	91,86
Histidina	141,6	100,0	148,9	100,0	135,3	100,0
PDCAAS	81,4		95,8		91,8	
Aminoácidos limitantes	sulfurados e aromáticos		aromáticos		sulfurados e aromáticos	

<sup>a</sup> L1= *Pleurotus sp.* "Florida"; L2= *P. ostreatoroseus*; L3= *P. sajor-caju*.  
<sup>b</sup> PDCAAS = escore químico não-corrigido x 0,90 (digestibilidade verdadeira 90%)

O valor do PDCAAS das proteínas de *Pleurotus* estudadas calculado variou de 80,8-96%. Considerando-se os aminoácidos mais limitantes, o *P. sp.* "Florida" apresentou limitação em aminoácidos sulfurados e aromáticos, independente do substrato de cultivo e seu PDCAAS foi menor quando comparado à outras espécies estudadas.

O *P. ostreatoroseus* apresentou limitação em sulfurados e/ou aromáticos e o *P. sajor-caju* em sulfurados e aromáticos e sulfurados e triptofano, dependendo do substrato de cultivo.

O maior índice de PDCAAS foi encontrado para a proteína de *P. ostreatoroseus*, independente do substrato de cultivo, ou seja, o menor valor em limitação de aminoácidos essenciais (≈ 96%).

Considerando-se o PDCAAS, a proteína dos cogumelos *Pleurotus* estudados apresentou-se incompleta, principalmente em sulfurados e/ou aromáticos, porém comparável aos valores obtidos para fontes protéicas tais como a carne (92%) (12),

como foi o caso do *Pleurotus ostreatoroseus*.

Nas condições desse estudo o substrato de cultivo apresentou influência qualitativa na limitação em aminoácidos para a proteína de *Pleurotus sajor-caju pois*, esse cogumelo foi limitante em sulfurados e aromáticos quando cultivado em PB e, em PBBC foi limitante em triptofano e sulfurados, nessa ordem.

TABELA 7

Cálculo do PDCAAS para a proteína das espécies de *Pleurotus* estudadas (L1, L2, L3)<sup>a</sup>, cultivadas em palha de folha de bananeira mais bagaço de cana (PBBC)

Aminoácidos essenciais	L1		L2		L3	
	Escore químico não corrigido	PDCAAS <sup>b</sup>	Escore químico não corrigido	PDCAAS	Escore químico não corrigido	PDCAAS
Leucina	124,8	100,0	128,7	100,0	143,3	100,3
Isoleucina	142,5	100,0	154,3	100,0	165,7	100,9
Valina	154,6	100,0	177,4	100,0	158,8	100,0
Triptofano	147,3	100,0	143,6	100,0	102,7	92,3
Lisina	129,8	100,0	155,7	100,0	135,0	100,0
Treonina	165,6	100,0	182,9	100,0	162,6	100,0
Fenilalan.						
+ Tirosina	88,7	80,8	108,4	97,6	123,6	100,0
Metionion.						
+ Cistina	102,0	91,8	107,6	95,96	109,6	98,64
Histidina	135,2	100,0	150,5	100,0	148,4	100,0
PDCAAS	80,8		96,0		92,3	
Aminoácidos limitantes	aromáticos e sulfurados		sulfurados e aromáticos		triptofano e sulfurados	

<sup>a</sup> L1= *Pleurotus sp.* "Florida"; L2= *P. ostreatoroseus*; L3= *P. sajor-caju*.  
<sup>b</sup> PDCAAS = escore químico não corrigido x 0,90 (digestibilidade verdadeira)

## CONCLUSÕES

As espécies de *Pleurotus* estudadas, considerando as condições de cultivo, apresentaram todos os aminoácidos essenciais. Como primeiro aminoácido limitante as proteínas de *P. sp.* "Florida" e *P. ostreatoroseus* apresentaram-se limitantes em aminoácidos sulfurados e/ou aromáticos; a proteína de *P. sajor-caju* teve limitação em aminoácidos sulfurados e/ou triptofano, dependendo do substrato de cultivo. O uso de misturas desses cogumelos com cereais pode melhorar a deficiência em sulfurados, exceto o milho que também é deficiente em triptofano; a deficiência em triptofano pode ser superada empregando-se os cogumelos com carnes e ovos. Nas condições de avaliação desse estudo o valor biológico das proteínas desses cogumelos pode ser considerado alto (80,8 a 96,0). A variação observada no PDCAAS esteve em função da espécie cultivada; *P. sp.* "Florida" apresentou o menor índice e *P. ostreatoroseus* o maior, nesse caso igualando-se ao valor da proteína de carnes, independente do substrato de cultivo.

Sendo assim, o cogumelo *P. ostreatoroseus* pode ser considerado a melhor espécie em termos de valor nutricional.

### AGRADECIMENTOS

À Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo pelo suporte financeiro, à Dra. Ursula M. Lanfer Marquez da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo pela análise de aminoácidos totais e ao Dr. Arlindo Moreira Sales do Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas pelas análises de cistina e triptofano.

### REFERÊNCIAS

- Eira AF, Minhomi MTA. coordenadores. Manual do Cultivo do "hiratake" e "shimeji" (*Pleurotus spp.*). Botucatu: FEPAF; UNESP, 1997.
- Chang ST, Miles PG. Edible mushrooms and their cultivation. Boca Raton: CRC Press Inc, 1989.
- Bononi VL, Capelari M, Maziero R, Trufem SFB. Cultivo de cogumelos comestíveis. São Paulo: Icone Editora Ltda, 1995.
- Bano Z, Rajarathnam S. *Pleurotus* mushrooms, Part II: Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation and role as human food. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition 1988; 27(2):87-158.
- Maziero R. Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus spp* (dissertação). São Paulo: Universidade de São Paulo, 1990.
- Chang ST. Cultivated mushrooms. In: Arora DK, Mukerji KJ, Marth EH. Handbook of applied mycology. New York: Marcel Dekker Inc, 1991:221-40.
- Crisan EV, Sands A. Nutritional value. In: Chang ST, Hayes WA, editors. The biology and cultivation of edible mushrooms. New York: Academic Press, 1978:137-68.
- Chang ST, Miles PG. A new look at cultivated mushrooms. Bioscience 1984;34(6):351-62.
- Sturion GL, Oetterer M. Utilização da folha da bananeira como substrato para cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus spp.*). Ciência e Tecnologia de Alimentos 1995b;15(2):194-200.
- Sturion GL, Oetterer M. Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus spp.*) originados de cultivos em diferentes substratos. Ciência e Tecnologia de Alimentos 1995a;15(2):189-93.
- Moore S, Stein WH. Chromatographic determination of amino acids by use of automatic recording equipment. In: Colowick SP, Kaplan NO. editors. Methods in enzymology. New York: Academic Press, 1963:vol.6.
- Sales AM. Análise de aminoácidos na determinação da qualidade protéica dos alimentos. In: Sales AM. coord. Seminário sobre análise de aminoácidos em alimentos e outros materiais biológicos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1994:41-46.
- Spies JR. Determination of tryptophan in proteins. Analytical Chemistry 1967;39:1412-15.
- FAO/WHO/UNU. Energy and Protein Requirements. Geneva: FAO/WHO and United Nation University, 1985. Report nº 724.
- Krause MV, Mahan LK. Proteínas. In: Krause MV. Alimentos, nutrição e dietoterapia. São Paulo: Livraria Roca Ltda, 1991:52-73.
- Henley EC, Kuster JM. Protein quality evaluation by protein digestibility-corrected amino acid scoring. Food Technology 1994;78(4):74-7.
- FAO/WHO (1989). Protein Quality Evaluation. Rome: Food Agriculture Organization and World Health, 1989. Report nº51.
- Shapiro RA. Competitive review of the nutrition labeling and education act regulations. In: Shapiro R, editor. Nutrition labeling handbook. New York: Marcel Dekker Inc, 1995: Cap.7 (Apendice 1, p. 601).
- Hadar Y, Cohen-Arazi E. Chemical composition of edible mushroom *Pleurotus ostreatus* produced by fermentation. Applied and Environmental Microbiology 1986;51(6):1352-54, 1986.
- Lau O. Methods of chemical analysis of mushrooms. In: Chang ST, Quimio TH, editors. Tropical mushrooms; biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982; p.87-116.
- Buswell JA, Chang ST. Edible mushrooms: attributes and applications. In: Chang ST, Buswell JA, Miles PG. Genetics and breeding of edible mushrooms. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers SA, 1993:298-300.
- Weaver JC, Kroger M, Kneebone LR. Comparative protein studies (Kjeldahl, dye binding, amino acid analysis) of nine strains of *Agaricus bisporus* (Lange) imbach mushrooms. Journal Food Science 1977;42(2):364-366.
- Danell E, Eaker D. Amino acid and total protein content of the edible mushroom *Cantharellus cibarius* (fries). Journal of Science and Food Agriculture 1992;60:333-337.
- Kurtzman RH. Mushrooms as a source of protein. In: Friedman M. editor. Protein nutritional quality of foods and feeds; part 2: quality factors - plant breeding, composition, processing and antinutrients. New York: Marcel Dekker Inc., 1975:305-318.
- Lanfer Marquez UM. Preparo de amostras para análise de aminoácidos em proteínas alimentares. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos 1996;30(1):19-27.
- Fujihara S, Kasuga A, Aoyagi Y, Sugahara T. Nitrogen-to-protein conversion factors for some common edible mushrooms. Journal of Food Science 1995;60(5): 1045-47.
- Bano Z, Bhagya S, Srinivasan KS. Essential amino acid composition and proximate analysis of mushrooms *Pleurotus* eous and *Pleurotus* Florida. Mushrooms Newsletter for the Tropics 1981;1(3):6-10.
- Tshinyangu KK, Hennert GL. Protein and chitin nitrogen content in *Pleurotus ostreatus* var. columbinus. Food Chemistry 1996;57(2):223-27.
- Gupta S, Misra PS, Pathak M.C, Sing MS. Cultivation and nutritive value of pink mushroom. Fitoterapia 1982;53:57-61.
- Kalberer P, Kunsch U. Amino acid composition of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie 1974;7(4):242-44.
- Pei-Ji S, Jian-Jun Y. The cultivation of *Pleurotus* mushrooms on sterilized substrates in the field. Proceedings of twelfth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi. Mushroom Science 1989;XII(Part II):219-28.
- Bano Z, Rajarathnam S. *Pleurotus* mushrooms as a nutritional

- food. In: Chang ST, Quimio TH, editors. Tropical mushrooms; biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982:362-80.
33. Zadrazil F. Influence of ammonium nitrate and organic supplements on the yield of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 1980;9:31-5.
34. Sarwar G, McDonough FE. Review of protein quality evaluation methods. Journal Association of Official Analytical Chemistry 1990;73(3):347-56.
35. Gehrke CW, Larry LW, Absheer JS, Kaiser FE, Zumwalt RW. Focus: amino acid analysis; sample preparation for chromatography of amino acids: acid hydrolysis of protein. Journal Association of Official Analytical Chemistry 1985;68(5):811-821.

Recibido: 26-11-1997

Aceptado: 18-06-1998

## Mejoramiento de la calidad nutricional de pan tipo francés

*Hugo Diego Sánchez, Carlos Alberto Osella, María Adela G. de la Torre*

Instituto de Tecnología de Alimentos - Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral  
Santa Fe, Argentina

**RESUMEN.** Existe en la Argentina una creciente producción de soja y consecuentemente de aceite de soja, que permiten tener una elevada disponibilidad de proteínas de buena calidad. Paralelamente en la industria láctea, también se cuenta con una fuente proteica de mucho interés, que es la proveniente del suero caseario. El objetivo de este trabajo es lograr un mejoramiento nutricional del pan francés con dichas fuentes proteicas. Se hicieron determinaciones físicas y evaluaciones sensoriales y nutricionales con tratamiento estadístico por análisis de varianza test de rango múltiple de Duncan. La harina de soja y el concentrado proteico de suero caseario manifestaron un comportamiento opuesto sobre la absorción de agua; mientras la primera producía un aumento, el segundo provocaba una disminución de los valores de absorción. Sobre los valores alveográficos existe, en cambio, una influencia coincidente en el sentido de producir ambos un aumento en la tenacidad de la masa. Respecto a la elaboración de pan, si bien se produce una pérdida de calidad en sus características generales cuando se utilizan individualmente la harina de soja y el concentrado proteico de suero caseario, este deterioro se reduce al incorporar ambos ingredientes en forma simultánea. En cuanto a los parámetros nutricionales, se obtuvo una mejora en los niveles de lisina disponible en todos los casos en que se reemplazó la harina de trigo, en cambio en la determinación de Valor Biológico sólo se obtuvieron aumentos cuando la harina de soja de PDI 61 se utilizó en la formulación.

**Palabras clave:** Nutrición, pan, soja, suero.

**SUMMARY. Nutritional improvement of French type bread.** In Argentina there is an increasing production of soybean and consequently of oil, it gives a very important amount of proteins of good quality. Also dairy industry produces an useful protein: whey protein concentrate (WPC). The objective of this work is to improve the nutritional value of French bread adding soy flour and whey proteins to the mixture. Physics, sensory and nutritional evaluation were made with statistic treatment by variance analysis, Duncan multiple range test. Soy flour and WPC had an opposite behavior with the water absorption, while the first show an increasing the second produce a decreasing of the absorption values. About the alveographics values they produce a similar effect which is a stretching of the dough. In bread manufacture the product quality was reduced when soy flour and WPC were individually used but this deleterious effect was less important when they were used together in the recipe. Nutritional parameters were improved specially when the soy flour that was used had low heat treatment (PDI 61).

**Key words:** Nutrition, bread, soy flour, whey.

### INTRODUCCION

En los últimos cinco años la producción de soja en la Argentina ha superado las 10.000.000 de toneladas anuales, de las cuales aproximadamente el 70% se destina a la extracción de aceite (1). Esto implica una producción de harinas de extracción del orden de 5.000.000 toneladas, lo que significa 2.500.000 toneladas de proteínas potencialmente disponibles para consumo humano.

Desde 1972, la U.S.D.A. ha utilizado panes fortificados con harina de soja para sus programas de alimentos considerando que esta materia prima es una excelente fuente de proteínas para suplementar harina de trigo ya que tiene, para ese fin, un buen balance de aminoácidos que permite disminuir el déficit en lisina que tienen en general los cereales y además se ha demostrado que tiene influencia sobre el nivel de colesterol sanguíneo (2-4).

Los productos horneados, panes y galletitas, son vehículos excelentes para los derivados de soja pero es necesario tener en cuenta que el aporte nutricional que brindan se ve limitado por las modificaciones que producen en las propiedades funcionales de la masa y en las características sensoriales del producto (5,6).

Por su parte la industria quesera Argentina elimina anualmente 3.500.000 toneladas de suero caseario, lo que significa contar con 18.000 toneladas de proteínas de alto valor biológico factibles de emplear en la alimentación humana (7-9). La industria panadera ha ido reemplazando paulatinamente en sus formulaciones la leche descremada en polvo por la siguiente mezcla: suero caseario -concentrado proteico de soja (3,10).

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto de la harina de soja desgrasada y de las proteínas de suero caseario obtenidas por ultrafiltración, sobre las características tecnológicas y nutricionales del pan tipo francés.

## MATERIALES Y METODOS

### Materias Primas

#### Harina de trigo comercial 000

Harina de soja 61 (PDI=61) y harina de soja 20 (PDI=20), obtenidas a partir de escamas desgrasadas de soja, molidas y luego tratadas en autoclave con vapor fluyente hasta lograr los valores mencionados de dispersibilidad proteica.

Concentrado proteico de suero caseario (CPSC), obtenido por ultrafiltración y tratado térmicamente durante 30 minutos a 70°C.

Los valores de composición de las materias primas se detallan en Tabla 1.

TABLA 1  
Materias primas (\*)

	Harina de Trigo	H. de Soja 61 y 20	CPSC
Proteínas (g/100g)	14.1(N x 5,7)	51,7 (N x 6,25)	53.6 (N x 6,38)
Cenizas (g/100g)	0.59	6.51	7.47
Grasa (g/100g)	1.13	1.17	3.41
Lactosa (g/100g)	-	-	26.9
Lisina Disponible (g/100 g Prot.)	1.70	5.5 y 5.1	6.1
Absorción de agua (ml/100g)	59.5	-	-
Pico Amilográfico (UB)	900	-	-
Relación alveográfica P/L	1.08	-	-

(\*) La composición química se expresa en base seca.

