

ALAN

Volumen 47. N° 1. Marzo 1.997

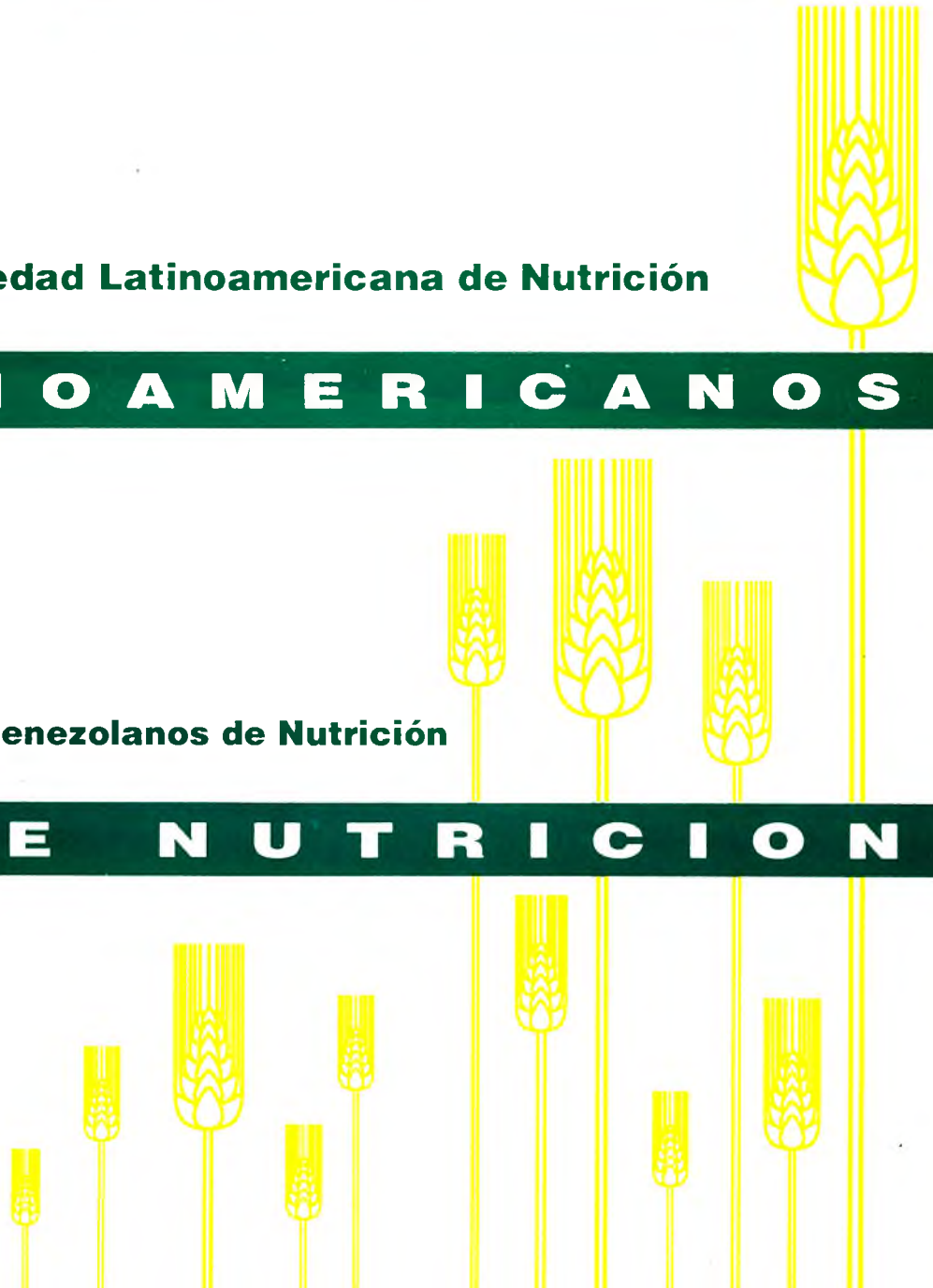
ARCHIVOS

Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

LATINOAMERICANOS

Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición

DE NUTRICION



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


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

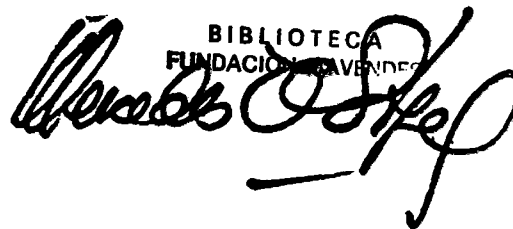
Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN) is the official publication of the Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), for the dissemination of knowledge in the fields of food and nutrition, principally throughout the American Hemisphere. Articles in Spanish, English, Portuguese and French are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

Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición

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

ENTIDADES PATROCINANTES

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



Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 47

MARZO 1997

Nº1

Contenido

	Páginas
ARTICULOS GENERALES	
Importancia nutricional del selenio Josefina Ortuño, Gaspar Ros, María Jesús Periago, Carmen Martínez, Ginés López y Joaquin Rodrigo.....	6
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Contenido de zinc, cobre, hierro, calcio, fósforo y magnesio en leche materna en los primeros días de lactación Ana Itriago, Nereida Carrión, Alberto Fernández, Myriam Puig y Elizabeth Dini.....	14
Valores de zinc plasmático en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela Daisy Amaya de C, Roberto Urrieta, Negda M Gil, Nelly C Molano, Ida Medrano y Haydée V. Castejón.....	23
Crecimiento del menor de un año con lactancia materna exclusiva en relación a la referencia OMS 1994 Eduardo Atalah Samur, y Cecilia Castillo Lancelloti.....	29
Bioquímica Nutricional	
Effect of different dietary levels of vitamin E on lipid peroxidation in rats Helio Vannucchi, Alceu Afonso Jordao Junior, Antonio Carlos G. Iglesias, Márcia Varella Morandi, y Paula Garcia Chiarello.....	34
Adiposidad y patrón de distribución en un grupo de preescolares de estratos socioeconómicos bajos de Caracas Betty M. Pérez, Maura Vásquez, Maritza Landaeta-Jiménez, Guillermo Rámirez y Thais Ledezma.....	38
Bacteriología de Alimentos	
Prevalencia de <i>Aeromonas</i> spp en agua de superficie Pilar Hernández S. y Raquel Rodríguez de García.....	44
Prevalencia de <i>Plesiomonas shigelloides</i> en agua de superficie Pilar Hernández S. y Raquel Rodríguez de García.....	47

Ciencias de Alimentos

Characterization of yellow rice and development of instant flours by hydrothermal process

F. Martinez-Bustos, Delgado L.L, Victorio, M. G and Morales S.E.....50

Tecnología de Alimentos

Desarrollo y evaluación de una fórmula para niños con diarrea a base de auyama, arroz, pollo y aceites vegetales

Blanca D. Hernández Ramírez y Maritza J. Guerra Modernell.....57

Effect of calcium addition and acidification on the quality characteristics of canned okra (*Hibiscus esculentus* L)

J.N. Nogueira P.R.Cantarelli: C.R. Gallo, I.A.M. Moreno, F.C.A.U. Matsuura y M.A. Tiba.....62

Effects of temperature, moisture and residence time in the properties of full fat soybean flour produced in a twin extruder

S.O. Serna- Saldivar and L.C. Cabral.....66

Latin Foods. Composición de Alimentos

Caracterização físico- química da acerola *Malpighia glabra* L. produzida na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil

Jesuí Vergílio Visentainer, Otávio Attie Vieira, Makoto Matsushita y Nilson Evelázio de Souza.....70

Omega -3 fatty acids in baked freshwater fish from south of Brazil

Airton Delfino Andrade, Jesuí Vergílio Visentainer, Makoto Matsushita y Nilson Evelázio de Souza.....73

Minerals content of Paraguayan yerba mate (*Ilex paraguariensis*, S.H.)

Rafael Vera Garcia, Isabel Basualdo, Inocencia Peralta, Mercedes de Herebia and Silvia Caballero.....77

Contenido de colesterol en carne de pollo y sus productos manufacturados

Alicia Mariela Rincón, Fanny Carrillo de Padilla, Consuelo Araujo de Vizcarrondo y Eduardo Martín.....81

NOTAS.....85

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 47

MARCH 1997

Nº1

Contents

	Pages
GENERAL ARTICLES	
Nutritional importance of selenium Josefina Ortuño, Gaspar Ros, María Jesús Periago, Carmen Martínez, Ginés López and Joaquin Rodrigo.....	6
RESEARCH PAPERS	
Human Nutrition	
Zinc, copper, iron, calcium, phosphorous and magnesium content of maternal milk at early stage of lactation Ana Itriago, Nereida Carrión, Alberto Fernández, Myriam Puig and Elizabeth Dini.....	14
Zinc plasma values in an infantile low socioeconomic status population in Maracaibo, Venezuela Daisy Amaya de C, Roberto Urrieta, Negda M Gil, Nelly C Molano, Ida Medrano and Haydée V. Castejón.....	23
Growth of exclusively breast-fed Chilean infant in relation to new WHO Reference Charts Eduardo Atalah Samur and Cecilia Castillo Lancelloti.....	29
Nutritional Biochemistry	
Effect of different dietary levels of vitamin E on lipid peroxidation in rats Helio Vannucchi, Alceu Afonso Jordao Junior, Antonio Carlos G. Iglesias, Márcia Varella Morandi, and Paula Garcia Chiarello.....	34
Fatness and fat distribution in school children from low socioeconomic stratum Betty M. Pérez, Maura Vásquez, Maritza Landaeta-Jiménez, Guillermo Ramírez and Thais Ledezma.....	38
Food Bacteriology	
Prevalence of <i>Aeromonas</i> spp. in surface water Pilar Hernández S. and Raquel Rodríguez de García.....	44
Prevalence of <i>Plesiomonas shigelloides</i> in surface water Pilar Hernández S. and Raquel Rodríguez de García.....	47

Food Science

- Characterization of yellow rice and development of instant flours by hidrothermal process**
F. Martinez-Bustos, Delgado L.L, Victorio, M. G and Morales S.E.....50

Food Technology

- Development and evaluation of a dietetic formula made of pumpkin-rice-chicken and vegetable oils for children with diarrhea**
Blanca D. Hernández Ramírez and Maritza J. Guerra Modernell.....57
- Effect of calcium addition and acidification on the quality characteristics of canned okra (*Hibiscus esculentus* L)**
J.N. Nogueira P.R.Cantarelli: C.R. Gallo, I.A.M. Moreno, F.C.A.U. Matsuura and M.A. Tiba.....62
- Effects of temperature, moisture and residence time in the properties of full fat soybean flour produced in a twin extruder**
S.O. Serna- Saldivar and L.C. Cabral.....66

Latin Foods. Food Composition

- Physico-chemical characterization of acerola (*Malpighia glabra* L.) produced in Maringá, Paraná State. Brazil**
Jesú Vergílio Visentainer, Otávio Attie Vieira, Makoto Matsushita and Nilson Evelázio de Souza.....70
- Omega -3 fatty acids in baked freshwater fish from south of Brazil**
Airton Delfino Andrade, Jesú Vergílio Visentainer, Makoto Matsushita and Nilson Evelázio de Souza.....73
- Minerals content of Paraguayan yerba mate (*Ilex paraguariensis*, S.H.)**
Rafael Vera Garcia, Isabel Basualdo, Inocencia Peralta, Mercedes de Herebia and Silvia Caballero.....77
- Cholesterol content in chicken meat and chicken products**
Alicia Mariela Rincón, Fanny Carrillo de Padilla, Consuelo Araujo de Vizcarrondo and Eduardo Martín.....81
- NOTES.....85**

Importancia nutricional del selenio

Josefina Ortuño, Gaspar Ros, María Jesús Periago, Carmen Martínez, Ginés López y Joaquín Rodrigo.

Bromatología e Inspección de Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.
Campus de Espinardo. 30071 Murcia. España.

RESUMEN. - El selenio es un importante elemento traza que ha sido considerado tóxico para los animales y el hombre durante muchos años. Su función bioquímica mejor conocida es formar parte, bajo la forma de selenocisteína, de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px). Se encuentra presente principalmente en los alimentos ricos en proteínas, como carnes y pescados; sin embargo son más disponibles para el organismo las fuentes vegetales.

En la actualidad no se conocen con exactitud cuáles son los niveles adecuados de consumo diario de selenio por los humanos, sobre todo en el caso de los niños. En España el consumo de este elemento traza es de 221 $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$, encontrándose los niveles plasmáticos hallados en la población española ($87 \pm 14 \mu\text{g}/\text{L}$) dentro de la media europea ($85 \mu\text{g}/\text{L}$).

INTRODUCCION

El selenio fue descubierto en 1817 por el químico sueco J.J. Berzelius siendo considerado durante muchos años como un elemento tóxico para el hombre y los animales, hasta que en 1957 Schwarz y Foltz (1) demostraron su esencialidad para los mamíferos. Sin embargo hasta el año 1979 no se demostró la necesidad vital de este elemento traza en el hombre, cuando investigadores chinos pusieron de manifiesto el efecto preventivo del selenio en la enfermedad de Keshan (2).

Los niveles de este elemento que pueden causar intoxicación o carencia están relativamente cerca, razón por la cual los conocimientos sobre su abundancia o falta en los alimentos es de interés especial (3). Pertenece al grupo de los metaloides al igual que el arsénico y el telurio, y aunque es notablemente parecido al azufre en la mayoría de sus propiedades químicas, su posición es especial entre metales y no metales (4). Existe en los estados de oxidación -2, 0, +2, +4 y +6, y todos, excepto el estado +2, son comunes en la naturaleza (5). Como Se^{-2} este elemento traza se presenta en una gran variedad de complejos insolubles formados con metales pesados, o como un compuesto de hidrógeno (H_2Se), un gas tóxico a temperatura ambiente. El Se^0 , o selenio elemental se encuentra en dos formas: cristalina (estable y altamente insoluble) y amorfa. El Se^{+4} forma, en solución ácida, ácido selenioso y, en presencia de oxígeno y en medio alcalino se oxida lentamente a selenato Se^{+6} (6).

Es un componente primario de los magmas y gases volcánicos que se encuentra difundido por toda la corteza terrestre

SUMMARY.- Nutritional importance of selenium.- Selenium is an important trace element that was considered toxic for humans and animals for a long time. The best known biochemical role of selenium is, as a selenocysteine residue, to be a part of the active site of the enzyme glutathione peroxidase (GSH-Px). The highest values of selenium have been found in protein foods (meat and fish); although selenium from vegetables sources are more available than from the other foods.

Nowadays are not known exactly the recommended dietary allowances for humans, mainly for children. The selenium intake in Spain is 221 $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ and the plasmatic values of Spanish people ($87 \pm 14 \mu\text{g}/\text{L}$) are within the European average ($85 \mu\text{g}/\text{L}$).

en distintas formas químicas y en muy distintas proporciones en los suelos. Su aplicación es muy variada, sobre todo es utilizado en algunos procesos industriales: en celdas fotoeléctricas, fotografía, en la industria del vidrio y la cerámica, aparatos de televisión y radio, productos químicos y medicamentos. (4).

Esencialidad y funciones biológicas del selenio. Actualmente el selenio es reconocido como un nutriente esencial, sin embargo la posibilidad de su esencialidad, sugerida en 1957, fue recibida con cierto escepticismo: ¿cómo podía ser esencial un elemento considerado tóxico?. La respuesta llegó en 1973, cuando se conoció que el selenio formaba parte de la enzima GSH-Px (7). Podríamos distinguir cuatro acontecimientos significativos en la historia de la investigación del selenio: el primero la evidencia de su esencialidad (1), el segundo el descubrimiento de la selenoenzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) (8) que contiene 4 g átomos de Se por mol de enzima (9), el tercer acontecimiento sería conocer que el selenio puede contrarrestar la toxicidad de algunos metales pesados (10), y el cuarto y último, la evidencia de que el selenio también podría contrarrestar la acción de algunos carcinógenos químicos (11). Este último hecho, la asociación de la deficiencia de selenio con un mayor riesgo de padecer cáncer y problemas cardiovasculares, ha determinado que la importancia del selenio para la salud humana esté cobrando todavía mayor atención (12).

El papel bioquímico mejor estudiado y más importante del selenio es formar parte, bajo la forma de selenocisteína, del

lugar activo de la enzima glutatión peroxidasa. Su incorporación en esta enzima es el resultado de un mecanismo recientemente descubierto por Stadman (13). Las funciones metabólicas de esta selenoenzima son vitales para las células al intervenir en el metabolismo y detoxicación del oxígeno. La actividad de la GSH-PX depende mucho del estado de selenio en el organismo, así bajos estados de selenio se asocian con un deterioro de la función de la enzima restableciéndose dicha funcionalidad cuando se realiza una suplementación de dicho elemento (14).

Otro importante papel bioquímico del selenio está relacionado con algunos xenobióticos. Así, la deficiencia de selenio exacerbaría la toxicidad de alguno de ellos, como por ejemplo drogas, insecticidas o hidrocarburos halogenados (15).

Estudios realizados en animales y en el hombre han puesto de manifiesto que el selenio está disponible para interactuar en el organismo con un amplio número de minerales tóxicos, tales como el As, Cd, Hg, Cu, Pt, Pb, o Pt..., pudiendo modificar su toxicidad a distintos grados y previniendo las manifestaciones toxicológicas debidas a la exposición a estos metales (16, 17). Diferentes mecanismos han sido propuestos para explicar esas interacciones. Primero, una reacción directa del selenio en forma inorgánica con el metal dando lugar a la formación de formas biológicamente inactivas. Esto se ha demostrado en el caso del Cd, Pt, Pb, Ag y Hg. Segundo, el selenio podría reaccionar con los grupos tioles de algunas moléculas para formar selenosulfidos (RSSeSR) que tienen una fuerte afinidad por los metales (17). En el caso del Cd se ha postulado (18, 19) que el selenio, como selenito, podría proteger del daño testicular inducido por dicho metal al desviar su unión de proteínas de bajo peso molecular, cruciales desde el punto de vista metabólico, a proteínas de alto peso

molecular, menos críticas en los procesos metabólicos (11). Parece ser que también en el caso del Hg inorgánico, el selenio (en forma de selenito) podría desviar su unión de proteínas de bajo peso molecular a otras de mayor peso en algunos tejidos de rata, como el hígado, los riñones y los testículos (20).