Los niveles de sustitución estudiados fueron: Soja 61 (6 y 12%); Soja 20 (6 y 12%); CPSC (2, 4, 6%); Mezcla Soja 61 - CPSC (6-6%); Mezcla Soja 20 - CPSC (6-6 %). Estos niveles utilizados surgieron de ensayos previos, los que mostraron que el valor de 12% para harina de soja como el 6% para proteínas de suero era el máximo admisible desde el punto de vista tecnológico. Es decir mayores porcentajes de reemplazo presentaban inconvenientes en el manejo de la masa y en la calidad del producto obtenido: bajo volumen, color intenso de corteza, aroma y sabor desagradables (5,6).

### Métodos

Las determinaciones químicas se realizaron según métodos oficiales (11).

Los farinogramas se llevaron a cabo en DO-CORDER Brabender, usando 300 gr. de muestra y siguiendo el procedimiento descrito por Locken et al. (12).

Los alveogramas se hicieron modificando el sistema original de Chopin (13). Se trabajó con una hidratación que permitió igual consistencia en todas las muestras, medida en farinógrafo, evitando así la influencia de los porcentajes variables de absorción de agua.

Las experiencias de panificación se llevaron a cabo en base al test propuesto por Sánchez et al. (14) con algunas modificaciones que se aprecian en Tabla 2.

TABLA 2  
Formulación y etapas del ensayo de panificación (\*)

Harina de trigo o mezclas	300 g
Agua	variable
Levadura	6 g
Sal	6 g
Grasa	9 g
Acido ascórbico	100 ppm
Amasado	60 rpm. - 15 minutos
Primera fermentación (27°C- 70% h.r)	25 mm en medidor de empuje
Segunda fermentación (27°C- 70% h.r)	40 mm en medidor de empuje
Cocción	180°C - 45 Minutos

(\*): Según Sanchez et al. (14) modificado.

Las medidas de volumen utilizando el sistema de desplazamiento de semillas, se llevaron a cabo una hora después que los panes se retiraran del horno. Los valores obtenidos fueron tratados estadísticamente por análisis de varianza, test de rango múltiple de Duncan (15).

Las evaluaciones sensoriales, con asignación de puntaje, fueron realizadas por personal entrenado que calificó las distintas características del pan (volumen, corteza, textura, color de miga, aroma y sabor) (14).

Las evaluaciones de diferencias de sabor fueron llevadas a cabo por 12 panelistas entrenados que juzgaron en base al test de tetradas (16) estableciendo además grado de diferencia (1=bajo, 2=medio, 3=alto) y preferencia. Se evaluó la diferencia de sabor de los niveles de 12% frente a un testigo conteniendo sólo 6% de la misma harina de soja.

Las evaluaciones nutricionales se hicieron determinando el contenido de lisina disponible (LD) utilizando el Método de Carpenter modificado por Booth (17) y el valor biológico (VB) por el Método de Miller y Bender. Los valores obtenidos fueron tratados estadísticamente por análisis de varianza, test de rango múltiple de Duncan.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 3 se brindan los resultados del análisis de varianza, que dan una visión global del efecto que producen la harina de soja y el CPSC sobre las características reológicas y tecnológicas analizadas.

### Absorción de agua

La absorción de agua de la masa se ve modificada de modo altamente significativo por la acción de las tres variables: contenido de harina de soja, PDI de harina de soja y contenido de CPSC. En Figura 1 se aprecia el aumento que se produce en la absorción cuando se utiliza sólo harina de soja en mezcla con harina de trigo, en cambio cuando se utiliza CPSC-trigo, esta absorción disminuye bruscamente. El mayor tratamiento

térmico de la harina de soja 20 respecto de la harina de soja 61 produce una mayor desnaturalización de sus proteínas, aumentando la fracción insoluble de las mismas y dando también un mayor valor de la absorción de agua (18). Por su parte, el CPSC sin bien recibe un tratamiento térmico que produce la desnaturalización de sus proteínas, no genera un aumento de la captación de agua frente al testigo sino que por el contrario se manifiesta produciendo una brusca caída de la consistencia farinográfica (9,19,20).

**TABLA 3**  
Resultados del análisis de varianza

Variables	Estadístico F			
	Abs. Agua	Relación P/L	Volumen	Puntaje
Contenido	664	58.5	30.3	191
Harina de Soja	(..)	(..)	(..)	(..)
P.D.I	96.7	4.0	0.63	3.76
Harina de Soja	(..)	(-)	(-)	(-)
Contenido de	94	20.3	2.06	6.70
C.P.S.C	(..)	(..)	(-)	(.)

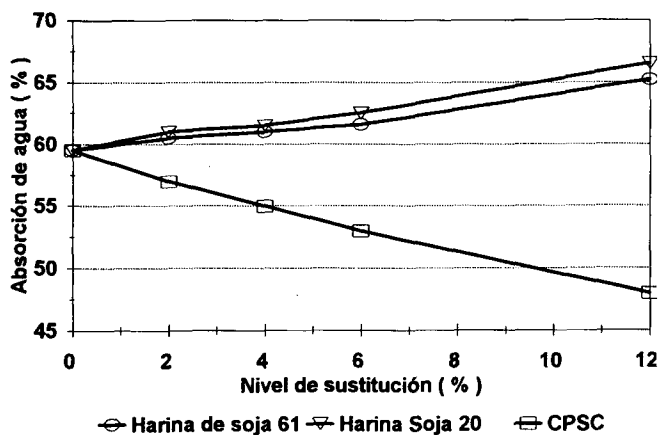
Estadísticamente No Significativo: (-) p > 0.05

Estadísticamente Significativo : (.) p < 0.05

(..) p < 0.01

**FIGURA 1**

Influencia del nivel de sustitución de harina de soja y CPSC sobre la absorción de agua



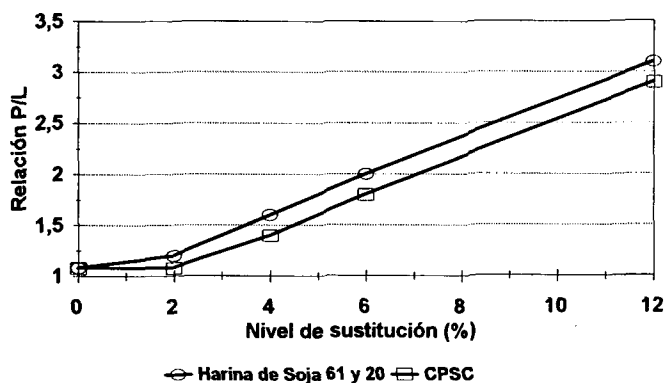
Cuando se combinan simultáneamente harina de soja y CPSC con harina de trigo (88-6-6) se obtienen valores de absorción de agua de 55% para harina de soja 61 y 56% para harina de soja 20. Este resultado se da por la compensación de los efectos antagónicos entre las proteínas de soja y las proteínas de suero en su comportamiento frente a esta propiedad fisicoquímica.

**Relación P/L**

En la Figura 2 se observa que la relación P/L aumenta con el nivel de sustitución de ambas materias primas. Se produce un aumento en la tenacidad a causa de la nueva estructura proteica que, si bien genera dificultades tecnológicas en el manejo de la masa, no imposibilita la elaboración de panes que en algunos casos resultaron muy aceptables.

**FIGURA 2**

Influencia del nivel de sustitución de harina de soja y CPSC sobre la relación P/L



**Volumen y puntaje del pan**

El volumen y el puntaje del pan se ven afectados muy significativamente por la variación del contenido de harina de soja en las formulaciones analizadas, en cambio no ocurre tal alteración cuando se modifica el valor de PDI de dicha harina de soja (Tabla 3). Por su parte, el CPSC utilizado en mezcla con harina de trigo no produce alteración alguna en los valores de volumen de pan, pero si genera alteraciones significativas en las características organolépticas que producen modificaciones en los valores de puntaje (21).

En Tabla 4 se puede ver que el volumen y el puntaje sufren un deterioro significativo a medida que aumenta el reemplazo con harina de soja. También se puede apreciar, en la misma tabla, que los valores obtenidos para el nivel de sustitución de 6% con harina de soja no disminuyen cuando además se incorpora 6% de CPSC. Este último hecho coincidente con otros trabajos (8,21), permite mejorar las características nutricionales sin perjudicar la calidad tecnológica del producto.

**TABLA 4**

Valores comparativos de volumen y puntaje

Trigo (%)	Soja 61 (%)	CPSC (%)	Volumen (cc)	Puntaje (máximo 100)
100	-	-	377 <sup>a</sup>	92.0 <sup>a</sup>
94	6	-	359 <sup>b</sup>	75.9 <sup>b</sup>
88	12	-	281 <sup>c</sup>	65.5 <sup>c</sup>
88	6	6	357 <sup>b</sup>	76.6 <sup>b</sup>

Los valores seguidos por letras distintas son significativamente diferentes a un nivel de p = 0.01.

### Evaluación sensorial

En la Tabla 5 se aprecian los resultados de la evaluación sensorial llevada a cabo por 12 panelistas entrenados, quienes utilizaron como testigo de comparación una mezcla que contenía harina de trigo - harina de soja (94-6 %), siendo la harina de soja utilizada como testigo la soja 61 y la soja 20 en los casos correspondientes.

Mientras que la muestra que contenía 12% de harina de soja 20 tuvo una cantidad de juicios correctos que no presentaron significación estadística las restantes tres muestras tienen una elevada significación estadística. No obstante haber obtenido un elevado número de juicios correctos, el Grado de Diferencia se encuentra principalmente entre suave y moderado, siendo además las preferencias no significativas respecto del testigo. Esto nos indica que el nivel de sustitución de 12% tiene un alto grado de aceptabilidad especialmente cuando se trabaja con harina de soja 20.

TABLA 5

Análisis sensorial (panel) por comparación de panes con nivel de suplementación de 12% frente a panes que contienen 6% de harina de soja 61 y 20 respectivamente

	Soja 61	Soja 20	Soja 61-CPSC	Soja 20-CPSC
Diferencias de sabor				
Juicios correctos	9 (.)	2 (-)	11 (.)	11 (.)
Grado de Diferencia				
Suave	6	1	7	7
Moderado	2	1	3	4
Extremo	1	0	1	0
Preferencia	(-)	(-)	(-)	(-)

Estadísticamente No significativo: (-) =  $p > 0.05$

Estadísticamente Significativo: (.) =  $p < 0.05$

### Evaluación nutricional

En la Tabla 6 se presentan los valores de Lisina Disponible (LD) y de Valor Biológico (VB) de los panes formulados con las distintas mezclas.

Se destaca el pan elaborado con Trigo-Soja 61-CPSC (88-6-6), el que resultó tener el VB más alto, 30% por encima del testigo.

Cuando se utilizó harina de Soja 20 en la formulación, se tuvieron valores VB con diferencias no significativas frente al control, tanto para 6% como para 12% de sustitución. Se aprecia una disminución del VB por efecto del tratamiento térmico de la harina de soja ya que los valores son superiores para el caso en que se utiliza harina de Soja 61.

Por su parte, los valores de LD tuvieron un crecimiento importante con el porcentaje de sustitución, ya sea que se incorporara a la mezcla, harina de soja solamente o la combinación harina de soja-CPSC.

TABLA 6

Lisina disponible (LD) y valor biológico (VB) del pan

Muestra	L D (g/100 g Prot.)	V B
Control (Trigo 100 % )	1.54	47.4 <sup>e</sup>
Soja 61 CPSC		
6 %	1.96	48.4 <sup>e</sup>
12%	2.84	56.1 abc
6% 6%	2.89	61.4 <sup>a</sup>
Soja 20 CPSC		
6%	1.87	47.8 <sup>de</sup>
12%	2.73	51.1 <sup>cde</sup>
6% 6%	2.78	52.2 <sup>bcde</sup>

Los valores seguidos por letras distintas son significativamente diferentes a un nivel de  $p = 0.05$ .

### CONCLUSIONES

Tanto la harina de soja desgrasada como el CPSC provocaron importantes modificaciones sobre las propiedades reológicas de la masa. Respecto a la absorción de agua en farinógrafo se manifiesta un comportamiento opuesto para cada una de estas materias primas. En cambio en lo referente a los resultados alveográficos se obtienen valores de P/L que en ambos casos coinciden en un crecimiento de la tenacidad de la masa.

Los porcentajes crecientes de harina de soja en la formulación producen una disminución del volumen del pan y algún grado de desmejoramiento de sus características externas e internas. Estos efectos negativos son en parte neutralizados cuando se reemplaza parcialmente harina de soja por CPSC como se aprecia en la formulación Trigo-Soja 61-CPSC (88-6-6) que fue la que brindó panes con mejor resultado nutricional a la vez que un buen aspecto general y una alta aceptabilidad organoléptica.

### AGRADECIMIENTOS

Al Sr. Julio César Mancuello por la colaboración en la elaboración de los panes. Al Área de Lácteos del Instituto de Tecnología de Alimentos-FIQ-UNL por aportar el CPSC y los datos de su composición.

### REFERENCIAS

1. Bolsa de Cereales de Buenos Aires. Número estadístico 1994/1995 - 1995/1996.
2. Lindell MJ & Walker CE. Soy enrichment of Chapatias made from wheat and non wheat flours. Cereal Chem 1990; 61(5): 435-438.
3. Guy EJ. Evaluation of the bread-baking quality and storage stability of 12% soy-fortified flour containing sweet cheese whey solid. Cereal Chem 1984; 61(2): 83-88.

4. Mc Isaac C, Potter SM, Weigel MM. Effect of consumer education on the purchase of soy - containing bakery items. *Cereal Food World*. Vol 38 N 3. pp 154-156. 1993.
5. Sánchez HD, González RJ, Osella CA, de la Torre MA & Gutiérrez Herrera A. Uso de Okara en productos horneados. *Revista Agroquímica Tecnología de Alimentos* 1990;30/4 (501-508).
6. Sienkiewicz T, Riedel CL. Whey and Whey Utilization. 1990; pp 211. Publisher: Verlag Th. Mann-Germany.
7. Sánchez HD, de la Torre MA, Osella CA & Fabre HC. Whey protein concentrates in baking I. Effect on rheological properties. *Bakers Digest* May, 1984;pp.18-20.
8. Renz A & Renner E. Fortification of nondairy foods with dairy ingredients. *Food Technology*. 1987;pp 122-127.
9. Jacobson KA. Whey Protein Concentrates as functional ingredients in baked goods. *Cereal Food World*. 1997;pp 138-141.
10. Gélinas P & Lachance O. Development of fermented dairy ingredients as a flavor enhancers for Bread. *Cereal Chem* 1995;72(1):17-21.
11. American Association of Cereal Chemists- Approved Methods of the AACC The Association: St. Paul, Minn. 1994.
12. Locken L, Loska S & Shuey W. *The Farinograph Handbook*. AACC. The Association: St. Paul, Minn. 1972.
13. Chopin M. Cinquante années de recherches relatives aux blés et a leur utilization industrielle. Cap. VI: 91 -114. M. Chopin. Boulogne. 1977.
14. Sanchez HC, Mancuello JC & Fabre HC. Essai de panification pour le pain francais. *Industries de Céréales*. 25 Sept/Oct.1983.
15. Amerine MA, Pangborn RM & Roessler EB. Principles of sensory evaluation of food. Chapter 10-pag. 451 -. New York. San Francisco - London. Academic Press -1965.
16. Renner E and Romer G. Der tetraden test als aussagefähine sensorische methode I - Methodik und anwendung. *Z. Lebensm. Unters*; 1973; Forsch 151-326.
17. Booth VH. Problems in the determination of FDNB - Available Lysin. *Journal of Science and Agriculture*. 1971; 22 (658-665).
18. Bejosano FP & Corke H. Effect of Amaranthus and Buckwheat Protein on wheat dough properties and noodles quality. *Cereal Chem* 1998;75(2):171-176.
19. Melachouris, N. Symposium. Assesing functionality of whey proteins - Critical aspects in development of whey protein concentrates. *J Dairy Science* 6. 1984.
20. Sánchez HD, de la Torre MA, Osella CA, Mancuello JC, Barrio MC & Renner E. Einfluss von Molkenproteinkonzentrat bei der Herstellung von französischem Weissfrot - I - Beeinflussung der reologischen Eigenschaften. *Gertreide, Mehl und Brot*. 1987;41 (11) .
21. Sánchez HD, de la Torre MA, Osella CA, Mancuello JC, Barrio MC & Renner E. Einfluss von Molkenproteinkonzentrat bei der Herstellung von französischem Weissfrot - II - Technologische wirksamkeit bei der brotherstellung. *Gertreide, Mehl und Brot*. 1988;42 (2).