Otra actividad bioquímica de interés reciente es la modulación del selenio de las respuestas inmune e inflamatoria en animales, y menos frecuentemente en humanos (14). Esta implicación en la regulación del sistema inmunitario afecta a todos los componentes del mismo, es decir al desarrollo y a la expresión de las respuestas no específicas, humorales y celulares (21). Algunas propiedades de las células fagocitarias, tales como la quimiotaxis, migración, ingestión y actividad fungicida, son índices claramente dependientes del nivel de selenio en el fagocito (22). De una manera general, una carencia en el aporte de selenio causaría rápidamente un déficit inmunitario que podría ser corregido mediante la administración suplementaria de selenio en dosis moderadas. Alguno de los efectos del selenio como regulador de la inmunidad ha sido explicado por el mantenimiento de la integridad de las membranas de las células inmunocompetentes (23). Según Spallholz y col. (24) las principales funciones del selenio en las células del sistema inmunitario son:

1.- Reducción de los peróxidos orgánicos e inorgánicos formados por iniciadores medioambientales y metabólicos en las reacciones de radicales libres.

2.- Regulación del metabolismo de los hidroperóxidos que llevan a la síntesis de leucotrienos, tromboxanos, prostaglandinas y lipóxidos.

3.- Modulación de los productos oxidativos de la respiración de las células fagocitarias.

Un requerimiento específico de selenio en la espermatogénesis normal, que podría no implicar la actividad de la GSHPx, ha sido también establecido en algunas especies. Se ha observado en animales deficientes en selenio células espermáticas rotas así como una motilidad de los espermatozoides muy baja (25). Recientemente ha sido establecida la relación entre el selenio y el tiroides, observándose múltiples consecuencias biomédicas en el metabolismo del yodo debido a la deficiencia de selenio (26). Por otra parte se ha demostrado la participación del selenio, a diferentes niveles, en el metabolismo de los derivados del ácido araquidónico (14).

Fuentes de selenio. Forma química y biodisponibilidad. El último eslabón de la cadena alimentaria del selenio es el suelo y no siempre existe una relación entre el contenido de este elemento en el mismo y la cantidad encontrada en la sangre de los animales y personas. Este hecho es debido a dos razones principales: 1) el pH del suelo (los suelos ácidos son menos porosos y tienden a causar una reducción del selenio, haciéndolo menos disponible biológicamente) y 2) la naturaleza de las plantas (si son o no acumuladoras de selenio) (27). Por otra parte hemos de tener en cuenta que la absorción de selenio por las plantas varía según en qué forma se encuentre en el suelo, así es más fácilmente absorbible cuando se halla en forma de selenato que cuando está presente como selenito (7). De esta forma podríamos dividir a las plantas en «indicadoras primarias de selenio», que acumularían selenio hasta niveles de 100-10.000 mg/Kg, y «acumuladoras secundarias de selenio», que podrían concentrar selenio en un rango entre los 50-500 mg/Kg (28). Por ello la contribución de selenio por los distintos alimentos puede ser muy variable dependiendo del país y de los niveles de este elemento en el suelo (29). Globalmente, los suelos deficientes en selenio se encuentran en Nueva Zelanda, Escocia, Finlandia, Suecia, Dinamarca, Alemania, Turquía, Grecia, China y Canadá. Destacan los Estados Unidos, China y Australia por ser los únicos países en los que se encuentran áreas de suelos con bajos y altos niveles de selenio (30).

En general, las carnes, los pescados, los productos de la pesca y los cereales son las principales fuentes diarias de selenio (28). Por el contrario, las frutas y legumbres (excepto los champiñones y el ajo), la leche y los productos lácteos (excepto los huevos y algunos quesos), las materias grasas y el agua de bebida son fuentes muy pobres en este elemento traza (31) (Tabla 1). En los Estados Unidos, por ejemplo, el aporte diario de selenio en los adultos está asegurado en un

50% por las carnes, en un 25-30% por los cereales, en un 10-20% por los huevos y productos lácteos y, por último, alrededor del 5% por las frutas y legumbres (32). Por otra parte, y debido a la concentración tan baja de selenio en la mayor parte de los productos vegetales y animales, existe escasa información sobre las formas de este elemento traza en los alimentos (33).

Agua. En general, el selenio no se encuentra en el agua en suficientes cantidades como para producir toxicidad en el hombre o en los animales; además el agua raramente es una fuente significativa de selenio tanto desde el punto de vista nutricional como tóxico (34).

Alimentos vegetales y cereales. Como ya ha sido mencionado anteriormente, las frutas y vegetales contienen generalmente bajos niveles de selenio, sin embargo algunos granos y productos cereales contribuyen significativamente a la ingesta diaria de selenio (34). Los alimentos vegetales incorporan el selenio en los aminoácidos, siendo la forma predominante la selenometionina, que es simplemente metionina que contiene selenio en lugar de azufre. Como la selenometionina es incorporada en las proteínas vegetales (35), los vegetales con bajo contenido proteico, tales como las frutas, tienen un menor contenido en selenio (36). Formas en las que se encuentra el selenio en los vegetales incluyen el selenato no metabolizado (37), Se-metilselenometionina (38), selenocisteína, selenocistationina y selenometionina selenóxido (39). La distribución del selenio entre las fracciones del grano de cereal es equitativo y uniforme, distinta a la de la mayoría de minerales esenciales. El descenso en la concentración de selenio en productos consumidos, debido a la molienda o al procesamiento de los granos, parece ser menor con respecto a otros minerales esenciales (40).

Al igual que con el resto de elementos traza no basta con determinar el contenido total de selenio en los alimentos, sino que es preciso conocer su biodisponibilidad (cantidad que se absorbe y es utilizada por el organismo) (41). Este término es definido por Foster y Sumar (34) como 'la porción de selenio ingerido que después de ser absorbido es incorporado en una forma biológicamente activa'. La biodisponibilidad del selenio en los cereales, levadura de cerveza y en la mayor parte de los productos vegetales es muy elevada, entre el 85 y 100%, a diferencia de la de otros productos como los de la pesca (42). La biodisponibilidad del selenio en el arroz ha sido estimada en un porcentaje comprendido entre el 65 y el 107%, comparada con un estándar de selenito (43). Por otra parte la forma química principal de este cereal, al igual que la de otros granos, es la selenometionina (44).

Alimentos cárnicos. La mayoría del selenio en los tejidos animales es probablemente incorporado en proteínas como aminoácidos análogos de los que contienen azufre (S), particularmente como selenometionina (45). El contenido en

selenio en los tejidos animales no varía tanto como en los tejidos vegetales porque los animales pueden conservar el selenio en estados de bajo aporte, y excretar grandes cantidades en caso de suplementos excesivos. Las carnes en general son buenas fuentes de selenio, por lo que su deficiencia en dietas con base de carne son muy poco probables (36). Tanto la concentración como la forma química del selenio en la carne pueden verse afectadas por la forma química del mismo en los alimentos de los animales (29). Un exceso de selenio en forma inorgánica es eliminado del organismo, sin embargo cuando se trata de selenoaminoácidos es incorporado en las proteínas y almacenado (46). En el caso de la carne, huesos y productos cárnicos la biodisponibilidad se halla en torno al 15% (47).

Productos de la pesca. Estos productos, normalmente, contienen más cantidad de selenio que las carnes (28) variando su disponibilidad entre el 20 y el 50% (42). Esta baja biodisponibilidad del selenio en algunas fuentes de pescado es inexplicable, aunque podría deberse a su interacción con metales pesados, especialmente mercurio (Hg) (48). En el atún se ha demostrado la formación de complejos entre ambos metales lo que impediría que el Hg pudiera ejercer su acción tóxica sobre el organismo (29). La biodisponibilidad *in vivo* (ratas) del selenio del atún ha mostrado ser la misma en el atún precocinado que en el enlatado, por lo que se deduce que el procesamiento alimentario no afecta a la biodisponibilidad del selenio (49).

Derivados lácteos. La biodisponibilidad de la leche humana (11,1%) ha mostrado ser significativamente superior a la de la leche de vaca (6,8%), cabra (6,2%) y oveja (<2%) (50). La biodisponibilidad tan variable entre las leches de las diferentes especies puede ser debida, principalmente, a la diferencias en su composición proteica así como a la especie de selenio. En los rumiantes el selenio de la leche se halla asociado principalmente a la caseína, fracción mayoritaria en estas especies comparado con la leche humana, donde el selenio se encuentra asociado al suero (51). Así la digestibilidad de la proteína se supone tendría un papel muy importante en la disponibilidad del selenio. Por otra parte la grasa parece influir sobre la biodisponibilidad del selenio en la leche, como muestran las investigaciones realizadas por Shen y col. (52).

Alimentos infantiles. La información sobre el contenido de selenio en las fórmulas infantiles comerciales es limitado, aunque los niveles mencionados por algunos autores en diferentes países varía entre 3,2 y 17 ng/mL (53). De cualquier forma el contenido en selenio de los alimentos infantiles tiende a mostrar la misma tendencia que la de los alimentos de adultos, es decir en los de carne y pescado encontramos los mayores niveles y en los de frutas y verduras los menores (34). En un estudio reciente realizado por estos mismos autores (datos no publicados) se detectaron niveles de selenio muy bajos en las fórmulas infantiles vendidas en el Reino Unido. A pesar de los bajos niveles de ese elemento traza comparados con los de la leche materna (10-20 ng/ml), a las fórmulas infantiles que se producen en ese país no se las suplementa con selenio ni se les realizan análisis periódicos para controlar los niveles de este

mineral. En España se repite esta situación, pues pese a que los valores encontrados en las fórmulas infantiles se sitúan entre 5,31 y 17,2 (53) existe un vacío legislativo, al igual que en el resto de alimentos, sobre el control de este elemento traza. En los Estados Unidos, sin embargo, a todas las fórmulas infantiles se les añade Se y sus niveles son controlados de forma rutinaria, al igual que los de otros elementos de enriquecimiento (34).

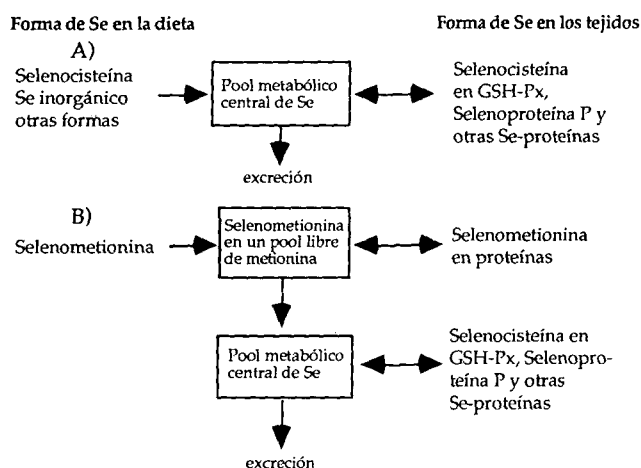
Como se ha mencionado anteriormente el Se está presente en los alimentos, principalmente, como selenometionina y selenocisteína. Los selenoaminoácidos son absorbidos, probablemente, mediante un mecanismo dependiente de energía y cotransportador de sodio, similar al de sus análogos de azufre. Aunque la biodisponibilidad del Se inorgánico es menor que la de las formas orgánicas este hecho es, probablemente, poco significativo ya que las formas más usuales presentes en la dieta son absorbidas eficientemente. Existen dos reservas (pool) de Se en los tejidos (Figura 1). El 'pool' de Se, activo biológicamente, puede ser sintetizado de forma endógena a partir de Se inorgánico y serina, mientras que el otro 'pool' es selenometionina presente en la proteína. Este último pool está sujeto a factores dependientes del metabolismo de la metionina, y el Se del que está constituido no es necesariamente disponible para procesos dependientes de Se. Sistémicamente los selenoaminoácidos pueden ser degradados para la producción de residuos aminoácidos y selenito.

Evaluación del balance de selenio y Raciones Dietéticas Recomendadas (RDR). En los seres humanos el balance de selenio suele evaluarse mediante el cálculo de la ingesta dietética, medida de los niveles del nutriente en varios tejidos y excretas, o determinación de la actividad glutatión peroxidasa en ciertos componentes de la sangre (55). Calcular la ingesta de selenio con la dieta es difícil, debido a la variación del contenido en los alimentos producidos y consumidos en cada localidad, que depende de la cantidad de selenio que se halla en el suelo (56). Con respecto a las concentraciones plasmáticas de selenio se ha visto que son de 1,5 a 2 veces superiores a los niveles eritrocitarios de este elemento traza (57), siendo estos últimos niveles un índice del estado nutricional a más largo plazo que los primeros. Por otra parte los estudios realizados en animales han mostrado que estas concentraciones plasmáticas no siempre reflejan la situación de otros compartimentos corporales, sobre todo cuando se producen desviaciones súbitas en la ingesta del nutriente. Con respecto al método enzimático podemos decir que ofrece la ventaja de medir sólo el selenio biológicamente activo (56).

Los Requerimientos Dietéticos de un determinado nutriente son «la mínima cantidad del mismo (incorporado en la dieta) necesarios para mantener la estructura normal y las funciones fisiológicas en una determinada etapa de la vida y así conseguir una salud óptima» (58). Se han realizado varios estudios de balance para investigar los requerimientos de selenio en los seres humanos. Sin embargo, los mecanismos homeostáticos de las personas parecen ajustar las concentraciones de selenio para mantener el balance con una amplia

FIGURA 1.

Efecto de la forma de selenio de la dieta en la forma y concentración de selenio en los tejidos. Parte A indica que la entrada de algunas formas de selenio determina un camino específico hacia un pool del elemento. Parte B muestra que cuando la selenometionina es ingerida, el Se tisular está presente en dos formas, un pool de metionina y otro específico de selenio (82).



gama de ingestas dietéticas, por lo que la técnica de balance parece poco útil para definir las necesidades de selenio en los seres humanos (59).

Adultos. El cálculo de los requerimientos dietéticos de selenio se realiza asumiendo que la actividad máxima de la selenoenzima GSH-Px se corresponde con unos niveles óptimos de ingesta de selenio (56). Sin embargo es posible que sólo alrededor del 80% de la actividad de esta enzima deba ser considerada como el nivel fisiológico adecuado para corresponderlo con la ingesta de selenio recomendada, sobre todo si se trata de individuos con un nivel correcto de vitamina E (60). En base a este criterio ha sido difícil fijar estos requerimientos, confirmando este hecho las recomendaciones establecidas según la población estudiada. Levander y Morris (61) fijaron los niveles de ingesta de selenio para el hombre y la mujer norteamericanos en 80 y 57 $\mu\text{g}/\text{día}$, respectivamente, mientras que para Yang et al. (2) los requerimientos fisiológicos de selenio para varones chinos adultos con bajos niveles de selenio son de alrededor de 40 $\mu\text{g}/\text{día}$. Finalmente y hasta una próxima revisión, el National Research Council (56) ha establecido los requerimientos de selenio para el hombre y la mujer norteamericanos en 70 y 55 $\mu\text{g}/\text{día}$, respectivamente.

Embarazo. Durante el embarazo se produce un depósito medio de selenio entre 5 y 6,5 $\mu\text{g}/\text{día}$. Teniendo en cuenta este

hecho, la variación individual y si consideramos una tasa de absorción del 80% (47), el aumento medio del selenio dietético durante el embarazo deberá ser de 10 µg/día (56).

Lactantes y niños. No existe otra etapa de la vida en la que la nutrición sea más importante que en la infancia, debido a que durante los primeros meses de vida la velocidad de crecimiento y los procesos de síntesis orgánica son muy altos (54). Se sabe poco sobre los requerimientos de selenio por los niños, por ello las recomendaciones de consumo de este elemento traza para ellos se han extrapolado de los valores de los adultos (se ha tenido en cuenta el peso corporal y un factor arbitrario para el crecimiento). Así, los requerimientos de selenio del lactante son de 10 µg/día desde el nacimiento hasta los 6 meses de edad (56). Los niveles de selenio recomendados para los niños en 1991 por Litov y Combs (62) han sido fijados en 10 µg/día desde el nacimiento hasta los seis meses, en 15 µg/día desde los seis hasta los 12 meses, 20 µg/día entre 1 y 6 años, 30 µg/día entre 7 y 10 años, 40 µg/día entre los 11 y 14 años en el caso de los niños y 45 µg/día entre los 11 y 14 años en el caso de las niñas (32). Es importante que el aporte de selenio con la dieta sea el adecuado (63) al constituir los niños, por su bajas reservas en comparación con los adultos, la población más expuesta a las deficiencias por selenio (64), sin embargo actualmente para la población infantil no se conocen con exactitud ni sus necesidades nutricionales en selenio (se aportan datos extrapolados de los adultos) ni los niveles de este elemento que podrían ser perjudiciales para su salud.

Niveles plasmáticos como índice más representativo para la valoración del estado de selenio. Las grandes variaciones en los aportes de selenio en el mundo debido a las diferencias en el contenido de este elemento traza en el suelo y en los alimentos, así como en su biodisponibilidad, han llevado a caracterizar tres áreas en todo el mundo: 1) Areas con un bajo contenido en selenio (algunas zonas de China, Nueva Zelanda, Finlandia, Dinamarca...), 2) Areas con un contenido intermedio en selenio (Alemania, Bélgica, Francia, Polonia...) y, 3) Areas con un contenido alto en selenio (algunas zonas de

Canadá y Venezuela, Estados Unidos de América, China...), basándose en las diferencias existentes en los niveles plasmáticos de selenio en los grupos representativos (65). En áreas deficientes e intermedias en selenio, los niveles plasmáticos de este elemento traza se sitúan entre 20-50 µg Se/L y 60-80 µg Se/L respectivamente, superando los 100-120 µg Se/L en aquellos países ricos en selenio (25).

En 1985 Thorling y col. (66), realizaron un estudio en 17 poblaciones de 10 países europeos diferentes estableciendo la existencia de unos niveles plasmáticos medios de selenio en Europa de 85 µg/L, con unos valores que oscilaron entre los 109 µg/L para Reino Unido (Londres) y 63 µg/L para Grecia. Los valores hallados en España (Barcelona) fueron de 87±14 µg/L. En el caso de los niños, los niveles plasmáticos de selenio se encontrarían comprendidos entre los 50-150 µg/L y la media oscilo alrededor de los 100 µg/L (32).