Recibido: 13-03-1997

Aceptado: 21-07-1998

## Fatty acid composition of beef, pork, and poultry fresh cuts, and some of their processed products

*Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny Carrillo de Padilla and Eduardo Martín G.*

Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela

**SUMMARY.** Numerous researchers have shown that dietary fats and oils may affect blood lipid levels and the development of cardiovascular diseases, but consumers are receiving mixed messages about the percentage of fat they should consume in their diets, and they can make proper food choices only when they have the right information. Fatty acid profiles of the meat food products in the Venezuelan diet were determined. Methyl esters were analyzed by gas chromatography on a PT 10% Silar-10C on Gas-Chrom Q 100/120 mesh column. Beef cuts presented a predominant presence of oleic acid (36.21%), palmitic (25.67%) and stearic (20.97). Oleic and palmitic acids are present in pork meat at 42.83 and 24.15% respectively; with lesser quantities of stearic and higher amounts of linoleic acid than beef. Poultry products showed a high content of linoleic (19.54%) and low content of stearic (8.22%) acids. Pork, poultry products, and beef liver presented a considerable amount of linoleic acid 11.85%, 19.54%, and 12.09%, respectively.

**Key words:** Lipids, fatty acids, food products, profile analysis.

### **RESUMEN. Perfil de ácidos grasos en cortes de carnes de bovino, porcino, aves y en algunos de sus productos manufacturados.**

Numerosas investigaciones han señalado que las grasas y los aceites de la dieta pueden afectar los niveles de lípidos en sangre y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares; a pesar de esto los consumidores reciben informaciones confusas acerca del porcentaje de grasa que deben consumir en su dieta y solo cuando tengan una información correcta, ellos podrán escoger los alimentos adecuados. Se determinó el perfil de ácidos grasos en carnes y en algunos de sus productos elaborados en Venezuela. Los ésteres metílicos fueron analizados por cromatografía de gases con una columna de PT 10% Silar en Gas-Chrom Q 100/1220 mesh. Los cortes de carnes de bovino presentaron principalmente ácido oleico (36.21%), palmítico (25.67%) y esteárico (20.97%). El ácido oleico y el palmítico están presentes en la carne porcina en un 42.83% y 24.15% respectivamente; encontrándose también en la carne de porcino menor cantidad de ácido estearico y mayor de linoleico con respecto a la carne de bovino. Los cortes de aves tienen alto contenido de ácido linoleico (19.54%) y bajo de estearico (8.22%). En la carne de cerdo, aves y el hígado de res se observó el mayor contenido de ácido linoleico 11.85%, 19.54% y 12.09% respectivamente.

**Palabras clave:** Lipidos, ácidos grasos, productos alimenticios, perfil analítico.

### **INTRODUCTION**

There has been a dramatic evolution in the role of fats and oils in human health. Some time ago fats were treated only as a macronutrient. Today, not only saturated and unsaturated fats are important but also individual fatty acids. Consumers are receiving mixed messages about the percentage of fat they should consume in their diets, and they can make proper food choices only when they have the right information, some of which might be available on the product label. During the past 30 years a large amount of information has been gathered on the role that diet plays in health and chronic disease, especially coronary heart disease. Numerous researchers (1-3) have confirmed that there is a strong relationship between the lipids consumed in the diet and total plasma cholesterol. Elevated levels of total plasma cholesterol are associated with increase of coronary heart disease risk. These studies have firmly established the hypercholesterolemic role of saturate fatty

acids and the hypocholesterolemic role of polyunsaturated ( $\omega$ -6 fatty acids), and monounsaturated fatty acids. More recent investigations (4,5) on the polyunsaturated fatty acids of the  $\omega$ -3 series (eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids) have determined that these fatty acids decrease the serum levels of triglycerides and cholesterol and that they have antithrombotic activity. This means that the quality of the lipids in the diet has a significant effect on the incidence of cardiovascular diseases. On the other hand many countries are enforcing nutritional labeling, with some mandatory and voluntary components (6) so the information on lipid composition of different food products in the diet is important for international trade.

The objective of the present study is to assess the fatty acid composition of fresh cuts of beef, pork and poultry, and some of their processed products on the Venezuelan market. Information, that is not available at the moment, and which will be of great importance for the international, regional, and

national food composition tables (INFOODS, LATINFOODS, VENEZUELANFOODS), as well as for nutritional labeling purposes.

## MATERIALS AND METHODS

3 Samples of each high consumption products were obtained in local supermarkets during a period of 12 months February 1994 to January 1995.

All reagents were analytical grade.

### Sample procedure

The crude sample (500 g) were homogenized by passing them twice through an Oster meat grinder and all the analysis were run triplicate. Total lipids from samples of the different products, containing approximately 0.5-0.7g of fat, were extracted by the method of Folch *et al.* (7). Moisture was determined by the AOAC method (8), in a Lab-line Imperial oven at 105°C.

### Chromatographic analysis

The fatty acid profiles were determined in a Varian 3700 gas chromatograph and a flame ionization detector. Separation was carried out in a stainless steel column (1.83m length x 3mm I.D.) packed with PT 10% Silar-10C on GasChrom Q 100/120mesh. After holding the initial temperature (80°C) for 5 min, it was programmed to increase 4°C/min to 160°C, followed by 1°C/min to 200°C. Detector and injector

temperature 300°C. Nitrogen flow rate 60ml/min, 40psi of hydrogen, and 60psi of air. Methyl esters were quantified by a HP 3395 Integrator. 1µl- 3µl of sample were injected.

Fatty acid methyl ester standards (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) were run in order to identify the fatty acids in the samples, using AOAC method (8) for quantification.

The methyl esters were prepared from the extracted fatty acids by adding a solution of 4% sulfuric acid in methanol (9) and heated in a water bath at 90°C for 2h. The samples were cooled in an iced bath, and 3 ml of cool water were added to separate the two phases. The aqueous phase was extracted three times with 3 ml of hexane. The hexane extracts were combined and made to volume in a 10ml volumetric flask.

## RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 presents the data of fresh beef cuts. Total lipids are in the range of 1.62 to 5.15%. The table shows that there is a predominance of the saturated fatty acids with an average value of 50.94%, with the palmitic acid as the major component (25.67%). Liver contains the least amount of saturated fatty acids (39.16%), an important quantity of linoleic acid (12.09%), and the highest amount of oleic acid (41.10%). The rest of the cuts presented saturated fatty acids values in the range of 49.29 for the heel round to 52.70% for the tip. Within this group the major fatty acid was palmitic acid (16:0) with an average of 25.67%.

TABLE 1  
Moisture, total lipids, and fatty acid composition<sup>(1)</sup> of fresh beef meat cuts

	TIP	Flank	Round	Fore Shank	Tender-loin	Heel of round	Chuck	Sirloin	$\bar{X}$	DS	Liver <sup>(2)</sup>
Moisture (%)	73.14	74.52	75.45	76.03	74.30	74.71	74.57	71.70	-	-	75.64
Lipid (%)	2.10	4.15	2.30	1.62	2.30	1.90	5.15	1.83	-	-	3.80
Saturated											
C 8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	ND
C 10:0	0.05	0.08	0.07	0.08	0.05	0.06	0.08	0.09	0.07	0.02	0.10
C 12:0	0.09	0.15	0.13	0.09	0.13	0.18	0.08	0.10	0.12	0.03	0.22
C 14:0	4.30	3.91	4.13	3.45	5.40	4.70	3.50	3.70	4.14	0.66	2.00
C 16:0	28.10	26.70	25.38	24.22	25.11	25.50	26.10	24.08	25.67	1.32	24.56
C 18:0	20.16	19.70	23.37	22.90	19.10	18.85	21.00	22.66	20.97	1.80	13.28
$\Sigma$ Sat.	52.70	50.54	53.08	50.74	49.79	49.29	50.76	50.63	50.94	1.31	39.16
Monounsaturated											
C 14:1	1.90	1.65	1.00	2.10	1.33	1.99	1.60	1.00	1.57	0.43	ND
C 16:1	5.70	7.13	5.73	5.36	6.35	6.03	6.23	4.90	5.93	0.68	3.56
C 18:1	34.50	35.15	36.24	36.62	35.80	37.10	35.93	38.30	36.21	1.17	41.10
$\Sigma$ Mono	42.10	43.93	42.97	44.08	43.48	45.12	43.76	44.20	43.71	0.90	44.66
Polyunsaturated											
C 18:2	4.00	3.42	2.91	3.70	3.73	4.20	2.55	3.71	3.53	0.55	12.09
C 18:3	0.65	1.20	0.60	1.23	1.94	1.20	2.90	1.00	1.34	0.75	2.12
$\Sigma$ Poly	4.65	4.62	3.51	4.93	5.67	5.40	5.45	4.71	4.87	0.68	14.21
C 20 or higher	0.53	0.70	0.43	0.43	0.55	0.20	0.91	0.47	0.53	0.21	0.81
P/S ratio	0.09	0.09	0.07	0.10	0.11	0.11	0.11	0.09	0.10	0.01	0.44
M/S ratio	0.80	0.87	0.67	0.87	0.84	0.92	0.86	0.85	0.86	0.04	1.04

(1) Expressed as methylesters in 100 g sample.  $\bar{X}$  = mean of n=3; SD = Standard Deviation. (2) Not used in  $\bar{X}$  and SD calculation

Monounsaturated fatty acids showed the highest content with an average value of (43.71%), and ranged from 42.10 to 45.12 %, with 18:1 being the prominent fatty acid. The smallest average value was found for the polyunsaturated fatty acids (4.87%).

When the polyunsaturated/saturated fatty acids ratio (P/S) and monounsaturated/saturated fatty acids ratio (M/S) are

calculated, the high content of saturated fatty acids is reflected. These values present a range of 0.07 to 0.44 and of 0.67 to 1.04 for the P/S and M/S, respectively.

Table 2 shows the values for pork products, where the total lipid content was as expected, higher than for beef, and in the range of 2.15 to 3.20%, with the exception of the pork fat that had 80.16%.

TABLE 2  
Moisture, total lipids, and fatty acid composition<sup>(1)</sup> of fresh pork cuts and processed products

	Loin	Fresh ham	$\bar{X}$	SD	Pork fat <sup>(2)</sup>	Cooked ham <sup>(2)</sup>	Smoked ham <sup>(2)</sup>
Moisture %	71.29	73.94	-	-	3.93	73.87	71.71
Lipid %	3.20	2.15	-	-	80.16	5.04	4.12
Saturated							
C 8:0	ND	ND	-	-	ND	ND	ND
C 10:0	0.05	0.08	0.07	0.02	0.07	0.05	0.09
C 12:0	0.41	0.11	0.26	0.21	0.09	0.07	0.15
C 14:0	1.22	1.40	1.31	0.13	1.10	1.40	1.73
C 16:0	25.62	22.68	24.15	2.08	24.07	25.53	27.93
C 18:0	11.68	11.99	11.84	0.22	13.26	10.85	14.44
$\Sigma$ Sat	38.98	36.26	37.62	1.92	38.59	37.90	44.34
Monounsaturated							
C 14:1	ND	ND	-	-	ND	ND	ND
C 16:1	4.20	3.23	3.72	0.69	2.41	3.89	4.02
C 18:1	43.23	42.43	42.83	0.57	43.21	43.92	46.24
$\Sigma$ Mono	47.43	45.66	46.55	1.25	45.62	47.80	50.26
Polyunsaturated							
C 18:2	10.52	13.17	11.85	1.87	11.70	10.65	1.32
C 18:3	0.98	1.04	1.01	0.04	1.41	1.04	1.11
$\Sigma$ Poly	11.50	14.21	12.86	1.92	13.11	11.68	2.43
C 20 or higher	2.10	3.52	2.81	1.00	2.69	0.67	2.00
P/S ratio	0.30	1.26	0.35	0.06	0.34	0.31	0.05
M/S ratio	1.22	1.26	1.24	0.03	1.18	1.2	1.13

(1) Expressed as methylesters in 100 g of sample,  $\bar{X}$ = Mean of n=3, SD= Standard deviation, (2) Not included in  $\bar{X}$ , and SD calculation.

The fatty acid profiles of fresh pork and pork products are presented in Table 2. The polyunsaturated fatty acids presented an average value of 12.86%, higher than that for beef, with a significant content of unsaturated fatty acids with a chain length of more than 20 carbons, probably eicosaenoic (20:1) and arachidonic acids (20:4), as has been reported by Nazer *et al.* (10). Saturated fatty acids presented an average of 37.62%, a much smaller value than the one found in beef (50.94%), with palmitic acid (16:0) being also the major fatty acid among the group. The monounsaturated and polyunsaturated fatty acids had an average value of 46.55% and 12.86% respectively. Within this group, again oleic acid was the predominant fatty acid. Polyunsaturated fatty acid values found in pork were higher than the ones for beef, as also was the amount of oleic acid. The calculation of the P/S and M/S ratios shows values higher than beef products, due to the difference in the amount of saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids.

Values were in the range of 0.05 to 1.26 (P/S) and 1.13 to 1.26 (M/S).

Table 2 also includes manufactured products such as cooked and smoked ham, where the values for the cooked ham are similar to the fresh one, while the smoked ham presented great differences. It is interesting to notice that the linoleic acid value obtained for smoked ham is rather low (1.32%) when compared to the rest of the products of the same type, like fresh and cooked ham.

The results for poultry are presented in Table 3. It can be seen that there is a great variability for total lipids, with average values between 1.00% for breast and 82.39% for chicken fat. There is also a predominance of the monounsaturated fatty acids, with the oleic acid (35.43%) as the major component. From the three types of meat, poultry is the one that has the highest content of polyunsaturated fatty acids (21.46%), with the prominent fatty acid being linoleic

acid (19.54%). Linoleic acid (C18:2) have an important nutritional value in the diet as an essential fatty acid. Saturated fatty acids ranged from 29.28% for liver to 36.40% for breast.

The P/S and M/S ratios varied from 0.55 to 0.81 and from 1.19 to 1.61, respectively.

TABLE 3  
Viscera, and turkey ham moisture, total lipids and fatty acid composition<sup>(1)</sup> of chicken fresh cuts

	Leg	Breast	$\bar{X}$	SD	Fat <sup>(2)</sup>	Liver <sup>(2)</sup>	Gizzard <sup>(2)</sup>	Skin <sup>(2)</sup>	Turkey Ham <sup>(2)</sup>
Moisture %	76.22	76.52	-	-	13.15	75.64	80.33	46.86	76.21
Lipids %	2.55	1.00	-	-	82.39	4.77	1.68	29.60	2.85
Saturated									
C 8:0	ND	ND	-	-	ND	ND	ND	ND	0.02
C 10:0	ND	ND	-	-	ND	ND	ND	ND	ND
C 12:0	0.09	0.12	0.11	0.02	0.07	0.05	0.15	0.07	0.03
C 14:0	2.00	1.26	1.63	0.52	1.20	1.62	1.99	1.75	1.06
C 16:0	22.08	24.86	23.47	1.97	19.90	22.43	24.17	23.80	25.37
C 18:0	6.28	10.16	8.22	2.74	9.77	5.18	4.98	5.55	4.84
$\Sigma$ Sat	30.45	36.40	33.43	4.21	30.94	29.28	31.29	31.17	31.31
Monounsaturated									
C 14:1	ND	ND	-	-	ND	ND	ND	ND	ND
C 16:1	10.00	8.79	9.40	0.86	7.65	13.02	11.18	10.00	2.65
C 18:1	36.28	34.58	35.43	1.02	38.10	33.73	39.30	34.70	35.11
$\Sigma$ Mono	46.28	43.37	44.83	2.06	45.75	46.75	50.48	44.70	37.76
Polyunsaturated									
C 18:2	20.79	18.29	19.54	1.77	21.05	21.34	15.70	21.16	28.33
C 18:3	1.95	1.88	1.92	0.05	1.90	2.50	2.15	2.70	0.62
$\Sigma$ Poly	22.74	20.17	21.46	1.82	22.95	23.84	17.85	23.86	28.95
C 20 or higher	0.58	0.08	0.33	0.35	0.40	0.15	0.42	0.28	1.54
P/S ratio	0.75	0.55	0.65	0.13	0.74	0.81	0.57	0.77	0.92
M/S ratio	1.52	1.29	1.36	0.23	1.48	1.60	1.61	1.43	1.21

(1) Expressed as methylesters in 100g of sample, X= Mean of n=3, SD= Standard deviation, (2) Not included in X, and SD calculation

A poultry product made with turkey and called "turkey ham" is also included in Table 3 and the values, in general, are similar to the ones in fresh chicken cuts with the exception of polyunsaturated fatty acids that presented higher values due to the linoleic acid content.