Como puede observarse los valores expresados se refieren a niveles plasmáticos de selenio, ya que son el índice más utilizado habitualmente para valorar el estado de este elemento traza (67) (Tabla 2). Estos valores de selenio plasmático no sólo varían según la zona geográfica, sino que también dependen del estado fisiológico y de la edad: según Nève y col. (68) el valor al nacimiento representa la mitad del de la edad adulta. Después de una bajada transitoria en la primera infancia (1-4 meses), atribuible a la toma de leche de vaca en detrimento de la leche materna, las concentraciones plasmáticas aumentarían progresivamente hasta la edad adulta (20 años) para mantenerse relativamente estables entre los 20 y 60 años. El embarazo y la vejez (>80 años) se asocian a los valores plasmáticos de selenio más bajos. Parece ser que el sexo, el tabaquismo y la ingesta de anticonceptivos orales no influyen sobre estos valores (25).

En los países europeos se recomienda que los niveles de selenio en plasma se mantengan en un rango entre los 100-150 µg/L, que son considerados como beneficiosos para la salud (64).

Papel que representa el selenio en la salud humana. Aunque se sabe de las grandes diferencias de selenio existentes entre las poblaciones humanas, todavía tenemos pocos datos disponibles sobre el estado de este elemento traza en los países desarrollados y en la mayoría de los del mundo por lo que es bastante difícil tener una clara visión de sus posibles consecuencias patológicas (14).

1. El selenio podría estar implicado en la prevención del deterioro progresivo del sistema inmune y de la acumulación de peróxidos y radicales libres, hechos comunes en la vejez humana (21).

2. La deficiencia de selenio ha sido asociada a la lipofuscinosis ceroides neuronal, encefalopatía causada por la acumulación en el Sistema Nervioso Central de pigmentos producidos por una peroxidación lipídica y caracterizada por una marcada correlación negativa entre la actividad de la GSH-Px y la disfunción neuronal (14).

3. La trisomía 21 caracterizada por un rápido envejecimiento y degeneración cerebral, también ha sido asociada a estados deficientes en selenio

4. En las enfermedades hepáticas, especialmente la cirrosis

TABLA 1.
Niveles de selenio en distintos alimentos (31)

Tipo de alimento	Niveles	
	mg/Kg	mg/ Kg p.s
Productos lácteos	0,1 - 0,3	
Hígado, riñón, pescado	0,4 - 1,5	
Músculo	0,1 - 0,4	
Cereales y productos cereales	0,1 - 0,8	
Frutas y vegetales	< 0,1	
Fórmulas infantiles:		
Base de leche	0,004 - 0,027	
Base de soja	0,004 - 0,030	
Base de carne	0,046 - 0,070	
Base caseína (polvo)		0,048 - 0,120

alcohólica, el selenio sanguíneo y hepático son bajos, y el daño peroxidativo al órgano es aparente (70).

5. El papel patológico de los radicales libres y otras especies oxidativas ha sido claramente establecido en las enfermedades inflamatorias de tipo reumatoide (14), por lo que el selenio mediante su poder antioxidante y degradativo de los radicales libres las prevendría.

6. También ha sido asociada una deficiencia de selenio con la fibrosis cística, la insuficiencia renal y la distrofia muscular (14).

7. La relación del selenio con las enfermedades cardiovasculares también ha sido puesta de manifiesto por Luoma y col. (71), al comprobar como este elemento traza reduce el riesgo de las enfermedades coronarias. Niveles séricos de selenio inferiores a 45 µg/L han sido asociados con un riesgo mortal por enfermedades cardiovasculares (42).

8. El selenio también ha sido asociado con la prevención y tratamiento del cáncer (11, 14), al observarse un mayor desarrollo de casos en estados deficientes en selenio con niveles séricos reducidos (72).

9. Las intoxicaciones por selenio son más frecuentes en medicina veterinaria que en medicina humana. Existen trabajos en la literatura de toxicidad de selenio provocada por alimentos cultivados en áreas seleníferas, aunque en el caso del hombre la mayoría de las intoxicaciones son consecuencia de altas exposiciones laborales en la industria (73). Entre los numerosos síntomas se han encontrado alopecia, unas malformadas, transtornos digestivos, cirrosis hepática (74) y edemas pulmonares (73). Un signo característico en este último caso es el fuerte olor a ajo del aliento, debido a la excreción pulmonar de dimetil selenide (31). El selenio junto a otros metales como el cobalto, manganeso y cinc puede, a altas dosis, afectar a la reproducción en alguna de sus etapas pudiendo ocasionar embriotoxicidad y teratogenicidad (75, 76).

Enfermedades características o endémicas asociadas a una deficiencia de selenio son la «enfermedad de Keshan» (insuficiencia de tipo cardíaco) y la «enfermedad de Kashin-Beck» (osteoartropatía de tipo endémico) (5). Aunque existe una fuerte evidencia de la implicación de estados deficientes en selenio en la etiología de estas enfermedades, ambos desordenes son probablemente de origen multifactorial (6).

Consumo de selenio en España. Situación con respecto a otros países. El consumo medio de selenio en España es alto, de 221 µg/persona/día (77), superior a las raciones dietéticas recomendadas (56), correspondiendo a los hogares el 87% de la ingesta total. La carne, el pescado, la leche líquida y los cereales son los alimentos que aportan la mayor parte de este mineral a la dieta española, observándose que variaciones en la ingesta regional se encuentran ligadas a los hábitos de consumo de estos alimentos. Las regiones del Norte peninsular (Cantabria, País Vasco, Navarra y La Rioja) y de Castilla-León ostentan el consumo máximo de selenio, mientras que los mínimos corresponden a Andalucía y Canarias (especialmente notable en esta última autonomía con menos del 26% respecto a la media nacional) (77).

TABLA 2

Indices más representativos para la valoración del estado de selenio y valores de referencia (67)

a) Medidas estáticas: Determinación de selenio de fluidos biológicos y tisulares		
	Niveles normales	Niveles deficientes
<u>Se plasmático</u>	0,76-1,52 µmol/L (60 -120 µg/L)	0,25 -0,38 µmol/L (20 -30 µg/L)
<u>Se eritrocitario</u>	1,13 -2,41µmol/L (90 -190 µg/L)	0,45 µmol/L (35 µg/L)
	1,52 - 8,23 µmol/KgHb (120-650 µg/KgHb)	1,01 - 1,14µmol/KgHb (80-90µg/KgHb)
b) Medidas funcionales: Determinación de los parámetros dependientes del selenio funcional.		
Actividad GSH-Px: No existen valores de referencia, ya que la actividad enzimática depende del método analítico empleado. La actividad GSH-Px presenta una meseta correspondiente a un nivel umbral indicativo de un estado óptimo de selenio.		
Meseta de GSH-Px: A) Eritrocitos: 1,77 µmol/L (60-80 µgSe/día)		
B) Plasma: 1,25 -1,45 µmol/L (100-110 µgSe/día)		

En el resto del mundo nos encontramos con situaciones diferentes. Existen países donde el consumo medio de este mineral es bajo, como Finlandia con una ingesta aproximada de 39 µg por persona y día (78); países con una ingesta de selenio adecuada, como Canadá con unos niveles medios de consumo en mujeres adultas de 78 µg por persona y día (79); países con un nivel de ingesta de selenio elevado, como Venezuela donde el consumo de selenio supera los 300 µg por persona y día (80); y por último países donde la ingesta de selenio es variable según la región, como en la República Popular China donde se encuentra comprendida entre 11 y 5000 µg por persona y día (81).

CONCLUSIONES

Es selenio ha sido reconocido como un nutriente esencial, sin embargo no se conocen con exactitud cuales son los niveles adecuados de consumo diario de selenio para los humanos. A este hecho se une un escaso conocimiento sobre su presencia en los alimentos, no sólo respecto a su concentración sino también a su forma química. Por todo ello se recomienda que los trabajos de investigación actuales se orienten a conocer con exactitud las recomendaciones diarias de consumo, sobre todo en las poblaciones más expuestas (niños y ancianos), y también al estudio de aquellos aspectos como la biodisponibilidad, forma química, rutas metabólicas, etc que pueden ser determinantes para conocer a fondo este importante elemento traza.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a la CICYT por su ayuda económica para la realización de este trabajo mediante el proyecto de investigación ALI 94-0338, al Ministerio de Educación y Ciencia por la concesión de la Beca de Formación de Personal Investigador a la Lda. Josefina Ortuno y a Hero España, S.A.