The results obtained in this study are similar to those reported previously by Reyes and Bosch (11), with the exception of the stearic and linoleic acid content of beef, that were present in higher and lesser quantities respectively.

Pork and chicken results were also similar to the ones reported by Sheppard *et al.* (12).

#### ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by a grant of the Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) of the Central University of Venezuela, Caracas. The authors would like to thank Dr. Stephen Tillett for his assistance in the correction of the manuscript.

#### REFERENCES

1. Kannel WB, Castelle WP, and Gordon T. Serum cholesterol lipoproteins and risk of coronary heart disease: The Framingham Study. *Ann Intern Med*, 1971; 74:1.
2. Etherton K, Krummel D, Russell ME, Dear D, Mackey S, Borchers J and Wood D. The effect of diet on plasma lipids, lipoproteins, and coronary heart disease. National Cholesterol Education Program. *J Am Diet Ass.* 1984; 88: 1373-1399.
3. Bonanome A and Grundy SC. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N Engl J Med*, 1988; 318:1244.
4. Dyerberg J. Linolenate-derivate polyunsaturated fatty acids and prevention of atherosclerosis. *Nutr Rev*, 1986; 44; 125.
5. Leaf A and Weber PC. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *N Engl J Med*, 1988; 318:549.
6. Jeon IK. Current regulatory status of nutrition labeling. In: *Analyzing Food for Nutrition Labeling and Hazardous Contaminants*. I.S. Jeon and W.G. Ikins eds. Marcel Dekker, Inc. New York, pp 2-3, 1995.

7. Folch J, Lees M and Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 1957; 26:497-509.
8. Association of Official Analytical Chemists, «Official Methods of Analysis», 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, Section 960.39, 1990.
9. Association of Official Analytical Chemists, «Official Methods of Analysis», 10th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., Section 26.052, 1965.
10. Nazer JM, Young CT and Giesbrecht FG. Pyrolysis-GC analysis as an identification method of fats and oils. *J Food Sci*, 1985; 50:1095-1100.
11. Reyes O y Bosch V. Determinación de ácidos grasos en alimentos de mayor consumo en Venezuela mediante cromatografía en fase gas-líquido. *Acta Cient Ven*, 1982; 33:453.458.
12. Sheppard AJ, Iverson JL and Weihrauch JL. Composition of selected dietary fats, oils, margarines and butters. In *Fatty Acids and Glycerides*, in Hanahan. D. J., Handbook of Lipid Research, Kuksis A, editors. Plenum Press, NY., 1978.

Recibido: 12-01-1998

Aceptado:03-08-1998

## Composición química de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*)

Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanís Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L. García Díaz

Universidad de Guanajuato, Universidad Autónoma de Nuevo León, Universidad Autónoma de Querétaro, México

**RESUMEN.** Se determinó la composición química de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*): INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897, cultivadas en un invernadero (22-28°C de temperatura y 80±5% de humedad relativa), utilizando paja de trigo como sustrato. El análisis de los cuerpos fructíferos expresado en g/100 g en peso seco, reveló valores de: Proteína (N x 6.25): 24.64 ± 0.21 - 28.50 ± 0.26; lípidos : 1.10 ± 0.16 - 1.85 ± 0.22; cenizas: 7.66 ± 0.23 - 8.79 ± 0.25; fibra dietética total: 32.14 ± 0.14 - 36.81 ± 0.40; y carbohidratos disponibles: 26.33 ± 1.04 - 30.46 ± 0.21. Se encontraron cantidades significativas de riboflavina: 3.31 - 3.70, tiamina: 1.92 - 1.96, niacina: 35.98 - 36.56 y ácido ascórbico 28 - 35, mg/100g en peso seco; los contenidos de calcio y fósforo fueron menos significativos. El contenido de ácido linoleico fue de 0.70 - 1.19 g/100g en peso seco. Se concluye que las setas pueden proporcionar a la dieta algunas vitaminas del complejo B, fibra dietética, proteína y ácido linoleico.

**Palabras clave:** Hongos, setas, *Pleurotus ostreatus*.

**SUMMARY.** Chemical composition of three Mexican strains of (*Pleurotus ostreatus*). The chemical composition of three Mexican strains of *Pleurotus ostreatus* (INIREB-8, CDBB-H-896 and CDBB-H-897), were determined. The mushrooms were cultivated on wheat straw in a greenhouse (22-28°C temperature and 80±5% of relative humidity). Fruits bodies of *P. ostreatus* contained (all values are expressed in g/100 g dry wt.), protein (N x 6.25): 24.64 ± 0.21 - 28.50 ± 0.26; lipids : 1.10 ± 0.16 - 1.85 ± 0.22; mineral matter: 7.66 ± 0.23 - 8.79 ± 0.25; dietary fibre: 32.14 ± 0.14 - 36.81 ± 0.40; and available carbohydrates: 26.33 ± 1.04 - 30.46 ± 0.21. They contain vitamins (mg/100 g dry wt): riboflavin: 3.31 - 3.7, thiamin: 1.92 - 1.96, niacin: 35.98 - 36.56 and ascorbic acid: 28 - 35. The main fatty acid was linoleic (0.70 - 1.19 g/100 g dry wt), it was also reported a low calcium and phosphorus content. Concluding the *Pleurotus ostreatus* could be a source of some of the complex B vitamins, dietary fiber, protein and linoleic acid.

**Key words:** Mushroom, *Pleurotus ostreatus*, oyster mushroom.

### INTRODUCCION

La producción mundial de hongos cultivados se ha incrementado notablemente, en 1991 más de 120 países produjeron 4.3 millones de toneladas (1). El *Agaricus bisporus* o champiñón ocupa el primer lugar en la producción mundial (38%) y el *Pleurotus* (seta) el segundo lugar (25%) siendo China el primer productor de este último (2). México tiene una gran tradición en la ingestión de hongos, que data desde tiempos prehispánicos, tanto los aztecas como los mayas conocían diversas especies comestibles (3) en los últimos años el cultivo de hongos comestibles *Agaricus* y *Pleurotus* ha tenido un gran éxito por su impacto social, económico y ecológico para zonas rurales (4). En 1931 por primera vez se cultiva en México el *Agaricus* o champiñón, en 1974 se inicia el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (5) y en 1989 se establece su producción rural, contando actualmente con una tecnología rentable y de bajo costo (4). La producción del *Pleurotus* se ha popularizado por la facilidad en su cultivo, ya que es de crecimiento rápido, utiliza una gran variedad de sustratos y existen cepas que pueden crecer tanto en climas templados como tropicales (6). Actualmente *P. ostreatus* se cultiva en diversos estados de la República Mexicana como son los

estados de Puebla, Estado de México, Veracruz, Tlaxcala, Querétaro y Guanajuato entre otros.

Durante mucho tiempo el valor nutricional de los hongos fue prácticamente ignorado, ahora sin embargo, se reconoce que además de ser alimentos deliciosos tienen una alta calidad nutricional y atributos medicinales (7). Algunos estudios realizados en los últimos años demuestran que los hongos contienen proteína de 19 - 35 g/100 g en peso seco, con todos los aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales y fibra dietética que pueden ser de gran beneficio para el ser humano especialmente en los países en donde hay escasez de alimentos (6-9).

La micología en México se inició desde el siglo pasado, por lo que se cuenta con importantes estudios taxonómicos, genéticos, agronómicos, florísticos y bioquímicos de los hongos mexicanos (10); sin embargo, a pesar de que las setas se están integrando cada día más a la dieta mexicana se considera que hacen falta más estudios para determinar las diferentes características químicas y nutricionales de los diversos tipos de hongos comestibles.

En este trabajo se estudió la composición química de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*), con el objeto de definir algunas de sus características nutricionales y conocer los beneficios que pueden proporcionar a la dieta.

## MATERIALES Y METODOS

### Origen de las cepas

La cepa de *Pleurotus ostreatus* INIREB-8 del Instituto de Ecología de Xalapa, Veracruz, México, se adquirió en el Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste de Tapachula, Chiapas, México, la cual se cultiva comercialmente. Las cepas CDBB-H-896 y CDBB-H-897 fueron donadas por el Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional de la ciudad de México, D.F.

### Cultivo

Los cultivos se mantuvieron en agar papa dextrosa en caja de Petri a 4°C. Los inóculos se prepararon en 200 g de semilla de trigo previamente esterilizada a 121°C durante 30 min en bolsas de polipapel, siguiendo el procedimiento de Soto-Velazco et al. (11). La paja de trigo empleada como sustrato se pasteurizó durante 1 hora a 80°C, se enfrió y se inoculó con las semillas de trigo en bolsas de plástico transparente de 30 x 50 cm, se cerraron y se dejaron en una cámara de desarrollo micelial a 28°C durante dos semanas hasta que el micelio colonizó completamente a los sustratos. Para el desarrollo de los cuerpos fructíferos se eliminaron las bolsas de plástico y los sustratos se colocaron en el invernadero a temperatura ambiente registrada entre 22 y 28°C y una humedad relativa de 80 ± 5%. Cuando las setas alcanzaron la madurez comercial (12) se cosecharon los dos primeros cortes. Debido a la poca capacidad del invernadero el procedimiento se repitió 6 veces con el objeto de reunir 1.2 kg de muestra seca (entre 12 y 15 kg de setas frescas de cada cepa).

### Preparación de las muestras

Se usó el cuerpo fructífero completo, sólo se eliminó la base del estípite (entre 0.5 y 1 cm) para evitar cualquier contaminación con el sustrato. Las setas frescas de cada corte se deshidrataron a 30°C en un horno de convección forzada B&T Searle Company BS2648, se molieron en un micromolino General Electric pasando por un tamiz de malla 40, se mezclaron todos los cortes de cada cepa hasta tener la suficiente cantidad de muestra para todas las pruebas. Se conservaron en frascos cerrados en un refrigerador doméstico (4°C) para su análisis.

### Análisis químico

Las determinaciones de humedad, proteína (N x 6.25), cenizas, lípidos (extracto etéreo), fibra dietética total, calcio y fósforo se hicieron de acuerdo a los métodos de la AOAC (13).

Los carbohidratos disponibles se calcularon restando a 100 la suma de los contenidos de proteína, cenizas, lípidos y fibra dietética total.

### Valor energético

La energía se calculó con base en la materia seca de acuerdo con la ecuación de Lau (14), modificando en el

cálculo de carbohidratos, en este caso se está considerando la fracción de carbohidratos disponibles (Tabla 1) y no de carbohidratos totales cuando se toma en cuenta la fibra cruda de acuerdo con los métodos de AOAC (13).

$$\text{Kcal/100 g} = 2.62 \times (\% \text{ N} \times 6.25) + 4.2 \times (\% \text{ de carbohidratos}) + 8.37 (\% \text{ de lípidos})$$

TABLA 1  
Análisis proximal de setas *Pleurotus ostreatus*

g/100 g en peso seco+	INIREB-8 Media ± D.E.*	CDBB-H-896 Media ± D.E.*	CDBB-H-897 Media ± D.E.*
Proteína (N x 6.25)	28.50±0.26a	24.64±0.21b	27.49±0.17c
Extracto etéreo	1.55±0.22a	1.85±0.22a	1.10±0.16b
Cenizas	8.05±0.25a	7.66±0.23a	8.79±0.25b
Fibra dietética total	35.56±0.36a	36.81±0.40b	32.14±0.14c
Carbohidratos disponibles	26.33±1.04a	29.03±0.59b	30.46±0.21c

\* Desviación estándar

+ Los valores representan la media de 3 determinaciones.

a, b, c. Indican diferencia significativa (p<0.05)

### Ácidos grasos

Los lípidos se extrajeron con éter etílico, 1g del extracto etéreo se esterificó con una mezcla de 10 mL de metanol y 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado, se reflujo por 4 horas. La muestra esterificada se extrajo con una mezcla de cloroformo-agua recuperándose los ácidos grasos en la fase cloroformica.

La muestra se inyectó en un cromatógrafo de gases Varian 3700 con detector de ionización de flama, con columna especial par a ácidos grasos de la misma compañía (GP 10%, SP-2330 en Chromosorb WAW 100/120; 6' x 1/16" SS), la temperatura de la columna fue de 150 - 190°C con incremento de 5°C, el volumen inyectado fue de 1 µL, la temperatura del inyector de 250°C, los flujos del nitrógeno, hidrógeno y aire fueron: 20, 30 y 300 mL/min respectivamente (15). El tiempo de la cromatografía fue de 25 min. Se utilizaron estándares de Sigma Chemical Co.

### Vitaminas

En la determinación de vitaminas se emplearon los métodos oficiales de la AOAC (13): riboflavina (microbiológico) 940.33, tiamina (fluorométrico) 953.17, niacina (microbiológico) 944.13 y el ácido ascórbico por método titulométrico con dicloro fenol indofenol 967.21.

### Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Se emplearon tres cepas de *Pleurotus ostreatus* (INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897). Las variables estudiadas fueron: Proteína (N x 6.25), humedad, cenizas, extracto etéreo, fibra dietética total, carbohidratos disponibles, calcio y fósforo; los análisis se hicieron por triplicado. Se hizo un análisis de varianza y la diferencia entre las medias se estableció según la

prueba de rangos múltiples de Duncan (16) para el procesamiento de datos se empleó el paquete estadístico Microsoft Excel. Para los casos de ácidos grasos y vitaminas se informa solamente la media de dos determinaciones.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Análisis proximal

El análisis proximal (Tabla 1) reveló diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los contenidos de: proteína ( $N \times 6.25$ ), fibra dietética total y carbohidratos disponibles entre las tres cepas; la cepa CDBB-H-897 mostró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el contenido de extracto etéreo (1.10 g/100 g peso seco) que fue menor al de las otras dos cepas. El contenido de cenizas que varió de 7.66 a 8.79 g/100 g peso seco fue superior en la cepa CDBB-H-897, mostrando diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los valores de las otras dos cepas. El contenido de humedad fue de  $90.10 \pm 0.05$ ;  $89.8 \pm 0.08$  y  $90.12 \pm 0.05$  g/100 g para las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 respectivamente, no se observó diferencia estadística entre estas medias. Con excepción de la fibra dietética total y los carbohidratos disponibles los valores encontrados para las demás variables concuerdan con los informados en la literatura para distintas especies de *Pleurotus* (6,8).

La proteína ( $N \times 6.25$ ) osciló entre 24.64 y 28.50 g/100 g en peso seco, al corregir estos valores utilizando el factor de conversión 4.38 sugerido por Crisan y Sands (8) para cálculo de proteína verdadera se obtienen valores de 19.97, 17.26 y 19.26 g/100 g en peso seco, para las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 respectivamente; estos contenidos se encuentran dentro del intervalo informado para distintas especies de *Pleurotus* que oscila de 8.9 a 38.7 g/100 g de proteína ( $N \times 4.38$ ) en peso seco (6). La proteína es uno de los componentes que puede variar según las condiciones de cultivo y el sustrato (17), Crisan y Sands (8) calcularon el índice de Aminoácidos Esenciales para distintos alimentos y diversas variedades de hongos, encontrando valores de 100 para alimentos de origen animal como carnes y pollo, 99 para la leche, 91 para papa y frijoles y 89 para el *Pleurotus ostreatus*, sugiriendo con esto que la mayoría de los hongos contienen todos los aminoácidos esenciales y que su proteína es de buena calidad.

### Fibra dietética total

Se encontraron valores de fibra dietética entre 31.14 y 36.81 g/100 g en peso seco, (Tabla 1), estos fueron inferiores al contenido de fibra dietética total 47.5% (11.6% de celulosa, 27.8% de hemicelulosa y el resto de sustancias pécticas) informado para *Pleurotus ostreatus* (6).

Las propiedades hipocolesterolemicas del *Pleurotus*, podrían estar relacionadas con el contenido de fibra dietética, debido a que las hemicelulosas y pectinas son los principales componentes de la fibra en el *Pleurotus spp* (6,18,19). Se ha reportado que la capacidad de adsorción de compuestos orgá-

nicos que presentan la lignina, pectina y hemicelulosas, causan interacción y excreción de ácidos biliares propiedad directamente relacionada con la capacidad de reducir los niveles de colesterol plasmático (20).

### Acidos grasos

El ácido linoleico (C18:2) es el que se encuentra en mayor proporción en las tres cepas, con valores de 0.7 - 1.19 g/100 g en peso seco, la CDBB-H-896 presentó el valor más alto (Tabla 2). Se ha informado que este ácido es el que se presenta en mayor concentración en las distintas especies de *Pleurotus* (6) y aunque el contenido de lípidos sea relativamente bajo, es muy importante la presencia de este ácido graso esencial.

TABLA 2  
Acidos grasos en *Pleurotus ostreatus*

g/100 g en peso seco*	INIREB-8	CDBB-H-896	CDBB-H-897
Ac. Linoleico	1.06	1.19	0.70
Ac. Oleico	0.20	0.27	0.16
Ac. Esteárico	0.04	0.05	0.03
Ac. Palmítico	0.21	0.23	0.18
Ac. Mirístico	0.01	0.02	0.008
Ac. Láurico	0.02	0.07	0.007

\*Los valores representan la media de 2 determinaciones.

### Vitaminas

En la Tabla 3 se observan las concentraciones de vitaminas determinadas en las muestras secas, los valores de niacina están entre 35.26 y 36.56 mg/100 g, los de riboflavina entre 3.31 y 3.7 mg/100 g, los de tiamina se encuentran en el intervalo de 1.92 a 1.96 mg/100 g y los del ácido ascórbico entre 28 y 35 mg/100 g en peso seco. Se ha reportado que el contenido promedio de tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico en mg/100 g en peso seco para distintas especies de *Pleurotus* es de 2, 4, 40 y de 50 respectivamente (14). Los valores encontrados en este trabajo se sitúan ligeramente abajo de este promedio. No obstante, las cepas de *Pleurotus* estudiadas son ricas en niacina, riboflavina y especialmente en tiamina ya que sus contenidos superan al de otras fuentes de esta vitamina como las acelgas (0.56), brócolis (0.64), calabacita italiana (1.0) e hígado de res (0.86) mg/100 g en peso seco (21).

### Valor energético

El valor energético fue de 198.22; 201.25 y 209.16 Kcal/100 g en peso seco (19.62; 20.58 y 20.66 Kcal/100 g en fresco) para la cepa INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 respectivamente. Una de las principales cualidades de los hongos en su bajo contenido energético, comparable al del espárrago, espinaca cruda, escarola y otras verduras (21), por lo que se pueden proponer como alimento en regímenes especiales.

TABLA 3  
Vitaminas en setas *Pleurotus ostreatus*

Cepa	Niacina	Riboflavina	Tiamina	Ac. Ascórbico
INIREB-8	36.26	3.61	1.92	30.00
CDBB-H-896	35.98	3.31	1.95	28.00
CDBB-H-897	36.56	3.70	1.96	35.00

Los datos representan la media de dos determinaciones, expresadas en mg/100 g en peso seco

#### Calcio y fósforo

En este estudio se encontró mayor concentración de calcio que de fósforo como se puede observar en la Tabla 4, los valores de calcio que están entre 0.79 y 1.85 g/100 g en peso seco fueron superiores al 0.033 g/100 g informado para *Pleurotus ostreatus* cultivado en paja de arroz (6). La concentración de fósforo fue de 0.49 a 0.95 inferior al valor de 1.348 g/100 g en peso seco reportado también para el *Pleurotus ostreatus* (6). Los hongos probablemente contienen cada mineral presente en el sustrato de crecimiento (8), por lo que pueden variar su contenido de acuerdo con éste.

TABLA 4  
Calcio y fósforo en setas (*Pleurotus ostreatus*)

g/100 g en peso seco+	INIREB-8 Media ± D.E.*	CDBB-H-896 Media ± D.E.	CDBB-H-897 Media ± D.E.
Calcio	1.85 ± 0.07a	1.58 ± 0.04b	0.79 ± 0.01c
Fósforo	0.95 ± 0.05a	0.71 ± 0.01b	0.49 ± 0.01c

\* Desviación estándar.

+ Los valores representan la media de tres determinaciones.

a, b, c Indican diferencia significativa (p<0.05)

#### Consideraciones finales

En la Tabla 5 se presenta el contenido de nutrimentos en 250 g de setas frescas de la cepa INIREB-8, considerando que se pudieran ingerir como platillo principal, así como el porcentaje que cubriría de la ingestión diaria recomendada (IDR) para la población mexicana establecida en la Norma Oficial Mexicana NOM-050-SCFI-1994 (22). Por el porcentaje que se cubre de tiamina, riboflavina y niacina las setas se pueden considerar fuente importante de estas vitaminas y aunque de proteína sólo se cubre el 9.40% del requerimiento diario, se debe tomar en cuenta que en México el platillo principal se acompaña siempre con tortilla, arroz o pan; por lo que la proteína de las setas que contienen todo los aminoácidos esenciales serviría como complemento para las proteínas de los alimentos consumidos al mismo tiempo. Aunque la Norma Oficial Mexicana no especifica una IDR para fibra dietética, es importante mencionar que 250 g de setas frescas contienen 8.8 g de fibra dietética; este valor cubre el 35.2% de la IDR (25

g) establecida para una dieta de 2000 Kcal en los Estados Unidos de Norteamérica (23).

Como conclusión final del presente trabajo se puede decir que las setas (*Pleurotus ostreatus* constituyen un alimento sano bajo en grasas, que contiene además algunas de las vitaminas del complejo B, fibra dietética, proteína y ácido linoleico, por lo que su consumo es altamente recomendable.

TABLA 5  
Contenido de nutrimentos en 250 g de setas frescas (INIREB-8) y porcentaje que cubre de la ingestión diaria recomendada

Nutrimento	IDR*	Contenido en 250 g de setas frescas	Porcentaje de IDR*
Proteína (g)	75.0	7.05	9.40
Tiamina (mg)	1.5	0.47	31.68
Riboflavina (mg)	1.7	0.89	52.55
Niacina (mg)	20.0	8.97	44.87
Vitamina C (mg)	60.0	7.42	12.37
Calcio (mg)	800.0	0.46	0.06
Fósforo (mg)	800.0	0.23	0.03
Fibra dietética	—	8.80	

\* Ingestión diaria recomendada (22)

#### REFERENCIAS

1. Chang ST, Miles PG. Recent trends in world production of cultivated edible mushrooms. *Mushroom J* 1991; 503:15-18.
2. International Society for Mushroom Science. Major edible mushroom species. (Original consultado en internet: <http://www.hri.ac.uk/isms/pag3.htm>. 1997).
3. Guzmán G. El uso de los hongos en Mesoamérica, *Ciencia y Desarrollo* 1984;X(59):17-27.
4. Martínez-Carrera D, Vergar F, Aguilar A, Sobal M, Martínez W, Larqué-Saavedra A. Simple Technology for canning cultivated edible mushrooms in rural conditions in México. *Micr Neotrop Apl.* 1996;9:15-27.
5. Martínez-Carrera DR, Leben R, Morales P, Sobal M, Larqué-Saavedra A. Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México. *Ciencia y Desarrollo* 1991;XVI(96):33-43.
6. Bano Z, Rajarathnam S. *Pleurotus* mushrooms. Part II Chemical composition, nutritional value post-harvest physiology, preservation and role as human food. *CRC Crit Rev in Food Sci and Nut* 1988;27:87-158.
7. Chang ST, Buswell JA. Mushroom nutraceuticals. *World J Microbiol & Biotchnol* 1996;12:473-475.
8. Crisan EV, Sands A. Nutritional value. In: Chang ST, Hayes WA, editors. *The biology and cultivation of edible mushrooms*. New York: Academic Press, 12978:137-167.
9. Chang ST, Miles PG. *Edible mushrooms and their cultivation*. CRC Press. Boca Ratón, Florida, 1988.
10. Guzmán G. La micología en México. *Rev Mex Mic* 1990;6:11-20.
11. Soto-Velazco C, Arias A, Fausto S. Elaboración de inóculos en

- bolsas de polipapel para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Sociedad Mexicana de Micología, editors. Memorias IV Congreso Nacional de Micología; 1991. Tlaxcala, Tlax. México: Sociedad Mexicana de Micología, 1991:94.
12. Kurtzman RJ Jr., Zadrzil F. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushrooms. In: Chang ST, Quimio TH, editors. Tropical Mushrooms: Biological Nature and Cultivation Methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982:299-345.
  13. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 15th ed. Arlington, Virginia, USA. K. Herlich (Ed). The Association, 1990.
  14. Lau, Oi-wah, Methods of chemical analysis of mushrooms. In: Chang ST, Quimio TH editors. Tropical Mushrooms: Biological Nature and Cultivation Methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982:87-115.
  15. Supelco, Chromatography Supplies. GC-HPLC-TLC. Catálogo 20. International Bellefonte, Pennsylvania, 1982.
  16. Montgomery DG. Diseño y análisis de experimentos. México, Grupo Editorial Iberoamericana, 1991.
  17. Rajarathnam S, Bano Z. *Pleurotus* mushrooms. Part III. Biotransformation of natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications. CRC Crit Rev in Food Sci and Nutr 1989;28:31-104.
  18. Bodek P, Ozdin L, Kuniak L. The effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), its ethanolic extract and extraction residues on cholesterol levels in serum, lipoproteins and liver of rat. Nahrung 1995;39:88-99.
  19. Guzmán G. Los hongos en la medicina tradicional de Mesoamérica y de México. Rev Iberoamer Micol 1994;11:81-85.
  20. Rosado JL. Propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética y su efecto gastrointestinal. In: Mejía LA, Bourges H, Rosado JL, editors. Fibra y Salud. Memorias del II Simposio Internacional sobre fibra dietética. México: Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán/Kellogg de México, S.A. de C.V., 1989:87-115.
  21. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán/Coordinación General de la Comisión Nacional de Alimentación. Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. INNSZ/CONAL. 1992:5B-14A.
  22. Diario Oficial. Norma Oficial mexicana NOM-050-SFI-1994, Información Comercial-Disposiciones Generales para Productos. Miércoles 24 de enero de 1996.
  23. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. A Food Labeling Guide. September, 1994.

Recibido: 27-08-1997

Aceptado: 18-08-1998

## Información para los autores

### Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas <sup>1</sup>

*Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas* <sup>2</sup>

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 1993<sup>3</sup>.

#### RESUMEN DE LOS REQUISITOS

El manuscrito se mecanografiará a doble espacio, incluidos la página del título (página inicial, portada), el resumen, el texto, los agradecimientos, las referencias, los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones.

Cada componente del manuscrito empezará en página aparte,

siguiendo esta secuencia: página del título; resumen y palabras clave; texto; agradecimientos; referencias; cuadros (cada uno, junto con el título y las notas al pie, en página aparte); y pies o epígrafes de las ilustraciones.

Las ilustraciones se presentarán en forma de impresiones fotográficas de buena calidad, en papel satinado, sin montar y generalmente de 127 x 173 mm, sin exceder de 203 x 254 mm.

Las copias del manuscrito y de las ilustraciones en el número requerido (véanse las instrucciones de la revista) se remitirán en un sobre de papel resistente. El manuscrito irá acompañado de una carta explicatoria, según se describe más adelante en "Presentación del manuscrito a la revista", y de los permisos necesarios para reproducir material ya publicado o para usar ilustraciones en las que se pueda identificar a alguna persona.

Síganse las instrucciones de la revista con respecto a la cesión de los derechos de autor. Los autores conservarán copia de todo lo enviado.

#### PUBLICACION PREVIA Y DUPLICADA

La mayoría de los directores de revista no desean considerar para publicación un manuscrito acerca de un trabajo que ya se ha dado a conocer en un artículo publicado o que se ha descrito en un artículo propuesto o aceptado para publicación en otra parte, ya sea un medio impreso o electrónico. Por lo general, esta norma no impide considerar un artículo rechazado por otra revista o una comunicación completa que sigue a la publicación, por lo común bajo la forma de un resumen, de un informe preliminar. Tampoco impide considerar un artículo presentado en una reunión científica si éste no aparece íntegramente en las actas de la reunión o una publicación semejante. Las informaciones periodísticas acerca de la reunión no se considerarán en general como infracciones de esta regla, pero no habrán de ampliarse mediante datos suplementarios o copias de los cuadros o las ilustraciones. Cuando se propone un artículo para publicación, el autor está obligado a informar plenamente al director de la revista acerca de cualquier presentación del documento a otras revistas o cualquier informe anterior que pudiera considerarse publicación previa o duplicada de un mismo trabajo o de uno muy semejante. Junto con el manuscrito se incluirán copias de los documentos pertinentes para ayudar al director a decidir la manera de hacer frente a este asunto.

Rara vez se justifica la publicación múltiple, que se define como el acto de publicar más de una vez los mismos resultados

<sup>1</sup> 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.*

<sup>2</sup> *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.*

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

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

La divulgación preliminar, generalmente por conducto de los medios de comunicación de masas, de la información científica contenida en un artículo ya aceptado pero aún sin publicar representa una infracción de las normas de muchas revistas. En contadas ocasiones, y sólo mediante previo acuerdo con el director, puede aceptarse la diseminación preliminar de datos; por ejemplo, cuando se trata de precaver a la gente contra ciertos riesgos para la salud pública.

### PREPARACION DEL MANUSCRITO

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. Utilícense para este propósito los términos de la lista *Medical Subject Headings* (MeSH) [Encabezamientos de materia médica] del *Index Medicus*; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en los MeSH, podrán usarse las expresiones corrientes.

## TEXTO

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que llevan estos encabezamientos: introducción, métodos, resultados y discusión. En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas divisiones a fin de hacer más claro el contenido, sobre todo en las secciones de resultados y discusión. Es probable que otro tipo de artículos —como los informes de casos, las revisiones y los editoriales— exijan otra estructura. Para mayor orientación, los autores deberán consultar la revista en la que pretenden publicar.

### Introducción

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

### Métodos

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

### Ética

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

### Estadística

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

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

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

### Resultados

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

### Discusión

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

### AGRADECIMIENTOS

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

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

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

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

## REFERENCIAS

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

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

Absténgase de utilizar los resúmenes como referencias. Tampoco cite como referencias las "observaciones inéditas" y las "comunicaciones personales". En cambio, puede usted insertar en el texto (entre paréntesis) las referencias a comunicaciones escritas, no verbales. Asimismo, incluya en las referencias los artículos aceptados aunque todavía no estén publicados; en este caso, indique el título de la revista y agregue "En prensa". La información sobre manuscritos presentados a una revista pero que aún no han sido aceptados cítela en el texto como "observaciones inéditas" (entre paréntesis).

Los autores verificarán las referencias cotejándolas contra los documentos originales.

Se presentan a continuación una serie de ejemplos de formas correctas de referencias.

### Artículos de revistas científicas

1. **Artículo ordinario (Inclúyase el nombre de todos los autores cuando sean seis o menos; si son siete o más, anótese sólo el nombre de los seis primeros y agréguese "et al."):**

4 Evidentemente, por "extranjero" se entiende aquí en relación con el idioma inglés, pues los ejemplos de referencias bibliográficas se han trasladado directamente del original, sin adaptarlas. (N. del T.).

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980 Aug;79(2):311-4.

Como opción, si una revista utiliza la paginación continua a lo largo de un volumen, podrán omitirse el mes y el número:

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4.

Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, 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 extranjero<sup>4</sup>:**

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. London: 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, utilícese los símbolos siguientes en la secuencia que se indica: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡, ....

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como

la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros.

Cerciórese de que cada cuadro sea citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde.

Incluir un número excesivo de cuadros en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto.

Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para ser publicados, queden depositados en un servicio de archivo, como el National Auxiliary Publications Service (NASP) [Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares] en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Sea como fuere, dichos cuadros se presentarán junto con el artículo.

## ILUSTRACIONES (FIGURAS)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan  $127 \times 173$  mm, sin exceder de  $203 \times 254$  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*.