REFERENCIAS

1. Schwarz, K and C Foltz. Selenium as an integral part of factor 3 against necrotic dietary liver degeneration. *J Am Chem Soc* 79: 3292-3293, 1957.
2. Yang G, LZ Zhu, SJ Liu, LZ Gu, PC Qian, JH Huang and MO Lu. Human selenium requirements in China. Combs GF Jr, J Spallholz, OA Levander and JE Oldfield (Ed.). *Proceedings of the Third International Symposium on Selenium in Biology and Medicine*. Westport, Conn, The Avi Publishing Co. 1987, p. 589-607.
3. Jaffé, W. Selenio, un elemento esencial y toxico. *Datos de Latinoamerica. Arch Latinoam Nutr* 42, 2: 90-93, 1992.
4. Corella, D, I Frassetto, S Talamante, C Calderón y P Cortina. Importancia actual del selenio alimentario sobre la salud humana. *Nutr Clin* 11, 1: 57-63, 1991.
5. Diplock, AT. Trace elements in human health with special reference to selenium. *Am J Clin Nutr* 45: 1313-1322, 1987.
6. Lockitch, G. Selenium: clinical significance and analytical concepts. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 27, 6: 483-541, 1989.
7. Spallholz, JE. On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. *Free Radical Biol Med* 17, 1: 45-64, 1994.
8. Mills, GC. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative damage. *J Biol Chem* 229: 189-197, 1957.
9. Flohe, L, WA Gunzler and HH Shock. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett* 32: 132, 1973.
10. Ganther, HE, C Goudi, ML Sunde, MJ Koperky, P Wagner, S Oh and WG Hoekstra. Selenium: Relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. *Science* 175: 1122-1124, 1972.
11. Whanger, P.D. Selenium in the treatment of heavy metal poisoning and chemical carcinogenesis. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 6: 209-221, 1992.
12. Wang, WC, O Heinomen, P Makela and V NAnto. Serum, selenium, zinc and copper in Swedish and Finnish volunteers: a comparative study. *Analyst* 120: 837-840, 1995.
13. Stadman, TC. Specific occurrence of selenium in enzymes and amino acid t-RNA_s. *FASEB J* 1: 375-379, 1987.
14. Nève, J. Physiological and nutritional importance of selenium. *Experientia* 47: 187-193, 1991a.
15. Combs, GF and SB Combs. Selenium effects on drug and foreign compounds toxicity. *Pharmac Ther*, 33: 303-315, 1987.
16. Diplock, AT, WJ Watkins, and M Heurson. Selenium and heavy metals. *Annls clin Res* 18: 55-60, 1986.
17. Nève, J. Biological functions of selenium. En: *Selenium in Medicine and Biology*. Nève J and A Favier (Ed.). Walter de Gruyter, Berlin/New York, 1988a, p. 97-111.
18. Chen, RW, PA Whagner, WG Hoekstra and HE Ganther. Affinity labeling studies with ¹⁰⁹Cadmium in cadmium-induced testicular injury in rats. *J Reprod Fert* 38: 293, 1974a.
19. Chen, RW, PD Whanger, and PH Weswig. Selenium-induced redistribution of cadmium-binding to tissue proteins: a possible mechanism of protection against cadmium toxicity. *Bioinorg Chem* 4: 125, 1975.
20. Chen, RW, PD Whanger and SC Fang. Diversity of mercury binding in rat tissues by selenium: a possible mechanism of protection. *Pharm Res Comm* 6: 571, 1974b.
21. Nève, J. Selenium et vieillissement. *J Med Esth et Chir Derm* 16, 63: 185-190, 1989.
22. Peretz, A. Selenium in inflammation and immunity. En: *Selenium in Medicine and Biology*. Nève J and A Favier (Ed.). Berlin. Alemania, 1988. Kirimidjian, L and G Statzky.
24. Selenium and immune responses. *Envir Res* 42: 277-303, 1987. Spallholz, JE, LM Boylan and HS Larsen. Advances in understanding selenium's role in the immune system. *Ann NY Acad Sci* 587: 123-139, 1990.
25. Nève, J, F Vertogen and L Molle. Selenium deficiency. *Clin Endocr Metab* 14:629-656, 1985.
26. Corvilain, B, B Contempre, AO Longombe, P Goyens, C Gervy-Decoster, FLamy, JB Vanderpas and JE Dumont. Selenium and the thyroid: how the relationship was established. *Am J Clin Nutr* 57: 244S-248S, 1993.
27. Diplock, AT. Indexes of selenium status in human populations. *Am J Clin Nutr* 57: 256S-258S, 1993.
28. Hogberg, J. and J Alexander. Selenium. *Handbook on the Toxicology of Metals*, 2nd edition. L Friberg, GF Nordberg y V Vouk (Eds.). 1986, p. 482-520.
29. Hazell, T. Minerals in foods: Dietary sources, chemical forms, interactions, bioavailability. *Wld Rev Nutr Diet* 46: 1-123, 1985.
30. Mason, AC. Selenium. En: *Trace minerals in Foods*. Smith, KT (Ed.). Marcel Dekker, Inc. New York, 1988, p. 325-355. World Health Organization (WHO). *IPC5 International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria* 58. Selenium. World Health Organization, Genova, 1987. Societe Fran aise de P diatrie. Comite de nutrition (SFP). *Le selenium en nutrition pediatrique. Arch Fr Pediatr* 50: 715-719, 1993.
33. Ip, C and DJ Lisk. Bioavailability of selenium from selenium enriched garlic. *Nutr Cáncer* 20: 129-137, 1993.
34. Foster, LH and S Sumar. Selenium in the environment, food and health. *Nutr Food Sci* 5: 17-23, 1995.
35. Olson, OE, EJ Novtacek, EI Whitehead and IS Palmer. Investigations on selenium in wheat. *Phytochemistry* 9: 1181-1188, 1970.
36. Fenwick, GR and RK Heaney. Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods and feedingstuffs. *Food Chem* 11: 249-271, 1983.
37. Nigam, SN and WB McConnell. Metabolism of Na₂⁷⁵ SeO₄ in *Astragalus bisulcatus* Lima bean, and wheat: a comparative study. *J exp Bot* 27: 565-571, 1976.
38. Virupaksha, TK and A Shrift. Biochemical differences between selenium accumulator and non-accumulator *Astragalus* species. *Biochim biophys* 107: 69-80, 1965.
39. Schriitt A. Selenium compounds in nature and medicine. En: *Organic selenium compounds: their chemistry and biology*. Gunther K (Ed.). Wiley, Londres, 1973.
40. Schroeder, HA, DV Frost and JJ Balassa. Essential trace metals in man: selenium. *J Chron Dis* 23: 227-243, 1970.
41. O'Dell, BL. Bioavailability and interaction among trace elements. En: *Trace elements in Nutrition of Children*. Chandra, RR (Ed.). Nueva York, Raven Press, Nestlé Nutrition, Vevey, 1985, p. 41-62.
42. Nève, J, M Henry, A Peretz and JP Mareschi. L'importance nutritionnelle du selenium. *Cah Nutr Diet* 22, 2: 145-162, 1987.
43. Yoshida, M. Nutritional availability of selenium contained in rice. *Nippon Eiseigaku Zasshi* 42: 989-993, 1987.
44. Beilstein, MA, PD Whanger and GQ Yang. Chemical forms of selenium in corn and rice grown in a high selenium area of China. *Biomed Environ Sci* 4: 392-398, 1991.
45. Ochoa-Solano, A and C Gitler. Incorporation of ⁷⁵Se-selenomethionine and ⁷⁵methionine into chicken egg white proteins. *J Nutr* 94: 243-248, 1968.
46. Cary, EE, WH Allaway and M Miller. Utilization of different forms of dietary selenium. *J Anim Sci* 36: 285-292, 1973.
47. Levander, OA. Considerations in the design of selenium bioavailability studies. *Fed Proc* 42: 1721-1725, 1983.
48. Levander, OA. Selenium. En: *Trace elements in human and animal nutrition*. W. Mertz, (Ed.). Vol. 2., 5th ed. Orlando, FL, Academic Press. 1986, p. 209-279.
49. Alexander, AR, PD Whanger and LT Miller. Bioavailability to rats of selenium in various tuna and wheat products. *J Nutr* 113: 196-204, 1983.
50. Shen, L, P van Dael, J Luten and H Deelstra. Estimation of selenium bioavailability from human, cow s, goat and sheep milk by an in vitro method. *International J Food Sci Nutr* 47: 75-81, 1996.
51. van Dael, P. PhD dissertation: Comparative study on the distribution of selenium in cow's, goat, sheep and human milk. University of Antwerp, Bélgica, III-19-44, 1992, V-101-109.