## Indice General del Volumen 48 - 1998

### ARTICULOS GENERALES

<b>γ-Oryzanol: Un importante componente del aceite de salvado de arroz.</b> Eliete Malfatti Serra Scavariello, Daniel Barrera Arellano .....	7
<b>The street food culture of Guatemala City: A case study from a downtown, urban park.</b> Esther Freese, María-Eugenia Romero-Abal, Noel W. Solomons .....	95
<b>Absorción del hierro de los alimentos. Papel de la vitamina A.</b> María Nieves García-Casal, Miguel Layrisse .....	191
<b>Programas y políticas referentes al deficit de crecimiento (Repercusiones de una línea de investigación realizada en Chile).</b> Hugo Amigo, Patricia Bustos .....	281

### TRABAJOS DE INVESTIGACION

#### NUTRICION HUMANA

<b>Peso para la talla en adultos: comparación de clasificaciones con y sin corrección por contextura.</b> Rosa Armenia Hernández Hernández, Yolanda Hernández de Valera .....	13
<b>Estado nutricional de alunos matriculados em escolas públicas de tempo integral. São Paulo, Brasil.</b> Marina Vieira da Silva .....	18
<b>Efecto de la altura sobre la absorción del hierro.</b> Fernando Pizarro, Nelly Zavaleta, Eva Hertrampf, Rocío Berlanga, Liliana Camborda, Manuel Olivares ....	25
<b>Estado nutricional de adultos mayores institucionalizados. Valencia Estado Carabobo, Venezuela.</b> Evelyn Peña P., Liseti Solano R., Zulay Portillo, Lesbia Meetens de Rodríguez .....	104
<b>Lípidos séricos y niveles de las vitaminas A,C y E en una población adulta de la ciudad de Caracas.</b> Patricio Hevia, Carol Mella, Ana María Cioccia, Diamela Carías, Ana Virginia Avila, Esther Linda Arciniegas .....	112
<b>Lactancia en mujeres del área rural con baja biodisponibilidad de nutrimentos a partir de su dieta habitual.</b> Leticia Alonso, Norma Ortíz, Isneida Ramírez, Filiberto Jasso, Soledad DeSantiago .....	122
<b>Estimación de talla y peso en niños de 9 a 14 años a partir de la altura de la rodilla y de la circunferencia media el brazo.</b> Mercedes Márquez Acosta, Rafael D. Yépez Rivas, Carmen E. Rivas de Yépez, Rosalía S. de Naranjo, Guillermo Ramos, Manuel Rincón Silva, Naika Díaz, Milagros Pontiles .....	197
<b>Evaluación antropométrica y rendimiento escolar en estudiantes de educación media Valparaiso, Chile.</b> Triana Andrea Toro Díaz, Atilio Aldo Almagia Flores, Daniza Ivanovic Marincovich .....	201
<b>Diferencias en la composición porcentual de los poliinsaturados de cadena larga en eritrocitos materno-fetales en nacimientos de término y pretérmino en humanos.</b> Julia Araya Araya, Myrna Rojas García, Pilar Fernández Fraile, Argentina Mateluna Acevedo .....	210

**BIOQUIMICA 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

**Alterations in kidney enzyme pattern in acute hypervitaminosis A.**

Oscar M. Alarcón, J. Reinos Fuller, G. García de Méndez, R. Agudelo, E. Carnevalí de Tatá, T. Silva ..... 129

**Variaciones en el contenido de calcio, fosfato, magnesio y sodio en huesos de ratas macho castradas.**

Miguel A. De Bortoli, Luis N. Villegas, Marisa H. Garraza, Mónica Gauch ..... 134

**Participación del hígado en el suministro de ácidos grasos esenciales poliinsaturados de cadena larga durante el desarrollo postnatal del cerebro de rata.**

Venezuela Azavache, Carmen Cuevas de Mejía, Virgilio Bosch R. .... 216

**Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition.**

Angulo-Guerrero O, Oliart R.R ..... 287

**Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on adenylate cyclase, 5'nucleotidasa and Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activities in rat brain-plasma membrane.**

Angulo-Guerrero O., Oliart R.R..... 293

**Efeito do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos.**

Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Paulo F. G. Leal, Tânia T. Oliveira ..... 299

**Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol, sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos.**

Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Renato M. Nunes, Paulo F. G. Leal ..... 306

**Avaliação da qualidade nutricional da proteína da folha de mandioca combinada com a caseína pela reação de plasteína.**

Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Luiz Carlo Guedes de Miranda, George Henrique Kling de Moraes, Luciano Esteves Peluzio ..... 311

**Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido (*Opuntia ficus indica*) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteínas y glucosa en sangre de ratas.**

María Luisa Cárdenas Medellín, Sergio O. Serna Saldívar, Jesús Velazco de la Garza ..... 316

**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 (*Sorghum bicolor* (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

**Características nutricionales de barra de cereales y maní.**

Berta Escobar A., Ana María Estévez A., Andrés Tepper L., Marcela Aguayo R. .... 156

**Almacenamiento y uso de antioxidantes en barras de cereales y maní.**

Ana María Estévez, Berta Escobar A., Andrés Tepper L., Elena Castillo V. .... 160

<b>Evaluación de las características reológicas y sensoriales de panes elaborados a base de una mezcla de concentrado proteico de girasol y proteína texturizada de soya.</b>	
C. Gómez-Juárez, R. Castellanos-Molina, A. Salazar-Zazueta .....	165
<b>Efeito da maltagem e da extrusão termoplástica sobre a qualidade tecnológica da cultivar de soja Br 16.</b>	
Luiz C. Trugo, Carlos W.P. Carvalho, Monica Pinto, Lair Cabral, Regina C. D. Modesta .....	169
<b>Quality control of beer hopped with reduced isomerised products.</b>	
Katia Jorge, Luiz C. Trugo .....	242
<b>Cocrystalización de concentrado de pepino (<i>Cucumis sativa</i> L.).</b>	
Alma Vázquez, César I. Beristain .....	247
<b>Características nutricionales de una galleta formulada con plasma sanguíneo de bovino como principal fuente proteica.</b>	
Enrique Márquez Salas, Betty Benítez Payares, Negda Méndez Gil, Lisbeth Rangel Matos, Ida Medrano, Inés Venencia, Pedro Izquierdo, Romer Romero, Haydeé V. Castejón .....	250
<b>Evaluación químico-nutricional de <i>Sorghum saccharatum</i> var. Sugar drip. Estudio de complementación con proteína de lactosuero.</b>	
Mirta L. de Arellano, José A. Cid, Isabel Giménez, Sara Mucciarelli .....	324
<b>Efecto de la cocción sobre la composición química y el valor nutritivo de la semilla de <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Bent).</b>	
Ma. Guadalupe Alanís Guzmán, Mario Rafael González Quijada, Roberto Mercado Hernández .....	328
<b>Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran.</b>	
Alex Augusto Goncalves, Eliana Badiale-Furlong, Leonor Almeida de Souza-Soares, Simone Treibs Siervs .....	334
<b>Avaliação da composição em aminoácidos de <i>Pleurotus spp.</i> cultivados em folha de bananeira.</b>	
Marcia Regina T. De Camargo Ranzani, Gilma L. Sturion .....	339

## EDUCACION NUTRICIONAL

<b>Aleitamento materno em favelas: um programa de incentivo através de visitas domiciliares.</b>	
Maria Helena do Nascimento Souza, Ana Lydia Sawaya, Ricardo Sesso, Dirce Maria Sigullem .....	231
<b>Windiet Sistema de apoio à decisão para avaliação do estado nutricional e prescrição de dietas.</b>	
Elizabete Adriana Esteves, Alexandre Dias Siqueira, Josefina Bressan Resende Monteiro, Artêmio Ludwig .....	236

## NUTRICION Y CANCER

<b>El consumo de alimentos preparados con maíz, trigo y arroz, y su relación con la incidencia de cáncer gástrico en México.</b>	
Ramón Alberto Rascón Pacheco, Lizbeth López Carrillo .....	221
<b>Evaluation of the composition of the regional diet in Sonora México: incidence of colon cancer.</b>	
C Jane Wyatt .....	225

## TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

<b>Desenvolvimento de bebida láctea a base de flocos de abóbora.</b>	
Zelyta F. Fernández, Nonete B. Guerra, Nadja M. A. Diniz, Silvana Magalhães Salgado, Thérbia M. M. Guerra, Ana C. S. Lopes, Judith C.P.S. Neta María R. Fátima Padilha .....	175
<b>Mejoramiento de la calidad nutricional de pan tipo francés.</b>	
Hugo Diego Sánchez, Carlos Alberto Osella, María Adela G. De la Torre .....	349

## DESNUTRICION INFANTIL

<b>Pobreza, desnutrición infantil y morbilidad en familias del área urbana del Gran Plata, Buenos Aires.</b>	
Susana Ortale, María A. Rodrigo .....	146

**MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS**

<b>Presencia de coliformes totales, <i>Escherichia coli</i> y <i>Listeria sp.</i> en fórmulas enterales.</b> María Laura Arias, Rafael Monge, Julia Rodríguez .....	68
<b>Efecto de las microondas sobre la sobrevivencia de bacterias esporuladas inoculadas en carne molida.</b> María Laura Arias, Manuel Jiménez, Florencia Antillón .....	152

**LATIN FOODS**

<b>Composición lipídica de huevos de gallinas alimentadas con productos grasos y proteicos marinos.</b> Carola García, Cecilia Albala .....	71	1
<b>Valor nutritivo y aceptabilidad de la carne de chinchilla.</b> Sivia Rocío Echalar, María Joaquina Jiménez, Adriana Noemí Ramón .....	77	7
<b>Fibra dietética soluble, insoluble y total en leguminosas crudas y cocidas.</b> Irma H. Herrera B., Eglis P. González G., José G. Romero .....	179	
<b>Vitamin C in Barbados Cherry <i>Malpighia glabra</i> L. Pulp submitted to processing and to different forms of storage.</b> Nilson Evelázio de Souza .....	256	
<b>Contenido de algunos nutrientes minerales y variaciones estacionales en <i>Porphyra columbina</i>, alga comestible de la costa Patagonia Argentina.</b> María Angélica Fajardo, Fabiana Alvarez, Oscar Héctor Pucci, María Luz Pita Martín de Portela .....	260	
<b>Vitaminas y minerales del atún aleta amarilla (<i>Thunnus albacares</i>) del Pacífico mexicano enlatado en aceite.</b> María Isabel Castro-González, Fernando Pérez-Gil Romo, Ma. Elena Carranco Jáuregui, Ma. Eugenia Juárez Silva .....	265	
<b>Fatty acid composition of beef, pork, and poultry fresh cuts, and some of their processed products.</b> Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny Carrillo de Padilla, Eduardo Martín G .....	354	
<b>Composición química de tres cepas mexicanas de setas (<i>Pleurotus ostreatus</i>).</b> Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanis Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L., García Díaz .....	359	
<b>NOTAS</b> .....	82,183,	269
<b>NUEVOS LIBROS</b> .....	270	
<b>IN MEMORIAM</b> .....	271	
<b>INFORMACION PARA LOS AUTORES</b> .....	83,184,	273,364

## Indice por Autores del Volumen 48 - 1998

### A

<b>Aguayo R., Marcela</b> véase Escobar A., Berta .....	156
<b>Agudelo R.A.</b> Efecto de la cocción sobre la digestibilidad proteica del sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L) Moench)	47
<b>Alanis Guzmán, María Guadalupe.</b> Efecto de la cocción sobre la composición química y valor nutritivo de la semilla de <i>Pithecellobium flexicaule</i> (Bent).....	328
<b>Alanis Guzmán, María Guadalupe</b> véase Bautista Justo, Mayela .....	359
<b>Alarcón Oscar, M.</b> Alterations in kidney enzyme pattern in acute hypervitaminosis .....	129
<b>Alarcón Oscar, M.</b> véase Agudelo R.A .....	47
<b>Albala, Cecilia</b> véase García Carola .....	71
<b>Almeida de Souza-Soares, Leonor</b> véase Gonçalves, Alex Augusto .....	334
<b>Almagia Flores, Atilio Aldo</b> véase Toro Díaz, Triana Andrea .....	201
<b>Alonso, Leticia.</b> Lactancia en mujeres del área rural con baja biodisponibilidad de nutrimentos a partir de su dieta habitual .....	122
<b>Alvaréz, Fabiana</b> véase Fajardo, María Angélica .....	260
<b>Amigo, Hugo.</b> Programas y políticas referentes al déficit de crecimiento (Repercusiones de una línea de investigación realizada en Chile) .....	281
<b>Angulo-Guerrero, O.</b> Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition .....	287
<b>Angulo-Guerrero, O.</b> Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on adenylate cyclase, 5' nucleotidasa and Na <sup>+</sup> K <sup>+</sup> -ATPase activities in rat brain-plasma membrane .....	293
<b>Antillón, Florencia</b> véase Arias María Laura .....	152
<b>Araujo Vizcarrondo, Consuelo.</b> Fatty acid composition of beef, pork, and poultry fresh cuts, and some of their processed products .....	354
<b>Araya Araya, Julia.</b> Diferencias en la composición porcentual de los poliinsaturados de cadena larga en eritrocitos materno-fetales en nacimientos de término y pretérmino en humanos .....	210
<b>Arciniegas, Esther Linda</b> véase Hevia, Patricio .....	112
<b>Arellano, Mirta L. de.</b> Evaluación químico-nutricional de <i>Sorghum saccharatum</i> var. <i>sugar drip</i> . Estudio de complementación con proteína de lactosuero .....	324
<b>Arias María Laura.</b> Efecto de las microondas sobre la sobrevivencia de bacterias esporuladas inoculadas en carne molida .....	152
<b>Arias, María Laura.</b> Presencia de coliformes totales, <i>Escherichia coli</i> y <i>Listeria</i> sp. en fórmulas enterales	68
<b>Attie Vieira, Otávio</b> véase Visentainer, Jesuí Virgílio .....	256
<b>Azavache, Venezuela.</b> Participación del hígado en el suministro de ácidos grasos esenciales poliinsaturados de cadena larga durante el desarrollo postnatal del cerebro de rata .....	216
<b>Avila, Ana Virginia</b> véase Hevia, Patricio .....	112

### B

<b>Badiale-Furlong, Eliana</b> véase Gonçalves, Alex Augusto .....	334
<b>Barrera Arellano, Daniel</b> véase Malfatti Serra Scavariello, Eliete .....	7
<b>Batista de Moraes, Mauro</b> véase Vítolo, Marcia Regina .....	141
<b>Bautista Justo, Mayela.</b> Composición química de tres cepas mexicanas de setas ( <i>Pleurotus ostreatus</i> ).....	359

<b>Benítez Payares, Betty</b> véase Márquez Salas, Enrique .....	250
<b>Beristain, César I.</b> véase Vázquez, Alma .....	247
<b>Berlanga, Rocío</b> véase Pizarro, Fernando .....	25
<b>Bosch, Virgilio</b> véase Azavache Venezuela .....	216
<b>Bressan Resende Monteiro, Josefina</b> véase Esteves Elizabeth Adriana .....	236
<b>Bressani, Ricardo.</b> 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 .....	41
<b>Brunoro Costa, Neuza</b> véase Rosa, Carla O.B .....	299
<b>Brunoro Costa, Neuza</b> véase Rosa, Carla O.B .....	299
<b>Bustos, Patricia</b> véase Amigo, Hugo .....	281

## C

<b>Cabral, Lair</b> véase Trugo, Luiz C .....	169
<b>Calderon, Eduardo</b> véase Bressani, Ricardo .....	41
<b>Camborda, Liliana</b> véase Pizarro, Fernando .....	25
<b>Cárdenas Medellín, María Luisa.</b> Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido ( <i>Opuntia ficus indica</i> ) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteínas y glucosa en sangre de ratas .....	316
<b>Cariás, Diamela</b> véase Hevia, Patricio .....	112
<b>Carneiro Gomes, Eliane</b> véase Serpe Elpo, Eliana Rose .....	65
<b>Carnevali de Tatá, E.</b> véase Alarcón, Oscar M. ....	134
<b>Carrillo de Padilla, Fanny</b> véase Araujo Vizcarrondo, Consuelo .....	354
<b>Carvalho, Carlos W.P.</b> véase Trugo, Luiz C. ....	169
<b>Carranco Jáuregui, María Elena</b> véase Castro-González, María Isabel .....	265
<b>Castejón, Haydeé V.</b> véase Márquez Salas, Enrique .....	250
<b>Castellanos-Molina, R.</b> véase Gómez-Juárez, C. ....	165
<b>Castillo V., Elena</b> véase Estévez, Ana María.....	160
<b>Castro-González, María Isabel.</b> Vitaminas y minerales del atún aleta amarilla ( <i>Thunnus albacares</i> ) del Pacífico Mexicano enlatado en aceite .....	265
<b>Cid, José A.</b> véase Arellano, Mirta L. de.....	324
<b>Cioccia Anna María</b> véase Hevia, Patricio .....	112
<b>Chon, Carlos</b> véase Bressani, Ricardo .....	41
<b>Cuevas, Carlos M.</b> véase Geronazzo, Hugo .....	52
<b>Cuevas de Mejía, Carmen</b> véase Azavache, Venezuela .....	210