52. Shen, LH, P van Dael and H Deelstra. Comparison of the in vitro availability of selenium, zinc and calcium from human, cow's, goat and sheep milk. En: Bioavailability'93. Ettlingen, May 9-12, Alemania. Schlemmer U (Ed.), 1993, p. 309-313.
53. Alegria, A, R Barberá, R Farré, MJ Lagarda and R Lorente. Selenium content of infant formulas and estimation of the intake of bottle fed infants. *Die Nahrung* 39, 3: 237-240, 1995.
54. Golden, BE. Infant nutrition. En: Human nutrition and Dietetics. JS Garrow y WPT James (Eds.). New York, NY, Churchill Livingstone. 1993, p. 387-393.
55. Levander, OA. Considerations on the assessment of selenium status. *Fed Proc* 44: 2579-2583, 1985.
56. Raciones Dieteticas Recomendadas (RDR). National Research Council. 1th ed española. Barcelona, Ed Consulta SA, 1991.
57. Thomassen Y and J Aaseth. Human tissues. En: Occurrence and distribution of Se. Ilnat M (Ed.). CRC Press, Boca Ratón, 1989, p. 169-212.
58. Spivey, MR, RM Jacobs, AOL Jones, BE Fry, M Rakowska, RP Hamilton, BF Harland, CL Stone and SH Tao. Animal models for assessing bioavailability of essential and toxic elements. *Cereal Chem* 58, 1: 6-11, 1981.
59. Levander, OA. A global view of selenium nutrition. *Ann Rev Nutr* 7: 227-250, 1987.
60. Combs, GF. Essentiality and toxicity of selenium with respect to recommended dietary allowances and reference doses. *Scand J Work Environ Health* 19, suppl. 1: 119-121, 1993.
61. Levander, OA and VC Morris. Dietary selenium levels needed to maintain balance in North American adults consuming self-selected diets. *Am J Clin Nutr* 39: 809-815, 1984.
62. Litov, RE and GF Combs. Selenium in pediatric nutrition. *Pediatrics* 87: 339-351, 1991.
63. Kumpulainen, J. Selenium: requirement and supplementation. *Acta Paediatr Scand* 351: 114-117, 1989.
64. Nève, J and YA Carpentier. Laboratory methods for assessment of selenium status. En: Nutrition in Clinical Practice. Proc. 10th Congr. ESPEN, Leipzig 1988. Hartig W, G Dietze and R Weiner (Ed.). Karger, Basel, 1989, pp. 273-286.
65. Nève, J. Biological parameters for assessing selenium status. En: Selenium in Medicine and Biology. Nève J and A Favier (Ed.). Walter de Gruyter, Berlin/Nueva York, 1988b, p. 138-147.
66. Thorling, EB, K Overvad and J Geboers. Selenium status in Europe. Human data a multicenter study. *Ann Clin Research* 18: 3-7, 1985.
67. van Dael, P and H Deelstra. Selenium. *Int J Vitam Nutr Res* 63, 4: 312-316, 1993.
68. Nève, J, R Vangheffel, M Hanocq and L Molle. Plasma and erythrocyte zinc, copper and selenium in cistic fibrosis. *Acta Paediatr Scand* 72: 437-440, 1983.
69. Sinet, PM, Lejeune and H Jerome. Trisomy 21 (Down's syndrome) glutathione peroxidase, hexose monophosphate shunt and IQ. *Life Sci* 24: 29-34, 1979.
70. Arnaud, J, A Favier, JP Zarski, M Rachail, H Labadie and M Beaugrand. Serum selenium in alcoholic disease. En: Selenium in medicine biology. J N ve, A Favier y W de Gruyter (Eds.). Berlin/Nueva York. 1988, p. 273-276.
71. Luoma, PV, EA Sotaniemi, H Korpela, and J Kumpulainen. Serum selenium, glutathione peroxidase activity and high density lipoprotein cholesterol. Effect of selenium supplementation. *Res Commun chem Path Pharmac* 46: 469-472, 1984.
72. Salonen, JT. Selenium and human cancer. *Ann Clin Research* 18: 18-21, 1986.
73. Dubois, F and F Belleville. Selenium: Role physiologique et interet en pathologie humaine. *Pathol Biol* 36, 8: 1017-1025, 1988.
74. Rosenfeld, I and OA Beath. Selenium, geobothany, biochemistry, toxicity and nutrition. Nueva York/Londres, Ed Academic Press, 1964.
75. Ferm, VH, The teratogenic effects of metals on mammalian embryos. *Adv Teratol* 6: 51-75, 1972.
76. Domingo, JL. Metal-induced developmental toxicity in mammals: a review. *J Toxic Environ Health* 42: 123-141, 1994.
77. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). Dieta alimentaria española. MAPA. Direccion General de Política Alimentaria. Madrid, 1991, p. 222.
78. Varo, P, (Alfthan, P Ekholm, A Aro and P Koivistoinen. Selenium intake and serum selenium in Finland: effects of soil fertilization with selenium. *Am J Clin Nutr* 48: 324-329, 1988.
79. Gibson, RS, OB Martinez and AC MacDonald. The zinc, copper, and selenium status of a selected sample of canadian elderly women. *J Gerontol* 40, 3: 296-302, 1985.
80. Mondragón, MC an WG Jaffé. Consumo de selenio en la ciudad de Caracas en comparación con otras ciudades del mundo. *Arch Latinoam Nutr* 26: 341-352, 1976.
81. Yang, G, K Ge, J Chen and X Chen. Selenium related endemic diseases and the daily selenium requirement of humans. *World Review of Nutrition and Dietetics* 3: 98-152, 1988.
82. Burk, RF. Clinical effects of selenium deficiency. En: Essential and toxic elements in human health and disease, Wilwy-Liss, Inc. 1993, p. 181-190.

Recibido: 15-08-1996

Aceptado: 04-10-1996

Contenido de zinc, cobre, hierro, calcio, fósforo y magnesio en leche materna en los primeros días de lactación

Ana Itriago¹, Nereida Carrión², Alberto Fernández³, Myriam Puig⁴ y Elizabeth Dini⁵

Centro de Química Analítica. Escuela de Química. Facultad de Ciencias,
Universidad Central de Venezuela, Apartado Postal 47102, Caracas, 1041-A

RESUMEN. Se determinó, el contenido de Zn, Cu, Fe, Ca, P y Mg en leche temprana en 72 madres de la ciudad de Caracas. Las muestras fueron colectadas durante tres etapas de lactación: calostro (3 días), transicional (7 días) madura (21 días). Los cambios más marcados en las concentraciones de los elementos estudiados se observan principalmente durante las primeras semanas de lactación, tendiendo a estabilizarse hacia la tercera semana de lactación. El contenido de Zn, Cu, Fe, Ca, P y Mg en leche calostro, fue de $7,1 \pm 2,5$ $\mu\text{g/ml}$, $0,52 \pm 0,15$ $\mu\text{g/ml}$, $0,49 \pm 0,14$ $\mu\text{g/ml}$, 214 ± 62 $\mu\text{g/ml}$, 107 ± 27 $\mu\text{g/ml}$ y $33,3 \pm 5,5$ $\mu\text{g/ml}$. En leche transicional $4,0 \pm 1,0$ $\mu\text{g/ml}$, $0,5 \pm 0,10$ $\mu\text{g/ml}$, $0,38 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$, 292 ± 62 $\mu\text{g/ml}$, 213 ± 36 $\mu\text{g/ml}$ y $30,4 \pm 5,2$ $\mu\text{g/ml}$ y en leche madura $2,8 \pm 2,7$ $\mu\text{g/ml}$, $0,47 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$, $0,36 \pm 0,09$ $\mu\text{g/ml}$, 244 ± 49 $\mu\text{g/ml}$, 175 ± 35 $\mu\text{g/ml}$ y $25,2 \pm 3,3$ $\mu\text{g/ml}$. Las concentraciones de los elementos traza estudiados (Zn, Fe y Cu) se mantienen dentro de los niveles considerados normales. Los valores de los elementos mayoritarios (Ca, P y Mg) son comparables a los reportados en la bibliografía para otros países. Estos resultados sugieren que el estado nutricional de esta población de madres es adecuado para satisfacer las demandas del lactante en las primeras etapas de su vida.

SUMMARY. Zinc, Copper, Iron, Calcium, Phosphorous and Magnesium content of maternal milk at early stage of lactation. Zinc, Copper, Iron, Calcium Phosphorous and Magnesium contents were determined in early milk samples in 72 mothers from Caracas city. The samples were collected during three different lactation stages: calostro (3 days), transitional (7 days) and mature milk (21 days). The more significant changes in the concentration of the studied elements were observed during the first two weeks, then they stabilize during the third week. The Zn, Cu, Fe, Ca, P and Mg average concentration found in calostro samples were $7,1 \pm 2,5$ $\mu\text{g/ml}$; $0,52 \pm 0,15$ $\mu\text{g/ml}$; $0,49 \pm 0,14$ $\mu\text{g/ml}$; 214 ± 62 $\mu\text{g/ml}$, 107 ± 27 $\mu\text{g/ml}$ and $33,3 \pm 5,5$ $\mu\text{g/ml}$. For the transitional milk samples the average concentration found for the studied elements were: $4,0 \pm 1,0$ $\mu\text{g/ml}$; $0,50 \pm 0,10$ $\mu\text{g/ml}$; $0,38 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$; 292 ± 62 $\mu\text{g/ml}$; 213 ± 36 $\mu\text{g/ml}$ and $30,4 \pm 5,2$ $\mu\text{g/ml}$. For the mature milk samples the results were: $2,8 \pm 2,7$ $\mu\text{g/ml}$; $0,47 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$; $0,36 \pm 0,09$ $\mu\text{g/ml}$; 244 ± 49 $\mu\text{g/ml}$; 175 ± 35 $\mu\text{g/ml}$ and $25,2 \pm 3,3$ $\mu\text{g/ml}$. The concentration range for all trace elements studied (Cu, Fe and Zn) can be considered normal. For the major elements (Ca, P and Mg) the results obtained in our work are similar to those reported for other countries. These facts allows to conclude that the nutritional state of this mother population is adequate to satisfy the lactate's requirements during their first live stage.

INTRODUCCION

Desde el punto de vista nutricional la leche materna representa el primer alimento para los humanos y es la fuente de todos los nutrientes requeridos para las funciones biológicas y crecimiento durante las primeras etapas de su vida (1)

La nutrición del recién nacido está íntimamente ligada al aporte de leche materna durante los primeros días de su vida, por lo tanto la producción de la misma no debe ser considerada sólo desde el punto de vista cuantitativo, sino además tomar en cuenta su calidad; por lo cual el conocimiento de la concentración de oligoelementos es de suma importancia. La cantidad de nutrientes suministrados por la leche materna y la utilización de éstos por el bebé pueden servir como una referencia para establecer los requerimientos mínimos nutricionales del recién nacido (2,3).

Aún cuando el contenido de oligoelementos en la leche materna es menor o igual a los encontrados en la leche de vaca, la pobre biodisponibilidad de los nutrientes, en esta última, es debido probablemente a las diferencias que existen

1. Centro de Química Analítica, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela Apartado Postal 47102, Caracas, 1041- A
2. Profesor Titular Centro de Química Analítica, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Apartado Postal 47102, Caracas, 1041-A
3. Profesor Asociado. Centro de Química Analítica, Escuela de Química Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Apartado Postal 47102, Caracas, 1041-A
4. Hospital de Clínicas Caracas Consultorio 415 Avenida Panteón, San Bernardino, Caracas, Venezuela.
5. Unidad Clínica de Nutrición Educación e Investigación. Caracas Venezuela

en los compuestos que pueden formar con los constituyentes de la leche, como por ejemplo la caseína, presente en mayor cantidad en la leche de vaca, actúa como un factor limitante en la absorción de oligoelementos en el recién nacido (4,5).