## D

<b>De Bortoli, Miguel A.</b> Variaciones del contenido de calcio, fosfato, magnesio y sodio en huesos de rata macho castradas .....	134
<b>De Camargo Ranzani, Marcia Regina.</b> Avaliação da composição aminoácidos de <i>Pleurotus spp.</i> cultivados em folha de bananeira .....	339
<b>De la Torre, María Adela G.</b> véase Sánchez, Hugo Diego .....	349
<b>De Portela, Martín</b> véase Fajardo, María Angélica .....	260
<b>DeSantiago, Soledad</b> véase Alonso, Leticia .....	122
<b>De Souza, Nelson</b> véase Dutra de Oliveira, José Eduardo .....	35
<b>Dias Siqueira, Alexandre</b> véase Esteves, Elizabeth Adriana .....	236
<b>Díaz, Naika</b> véase Márquez Acosta, Mercedes .....	197
<b>Diniz, Nadja M.A.</b> véase Fernández, Zelyta F. ....	175
<b>Do Nascimento Souza, María Helena.</b> Aleitamento materno em fevejas: um programa de incentivo através de visitas domiciliares .....	231
<b>Dutra de Oliveira, José.</b> Methionine supplementation of soya products: Effects on nitrogen balance parameters .....	35

## E

<b>Echalar Rocío Silvia.</b> Valor nutritivo y aceptabilidad de la carne de chinchilla .....	77
<b>Escobar, Berta.</b> Características nutricionales de barras de cereales y maní .....	156
<b>Escobar, Berta</b> véase Estévez A. Ana María .....	160
<b>Esquerria Brauer, Ingrid Rebeca</b> véase Pinelli Saavedra, Araceli .....	58
<b>Esteves, Elizabete Adriana.</b> Windiet. Sistema de apoio à decisão para avaliação do estado nutricional e prescrição de dietas .....	236
<b>Estévez A., Ana María.</b> Almacenamiento y uso antioxidantes en barras de cereales y maní .....	160
<b>Estévez A., Ana María</b> véase Escobar A. Berta .....	156
<b>Esteves Peluzio, Luciano</b> véase Gouveia Peluzio, Maria do Carmo .....	311
<b>Evelázio de Souza, Nilson</b> véase Visentainer, Jesuí Virgílio .....	256

## F

<b>Fagundes-Neto, Ulysses</b> véase Vítolo, Márcia Regina .....	141
<b>Fajardo, María Angélica.</b> Contenido de algunos nutrientes minerales y variaciones estacionales en <i>Phorphyra Columbina</i> , Alga comestible de la costa Patagónica Argentina .....	260
<b>Fernández, Pilar</b> véase Araya Araya, Julia .....	210
<b>Fernández, Zelyta F.</b> Desenvolvimiento de bebida láctea a base de flocos de abóbora .....	175
<b>Fliedel G.</b> véase Agudelo R.A. ....	47
<b>Freese, Esther.</b> The street food culture of Guatemala City: A case study from a downtown, urban park .....	95

## G

<b>Geronazzo, Hugo.</b> 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) .....	52
<b>García, Carola.</b> Composición lipídica de huevos de gallinas alimentadas con productos grasos y proteicos marinos .....	71
<b>García-Casal, María Nieves.</b> Absorción del hierro de los alimentos. Papel de la vitamina A .....	191
<b>García Díaz, Carlos L.</b> véase Bautista Justo, Mayela .....	359
<b>García de Méndez, G.</b> véase Alarcón Oscar M. ....	129
<b>Garraza, Marisa H.</b> véase De Bortoli, Miguel A. ....	134
<b>Gauch, Mónica</b> véase De Bortoli, Miguel A. ....	134
<b>Giménez, Isabel</b> véase Arellano, Mirta L. de .....	324
<b>Gómez-Juárez, C.</b> Evaluación de las características reológicas y sensoriales de panes elaborados a base de una mezcla de concentrado proteico de girasol y proteína texturizada de soja .....	165
<b>Gonçalves, Alex Augusto.</b> Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran .....	334
<b>González G., Eglis P.</b> véase Herrera B., Irma M. ....	179
<b>González Quijada, Mario Rafael</b> véase Alanis Guzmán, María Guadalupe .....	328
<b>González de Mejía, Elvira</b> véase Bautista Justo, Mayela .....	359
<b>Gouveia Peluzio, Maria do Carmo.</b> Avaliação da qualidade nutricional da proteína da folha de mandioca combinada com caseína pela reação de plateína .....	311
<b>Guedes de Miranda, Luiz Carlos</b> véase Gouveia Peluzio, Maria do Carmo.....	311
<b>Guerra, Nonete B.</b> véase Fernández, Zulyta F. ....	175
<b>Guerra, Thérbia M.M.</b> véase Fernández, Zelyta F. ....	175

## H

<b>Hernández Hernández, Rosa Armenia.</b> Peso para la talla en adultos: comparación de clasificaciones con y in corrección por contextura .....	13
<b>Hernández de Valera, Yolanda</b> véase Hernández Hernández, Rosa Armenia .....	13
<b>Herrera M., Irma M.</b> Fibra dietética soluble y total en leguminosas crudas y cocidas .....	179

<b>Hertrampf, Eva</b> véase Pizarro, Fernando .....	25
<b>Hevia, Patricio.</b> Lípidos séricos y niveles de las vitaminas A, C y E en una población adulta de la ciudad de Caracas .....	112
<b>Higuera Ciapara, Inocencio</b> véase Pinelli Saavedra, Inocencio .....	58

## I

<b>Ivanovic Marinovich, María</b> véase Toro Díaz, Triana Andrea .....	201
<b>Izquierdo, Pedro</b> véase Márquez Salas, Enrique .....	250

## J

<b>Jasso, Filiberto</b> véase Alonso, Leticia .....	122
<b>Jiménez, Manuel</b> véase Arias, María Laura.....	152
<b>Jordao Jr., Almaceu Alfonso</b> véase Dutra de Oliveira, José Eduardo.....	35
<b>Juárez Silva, María Eugenia</b> véase Castro-Gonzalez, María Isabel.....	265

## K

<b>Kátia, Jorge.</b> Quality control of beer hopped with reduced isomerised products .....	242
<b>Kling de Moraes, George</b> véase Gouveia Peluzio, María do Carmo .....	311

## L

<b>Layrisse, Miguel</b> véase García-Casal, María Nieves .....	191
<b>Leal, Paulo F.G.</b> véase Rosa, Carla O.B. ....	299
<b>Leal, Paulo F.G.</b> véase Rosa, Carla O.B. ....	306
<b>Lopes, Ana C.S.</b> véase Fernández, Zelyta F. ....	175
<b>López Carrillo, Lizbeth</b> véase Rascón Pacheco, Ramón Alberto.....	221
<b>Ludwig, Artemio</b> véase Esteves, Elizabethe Adriana .....	236
<b>Luviano Silva, Alma Rosa</b> véase Pinelli Saavedra, Araceli .....	58
<b>Luzt, Mariane.</b> La dieta como determinante del desarrollo el sistema nervioso central: Rol de los ácidos grasos esenciales .....	29

## M

<b>Macoritto, Alberto</b> véase Geronazzo, Hugo .....	52
<b>Magalhaes Salgado, Silvana</b> véase Fernández, Zelyta F. ....	175
<b>Malfatti Serra Scavariello, Eliete.</b> $\gamma$ -Oryzanol: Un importante componente del aceite de salvado de arroz .....	7
<b>Marchini, Sergio J.</b> véase Dutra de Oliveira, José Eduardo .....	35
<b>Márquez Acosta, Mercedes.</b> Estimación de talla y peso en niños de 9 a 14 años a partir de la altura de la rodilla y de la circunferencia media del brazo .....	197
<b>Márquez Salas, Enrique.</b> Características nutricionales de una galleta formulada con plasma sanguíneo de bovino como principal fuente proteica .....	250
<b>Martín G., Eduardo</b> véase Araujo de Vizcarrondo Cónsuelo .....	354
<b>Mateluna Acevedo, Argentina</b> véase Araya Araya, Julia .....	210
<b>Matsushita, Makoto</b> véase Visentainer, Jesuís Virgilio .....	256
<b>Medrano, Ida</b> véase Márquez Salas, Enrique .....	250
<b>Meertens de Rodríguez, Lesbia</b> véase Peña P., Peña .....	104
<b>Mella, Carol</b> véase Hevia Patricio .....	112
<b>Méndez Gil, Negda</b> véase Márquez Salas Enrique.....	250
<b>Mercado, Adela</b> véase Geronazzo, Hugo .....	52
<b>Mercado Hernández, Roberto</b> véase Alanis Guzmán, María Guadalupe .....	359
<b>Modesta, Regina C.D.</b> véase Trugo, Luiz C. ....	169

<b>Monge, Rafael</b> véase Arias Ma. Laura .....	68
<b>Morón Jiménez, María Joaquina</b> véase Echalar, Silvia Rocío .....	77
<b>Mucciarelli, Sara</b> véase Arellanano, Mirta L. de.....	324

## N

<b>Naranjo, Rosalía S. de</b> véase Márquez Acosta, Mercedes .....	197
<b>Neta, Judith C.P.S.</b> véase Farnandez, Zelyta F. ....	175
<b>Nogueira de Campos Aguirre, Andrea</b> véase Vítolo, Márcia Regina .....	141
<b>Nunes, Renato M.</b> véase Rosa, Carla O.B. ....	306

## O

<b>Oliart, R.R.</b> véase Angulo-Guerrero, O. ....	287,293
<b>Olivares, Manuel</b> véase Pizarro, Fernando .....	25
<b>Oliveira, Tania T.</b> véase Rosa, Carla O.B. ....	299
<b>Osella, Carlos Alberto</b> véase Sánchez, Hugo Diego .....	234
<b>Ortale, Susana.</b> Pobreza, desnutrición infantil y morbilidad en familias del área urbana del Gran Plata, Buenos Aires .....	146
<b>Ortiz, Norma</b> véase Alonso, Leticia .....	122

## P

<b>Padilha, Fatima María R.</b> véase Fernández, Zelyta F. ....	175
<b>Peña P., Evelyn.</b> Estado nutricional de adultos mayores institucionalizados. Valencia, Estado Carabobo, Venezuela .....	104
<b>Pérez-Gil Romo, Fernando</b> véase Castro-González, María Isabel .....	265
<b>Pinelli Saavedra, Araceli.</b> Métodos de extracción de quitina a partir de cáscara de camarón .....	58
<b>Pinto, Mónica</b> véase Trugo, Luiz C. ....	169
<b>Pita Martín de Portela, María Luz</b> véase Fajardo, María Angélica .....	260
<b>Pizarro, Fernando.</b> Efecto de la altura sobre la absorción del hierro .....	25
<b>Pontiles, Milagros</b> véase Márquez Acosta, Mercedes .....	197
<b>Portillo, Zulay</b> véase Peña P., Evelyn .....	104
<b>Pucci, Oscar Héctor</b> véase Fajardo, María Angélica.....	260

## R

<b>Ramírez, Isneida</b> véase Alonso Leticia .....	122
<b>Ramón, Adriana Noemí</b> véase Echalar, Silvia Rocío .....	77
<b>Ramos, Guillermo</b> véase Márquez Acosta, Mercedes .....	197
<b>Rangel Matos, Lisbeth</b> véase Márquez Salas, Enrique. ....	250
<b>Rascón Pacheco, Ramón Alberto.</b> El consumo de alimentos preparados con maíz, trigo y arroz, y su relación con la incidencia de cáncer gástrico en México .....	221
<b>Reinosa Fuller, J.</b> véase Alarcón, Oscar M. ....	129
<b>Rincón Silva, Manuel</b> véase Márquez Acosta, Mercedes .....	197
<b>Rivas de Yépez, Carmen E.</b> véase Márquez Acosta Mercedes .....	197
<b>Rodrigo, María A.</b> véase Ortale, Susana .....	146
<b>Rodríguez, Julia</b> véase Arias María Laura .....	68
<b>Rojas García, Myrna</b> véase Araya Araya, Julia .....	210
<b>Romero, José G.</b> véase Herrera, Irma M. ....	179
<b>Romero, Romer</b> véase Márquez Salas, Enrique .....	250
<b>Romero-Abal, María Eugenia</b> véase Freese, Esther .....	95
<b>Rosa Carla O. B.</b> Efeito do feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) sem casca na redução do colesterol sangüíneo em ratos hipercolesterolêmicos .....	299

<b>Rosa, Carla O.B.</b> Efeito dos feijões ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sangüíneo em ratos hipercolesterolêmicos .....	306
--	-----

## S

<b>Sawaya, Ana Lydia</b> véase Do Nascimento Souza, María Helena .....	231
<b>Salazar-Zarzueta, A.</b> véase Gómez-Juárez, C. ....	165
<b>Sánchez, Hugo Diego.</b> Mejoramiento de la calidad nutricional de pan tipo francés .....	349
<b>Sesso, Ricardo</b> véase Do Nascimento Souza, María Helena .....	221
<b>Serna Saldívar, Sergio O.</b> véase Cárdenas Medellín, María Luisa .....	316
<b>Serpe Elpo, Eliana Rose.</b> Avaliação dos teores de ferro nos alimentos da cesta básica .....	65
<b>Sigulem, Dirce María</b> véase Do Nascimento Souza, María Helena .....	231
<b>Silva, T.</b> véase Alarcón, Oscar M. ....	134
<b>Solano R., Liseti</b> véase Peña P. Liseti .....	104
<b>Solomons, Noel W.</b> véase Freese, Esther .....	95
<b>Sossela de Freitas, Renato Joao</b> véase Serpe Elpo, Eliana Rose .....	65
<b>Sturion, Gilma L.</b> véase De Camargo Ranzani, Marcia Regina .....	399

## T

<b>Tepper L., Andrés</b> véase Estévez A. Ana María .....	160
<b>Tepper L., Andrés</b> véase Escobar A. Berta .....	156
<b>Toledo Guillén, Alma Rosa</b> véase Pinelli Saavedra, Araceli .....	58
<b>Toro, María A.</b> véase Geronazzo, Hugo .....	52
<b>Toro Díaz, Triana Andrea.</b> Evaluación antropométrica y rendimiento escolar en estudiantes de educación media de Valparaíso, Chile .....	201
<b>Treibs Siervs, Simone</b> véase Gonçalves, Alex Augusto .....	334
<b>Trugo, Luiz C.</b> Efeito da maltagem e da extrusão termoplástica sobre a qualidade tecnológica da cultivar de soja Br 16 .....	169
<b>Trugo, Luiz C.</b> véase Jorge, Kátia .....	242

## V

<b>Vázquez, Alma.</b> Cocrystalización de concentrado de pepino ( <i>Cucumis sativa</i> L.).....	247
<b>Velázco de la Garza, Jesús</b> véase Cárdenas Medellín, María Luisa .....	316
<b>Venencia, Inés</b> véase Márquez Salas, Enrique .....	250
<b>Vieira da Siva.</b> Estado nutricional de alunos matriculados em escolas públicas de tempo integral. São Paulo, Brasil .....	18
<b>Villegas, Luis N.</b> véase De Bortoli, Miguel A. ....	134
<b>Visentainer, Jesu Vergílio.</b> Vitamin C in Barbados cherry <i>Malpighia glabra</i> L. pulp submitted to processing and different forms of storage .....	256
<b>Vit, Patricia.</b> A test to detect cane-sugar-honey .....	62
<b>Vítolo, Márcia Regina.</b> Estimativa do consumo de fibra alimentar por crianças de acordo com diferentes tabelas de alimentos .....	141

## Y

<b>Yépez Rivas, Rafael D.</b> véase Márquez Acosta, Mercedes .....	197
--	-----

## W

<b>Wyatt, C. Jane.</b> Evaluation of the composition of the regional diet in Sonora Mexico: incidence of colon cancer .....	225
---	-----

## Z

<b>Zavaleta, Nelly</b> véase Pizarro, Fernando .....	25
--	----

## Índice por Materias del Volumen 48 - 1998

### A

<b>Absorción del hierro</b> , Efecto de la altura sobre la .....	25
<b>Absorción del hierro</b> , de los alimentos. Papel de la vitamina A .....	191
<b>Ácidos grasos</b> , la dieta como determinante del desarrollo del sistema nervioso central: Rol de los, esenciales .....	29
<b>Ácidos grasos</b> , Participación del hígado en el suministro de, esenciales poliinsaturados de cadena larga durante el desarrollo postnatal del cerebro de rata .....	216
<b>Alimentación materna</b> , em favelas: um programa de incentivo através de visitas domiciliares .....	231
<b>Alga comestible</b> , Contenido de algunos nutrientes minerales y variaciones estacionales en <i>Porphyra columbina</i> , de la Costa Patagónica Argentina .....	260
<b>Antioxidantes</b> , almacenamiento y uso de, en barras de cereales y maní .....	160
<b>Atun Aleta Amarilla</b> ( <i>Thunnus albacares</i> ), vitaminas y minerales del, del Pacífico mexicano enlatado en aceite .....	265

### B

<b>Bacterias esporuladas</b> , Efecto de las microondas sobre la sobrevivencia de, inoculadas en carne molida .....	146
<b>Beans</b> , comparative study of, from vine and bush type of vegetative growth. Effect of storage on cell wall components as factors in increasing cooking time .....	41
<b>Beer</b> , Quality control of, hopped with reduced isomerised products .....	242

### C

<b>Calcio</b> , Variaciones en el contenido de, fosfato, magnesio y sodio en huesos de ratas macho castradas .....	134
<b>Cáncer gástrico</b> , El consumo de alimentos preparados con maíz, trigo y arroz, y su relación con la incidencia de, en México .....	221
<b>Cane-Sugar-Honey</b> , a test to detect .....	62
<b>Características reológicas</b> , Evaluación de las, y sensoriales de panes elaborados a base de una mezcla de concentrado proteico de girasol y proteína texturizada de soya .....	165
<b>Carne de chinchilla</b> , valor nutritivo y aceptabilidad de la .....	77
<b>Cáscara de camarón</b> , métodos de extracción de quitina a partir de .....	58
<b>Cereales</b> , características nutricionales de barras de, y maní .....	156
<b>Colon cáncer</b> , Evaluation of the composition of the regional diet in Sonora, México: incidence of .....	225
<b>Crecimiento</b> , Programas y políticas referentes al déficit de .....	281

### D

<b>Desnutrición infantil</b> , Pobreza, y morbilidad en familias del área urbana del Gran la Plata, Buenos Aires .....	146
<b>Diets</b> , Windiet Sistema de apoio á decisão para avaliação do estado nutricional e prescrição de .....	236

**E**

<b>Eritrocitos Materno-fetales</b> , Diferencias en la composición porcentual de los poliinsaturados de cadena larga en, en nacimientos de término y pretérmino en humanos .....	210
<b>Escherichia coli y Listeria sp.</b> , presencia de coliformes totales, en fórmulas enterales .....	68
<b>Estado nutricional</b> , de alunos matriculados em escolas públicas de tempo integral. São Paulo, Brasil .....	18
<b>Estado nutricional</b> , de adultos mayores institucionalizados. Valencia, Estado Carabobo, Venezuela .....	104
<b>Evaluación antropométrica</b> , y rendimiento escolar en estudiantes de educación media de Valparaíso, Chile ...	201

**F**

<b>Fatty acid</b> , composition of beef, pork, and poultry fresh cuts, and some of their processed products .....	354
<b>Feijão preto (Phaseolus vulgaris L.)</b> , efeito do, sem casca na redução do colesterol sanguíneo em ratos hipercolesterolêmicos .....	299
<b>Feijões (Phaseolus vulgaris L.)</b> , efeito dos, preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo em ratos hipercolesterolêmicos .....	306
<b>Ferro</b> , avaliação dos teores de, nos alimentos da cesta básica .....	65
<b>Fiber in rice</b> , enzymatic determination of soluble and insoluble dietary, and wheat bran .....	334
<b>Fibra alimentar</b> , estimativa do consumo de, por crianças de acordo com diferentes tabelas de composição de alimentos .....	141
<b>Fibra dietética</b> , soluble, insoluble y total en leguminosas crudas y cocidas .....	179
<b>Folha de bananeira</b> , avaliação da composição em aminoácidos de <i>Pleurotus spp.</i> Cultivados em. ....	339
<b>Food Culture</b> , the street, of Guatemala City: A case study from a downtown, urban park .....	95

**G**

<b>Galleta formulada</b> , Características nutricionales de una, con plasma sanguíneo de bovino como principal fuente proteica .....	250
--	-----

**H**

<b>Huevos de gallina</b> , composición lipídica de, alimentadas con productos grasos y proteicos marinos .....	71
<b>Hypervitaminosis A</b> , alterations in kidney enzyme pattern in acute .....	129

**L**

<b>Lactancia en mujeres</b> , del área rural con baja biodisponibilidad de nutrimentos a partir de su dieta habitual ...	112
<b>Láctea</b> , desenvolvimento de bebida, a base de flocos de abóbora .....	175

**M**

<b>Mandioca</b> , Avaliação da qualidade nutricional da proteína da folha de, combinada com a caseína pela reação de plasteína .....	311
--	-----

**N**

<b>Nopal crudo y cocido (Opuntia ficus indica)</b> , Efecto de la ingestión de, en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteínas y glucosa en sangre de ratas .....	316
--	-----

**P**

<b>Pan</b> , titulo: mejoramiento de la calidad nutricional de, tipo francés .....	349
<b>Pepino (Cucumis sativa L.)</b> , Cocrystalización de concentrado de .....	247

<b>Peso</b> , para la talla en adultos: comparación de clasificaciones con y sin corrección por contextura .....	13
<b><i>Pithecellobium flexicaule</i> (Bent)</b> , Efecto de la cocción sobre la composición química y valor nutricio de la semilla de .....	328
<b>Polyunsaturated fatty acids</b> , effects of dietary, on rat brain plasma membrane fatty acid composition .....	287
<b>Polyunsaturated fatty acids</b> , effects of dietary, on adenylate cyclase, 5' nucleotidasa and Na <sup>+</sup> K <sup>+</sup> -ATPase activites in rat brain-plasma membrane .....	293

## S

<b>Salvado de arroz</b> , $\gamma$ -Oryzanol: Un importante componente del aceite de .....	7
<b>Setas (<i>Pleurotus ostreatus</i>)</b> , Composición química de tres cepas mexicanas de .....	359
<b>Soja</b> , efeito da maltagem e da extrusão termoplástica sobre a qualidade tecnológica da cultivar de, Br 16 ...	169
<b>Sorghum</b> , evaluación químico nutricional de, <i>saccharatum</i> var. sugar drip .....	324
<b>Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> (L) Moench)</b> , efecto de la cocción sobre la digestibilidad proteica del .....	47
<b>Soya</b> , methionine supplementation of, products: Effects on nitrogen balance parameters .....	35

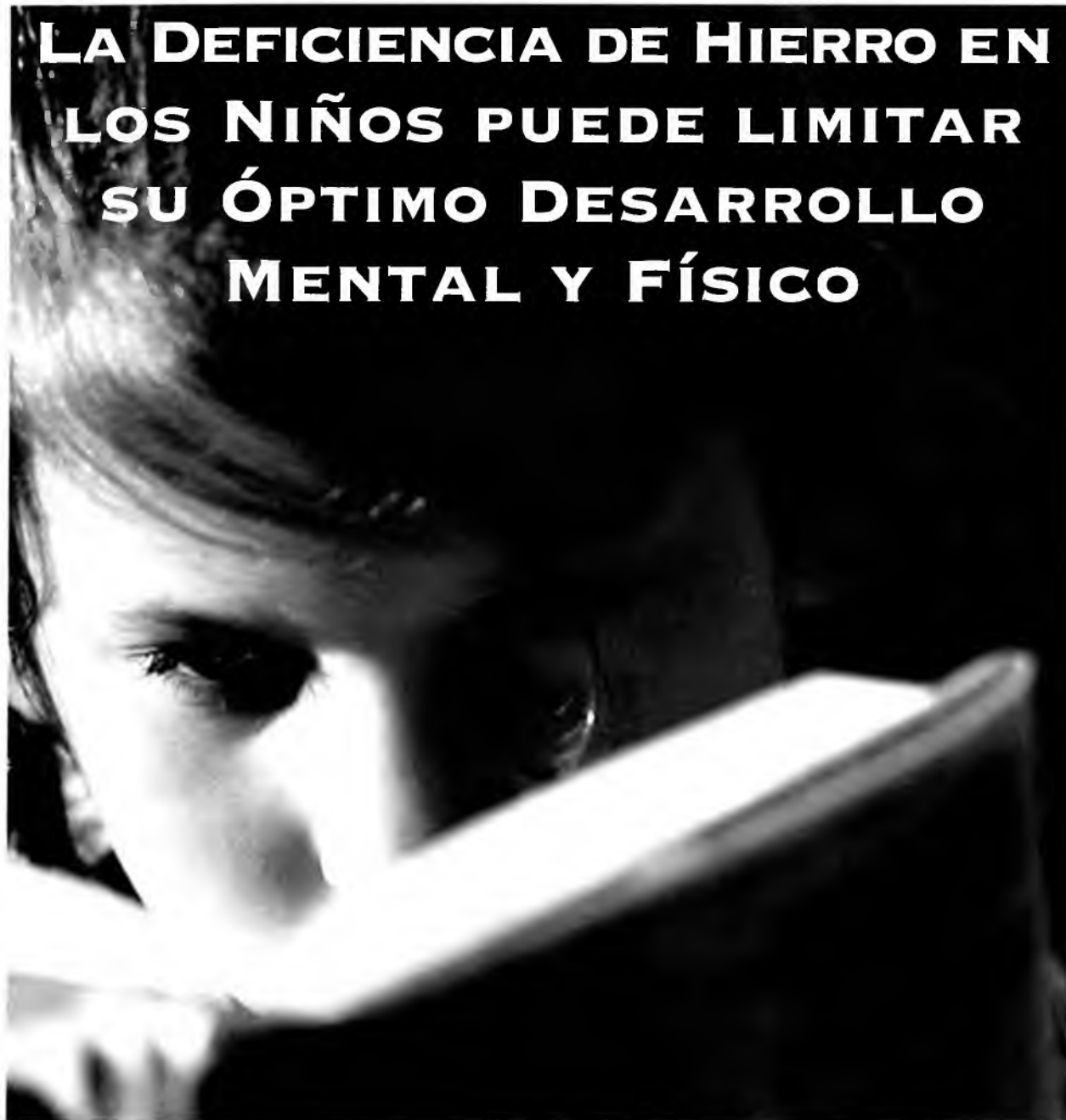
## T

<b>Talla y peso</b> , estimación de, en niños de 9 a 14 años a partir de la altura de la rodilla y de la circunferencia media del brazo .....	197
<b>Tripsina</b> , inactivación de lipoxigenasas e inhibidores de, en un proceso de obtención de leche de soja por molienda directa y ultra alta temperatura (MD-UAT) .....	52

## V

<b>Vitamina C</b> , in Barbados Cherry <i>Malpighia Glabra</i> L. pulp submitted to precessing and to different forms of storage .....	256
<b>Vitaminas A, C y E</b> , Lípidos séricos y niveles de las, en una población adulta de la ciudad de Caracas .....	112

# LA DEFICIENCIA DE HIERRO EN LOS NIÑOS PUEDE LIMITAR SU ÓPTIMO DESARROLLO MENTAL Y FÍSICO



Existe una estrecha relación entre la anemia por deficiencia de hierro y las alteraciones en el desarrollo mental y motor en los niños e infantes. Además se ha encontrado que los niños preescolares con anemia por deficiencia de hierro tienen dificultad en aprender a discriminar entre estímulos visuales o para mantener atención selectiva. En los niños mayores de 6 años y en adolescentes esta condición está asociada a un pobre rendimiento escolar y problemas de atención y memoria reciente.

Es importante seleccionar alimentos que sean buenas fuentes de hierro, como el hígado, las carnes rojas, las aves,

el pescado, y alimentos fortificados como los cereales Kellogg's. Un adecuado consumo y aprovechamiento de hierro, como parte de una alimentación balanceada, es esencial para mantener una buena salud y calidad de vida. En el caso de nuestros niños es vital para contribuir a alcanzar su nivel óptimo de crecimiento físico y desarrollo mental, y así ayudarles a asegurar un futuro exitoso y prospero.



**En Venezuela y hacia y desde todo el mundo,  
en IPOSTEL le ofrecemos**

**SERVICIOS TRADICIONALES de Cartas, Impresos y  
Encomiendas.**



**... y además contamos con novedosos**

### **SERVICIOS EXPRESOS**



A nivel nacional ofrecemos: EEE (Entrega Especial Expresa) es un servicio que le permite enviar documentos y encomiendas a todo el Territorio del país de una forma expresa, económica y segura.



EMS, (Express Mail Service), es un servicio tipo courier que le permite enviar documentos y mercancías a nivel internacional, respondiendo a su necesidad de entrega en tiempo breve y a los precios más económicos del mercado.

### **SERVICIOS ELECTRONICOS**

#### **CORREO ELECTRONICO Y KIOSCO INTERNET**

Ipostel habilitó para aquellos usuarios que les gusta navegar en el mundo de la red, kioscos de internet, ubicados en Altamira, C.C.C.T y los Ruices, los cuales disponen de computadoras de fácil acceso a todas aquellas personas interesadas en explorar dentro del campo de la comunicación.



#### **AUTOMATIZACION DE TAQUILLA**

La automatización de taquillas cuenta con modernos accesorios como balanza electrónica e impresora de recibos; esta permite mejorar la atención en las taquillas postales y simultáneamente establecer un control eléctrico de los ingresos por venta de servicios.



#### **SEGURIDAD Y RASTREO POR CODIGO DE BARRA**

El Código de barra permite registrar los datos más importantes de los envíos EMS entrantes y salientes, este sistema actualmente es utilizado a nivel internacional, para envíos EMS.



*Un Mundo de Servicios para Usted...*



**Artes Finales:** Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela  
Teléfono (02) 993.81.43

**Portada:** Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela  
Teléfono (02) 285.55.29

**Impresión:** Editorial Texto C.A., Caracas, Venezuela  
Teléfonos (02) 62.24.85 - 62.87.30



# 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 Uicich
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. Closa	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
<b>ARTICULOS GENERALES</b>	
<b>Programas y políticas referentes al déficit de crecimiento. (Repercusiones de una línea de investigación realizada en Chile)</b> Hugo Amigo, Patricia Bustos .....	281
<b>TRABAJOS DE INVESTIGACION</b>	
<b>Bioquímica Nutricional</b>	
<b>Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition</b> O. Angulo-Guerrero and R.R. Oliart .....	287
<b>Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on adenylate cyclase, 5'nucleotidasa and Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activities in rat brain-plasma membrane</b> Ofelia Angulo-Guerrero and R.R. Oliart .....	293
<b>Efeito do feijão preto (<i>Phaseolus vulgaris</i>, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos</b> Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Paulo F.G. Leal, Tânia T. Oliveira .....	299
<b>Efeito dos feijões (<i>Phaseolus vulgaris</i>, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos</b> Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Renato M. Nunes, Paulo F. G. Leal .....	306
<b>Avaliação da qualidade nutricional da proteína da folha de mandioca combinada com a caseína pela reação de plasteína</b> Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Luiz Carlos Guedes de Miranda, George Henrique Kling de Moraes, Luciano Esteves Peluzio	311
<b>Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido (<i>Opuntia ficus indica</i>) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteína y glucosa en sangre de ratas</b> María Luisa Cárdenas Medellín, Sergio O. Serna Saldívar, Jesús Velazco de la Garza .....	316
<b>Ciencia de Alimentos</b>	
<b>Evaluación químico-nutricional de <i>Sorghum saccharatum</i> var. <i>sugar drip</i>. Estudio de complementación con proteína de lactosuero</b> Mirta L. de Arellano, José A. Cid, Isabel T. Gimenez, Sara Mucciarelli .....	324
<b>Efecto de la cocción sobre la composición química y valor nutritivo de la semilla de <i>Pithecello bium flexicaule</i> (Bent)</b> Ma. Guadalupe Alanis Guzmán, Mario Rafael González Quijada, Roberto Mercado Hernández .....	328
<b>Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran</b> Alex Augusto Gonçalves, Eliana Badiale-Furlong, Leonor Almeida de Souza-Soares, Simone Treibs Siervs .....	334
<b>Avaliação da composição em aminoácidos de <i>Pleurotus spp.</i> cultivados em folha de bananeira</b> Marcia Regina T. de Camargo Ranzani, Gilma L. Sturion .....	339
<b>Tecnología de Alimentos</b>	
<b>Mejoramiento de la calidad nutricional de pan tipo francés</b> Hugo Diego Sánchez, Carlos Alberto Osella, María Adela G. de la Torre .....	349
<b>LatinFoods. Composición de Alimentos</b>	
<b>Fatty acid composition of beef, pork, and poultry fresh cuts, and some of their processed products</b> Consuelo Araujo de Vizcarrondo, Fanny Carrillo de Padilla, Eduardo Martín G. ....	354
<b>Composición química de tres cepas mexicanas de setas (<i>Pleurotus ostreatus</i>)</b> Mayela Bautista Justo, Ma. Guadalupe Alanis Guzmán, Elvira González de Mejía, Carlos L. García Díaz .....	359
<b>INFORMACION PARA LOS AUTORES</b> .....	364
<b>INDICE GENERAL DEL VOLUMEN 48, 1998</b> .....	371
<b>INDICE DE AUTORES</b> .....	375
<b>INDICE DE MATERIAS</b> .....	382