En general la leche materna varía en su composición a lo largo del tiempo y se han descrito tres etapas, según el tiempo que transcurre después del parto; leche calostro (1 a 3 días), leche transicional (7 a 20 días) y leche madura (después de 21 días) (6). Durante estas etapas suceden cambios en la concentración y distribución de muchos elementos en la leche materna principalmente la leche calostro es rica en minerales elementos trazas y anticuerpos, de allí la gran importancia de ésta en el desarrollo y crecimiento del recién nacido (4,7).

En Venezuela se tiene poca información de los niveles de oligoelementos en leche materna (8,9). En este trabajo se realiza un estudio de contenido de Fe, Cu, Zn, Ca, P y Mg en leche materna durante diferentes períodos de lactación con la finalidad de ir recolectando datos para establecer en un futuro valores de referencia de la concentración de estos oligoelementos en leche materna en nuestra población.

MATERIALES Y METODOS

Población a estudiar. Para la investigación fueron seleccionadas al azar, un total de 72 madres lactantes previo conocimiento y consentimiento por escrito de cada participante, las cuales ingresaron al servicio de obstetricia y ginecología del Hospital General Miguel Pérez Carreño, de los seguros sociales en Caracas, entre abril y diciembre de 1989. Todas fueron residentes de la ciudad de Caracas (Venezuela). Un estudio socioeconómico demostró que el 77% de las madres pertenecía a un estrato socioeconómico medio-bajo (nivel IV) y bajo (nivel V), según Graffar modificado por Méndez Castellano (10). Todas las madres fueron mayores de 18 años con emba-

TABLA. 1
Datos de las madres

Peso/kg	Talla/cm	Circunferencia braquial/cm	Circunferencia muñeca izquierda/cm
58±10a,69±10b 64±9c	1,55±0,06	25,9±2,9	15,9±1

a) antes del embarazo b) al final del embarazo c) postparto

razo simple a término (≥37 semanas). La descripción de la población bajo estudio se presenta en la Tabla 1.

Recolección y almacenamiento de las muestras de leche. A cada una de las gestantes se le tomó 20 ml de leche en horas de la mañana (7-10 a.m.) a los 3, 7 y 21 días después del parto, representando de esta manera respectivamente muestras de calostro, transicional y madura. La extracción de leche se realizó al azar en el pecho izquierdo o derecho, por masaje externo, previo entrenamiento de las donantes, las muestras fueron recogidas en envases seco de polietileno previamente lavados con ácido nítrico. Se agregó una solución acuosa de Nonilfenol etoxilado al 25 % m/v (etoxil^r de Venezuela) como agente emulsificante (concentración final 0,30% m/v). Las muestras fueron almacenadas a -15°C., hasta el momento de su análisis.

Métodos analíticos. La metodología de análisis empleada descrita en una publicación previa (11) es resumida a continuación: las muestras de leche materna con 0,30% m/v de Nonilfenol etoxilado fueron descongeladas y agitadas manualmente para la reconstitución de las mismas, se tomaron alícuotas por duplicado de 1 ml de muestra, agregándose ácido nítrico y diluyéndose 10 veces con agua desionizada (MilliQ), para obtener una concentración final de 1% v/v en

FIGURA. 1

Histogramas de distribución de frecuencias para las concentraciones de zinc en leche materna a las diferentes etapas de lactación

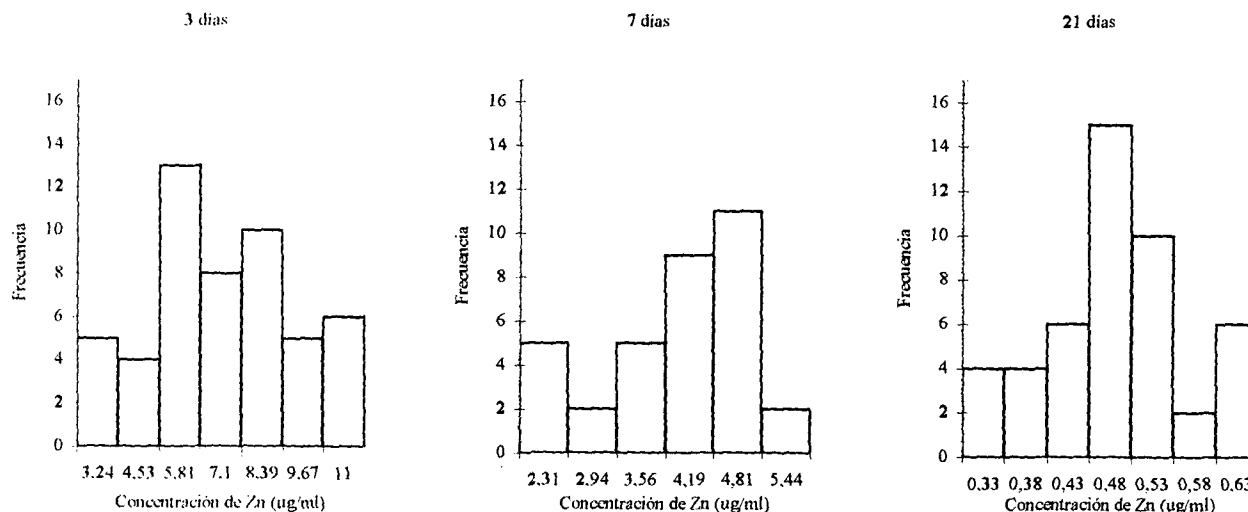


TABLA 2
Concentraciones promedios ($\mu\text{g/ml}$) de Zn, Cu, Fe, Ca, P y Mg en leche materna a los 3, 7 y 21 días

Etapas de Lactación	Zn	Cu	Fe	Ca	P	Mg
3 días (Calostro)	7,1 \pm 2,5 ^a (52) ^b	0,52 \pm 0,15 (51)	0,49 \pm 0,14 (51)	214 \pm 62 (53)	107 \pm 27 (45)	33,3 \pm 7,5 (50)
7 días (Transicional)	4,0 \pm 1,0 (35) ^b	0,50 \pm 0,10 (35)	0,38 \pm 0,08 (34)	292 \pm 62 (36)	213 \pm 36 (35)	30,4 \pm 5,2 (34)
21 días (Madura)	2,8 \pm 2,7 (47)	0,47 \pm 0,08 (46)	0,37 \pm 0,09 (46)	244 \pm 49 (50)	175 \pm 35 (50)	25,2 \pm 3,3 (47)

^aMedia \pm DS ^b Número de muestras

HNO₃ y de 0,030% m/v en nonilfenol etoxilado.

La determinación de Zn, Cu, Fe, Ca, P y Mg, en las muestras de leche materna se realizó por la técnica de Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma Acoplado por Inducción utilizando un equipo Jobin Ivon Modelo JY-24. La calibración fue realizada con patrones multielementales preparados a partir de las soluciones madres de cada elemento bajo las mismas condiciones de las muestras, así mismo se preparó un blanco para controlar la pureza de los reactivos.

Métodos estadísticos. Todos los cálculos y análisis estadísticos fueron realizados aplicando el Programa estadístico STAGRAPHS, versión 4.0 (12). Se realizaron histogramas de distribución de los resultados de las concentraciones para cada elemento a fin de determinar si estos seguían una curva normal de distribución ($p > 0,05$) para cada elemento evaluándose estadísticamente con la prueba de normalidad Chi-cuadrado. A través de la prueba estadística no paramétrica de análisis de varianza de Kruskal-Wallis, se determinaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la distribución de concentración entre poblaciones de muestras y a través de la prueba de Contraste Múltiple (Tipo Scheffé), se determinó cuales grupos de muestras fueron homogéneas, comparando medias entre ellas (13, 14). La prueba estadística

t de Student se aplicó ($p < 0,05$) para estudiar diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones promedios encontrados en este estudio y los valores reportados por diferentes autores (12,13).

RESULTADOS

Los datos de las medidas antropométricas de la población estudiada se presentan en la Tabla 1, el conjunto muestreado es homogéneo y sus características corresponden a una población médicamente sana (9). Los resultados de las concentraciones promedios de Zn, Cu, Fe, Ca, P y Mg en las muestras de leche materna calostro, transicional y madura, a los 3, 7 y 21 días respectivamente después del parto son presentados en la Tabla 2.

En la Figura 1 se presentan los histogramas de distribución de frecuencia de los valores de la concentración de Zn en las tres etapas de lactación estudiadas, cuyos resultados siguieron una curva normal de distribución. Existe un marcado cambio de la distribución de frecuencia a medida que avanza la etapa de lactación. La leche de calostro (Figura 1a), presenta una mayor variabilidad del contenido de Zn, con un mayor rango de concentración de 2,6 - 11,6 $\mu\text{g/ml}$, disminuyendo progresivamente hasta la leche transicional (Figura 1b) cuyo

FIGURA 2

Histogramas de distribución de frecuencias para las concentraciones de cobre en leche materna a las diferentes etapas de lactación

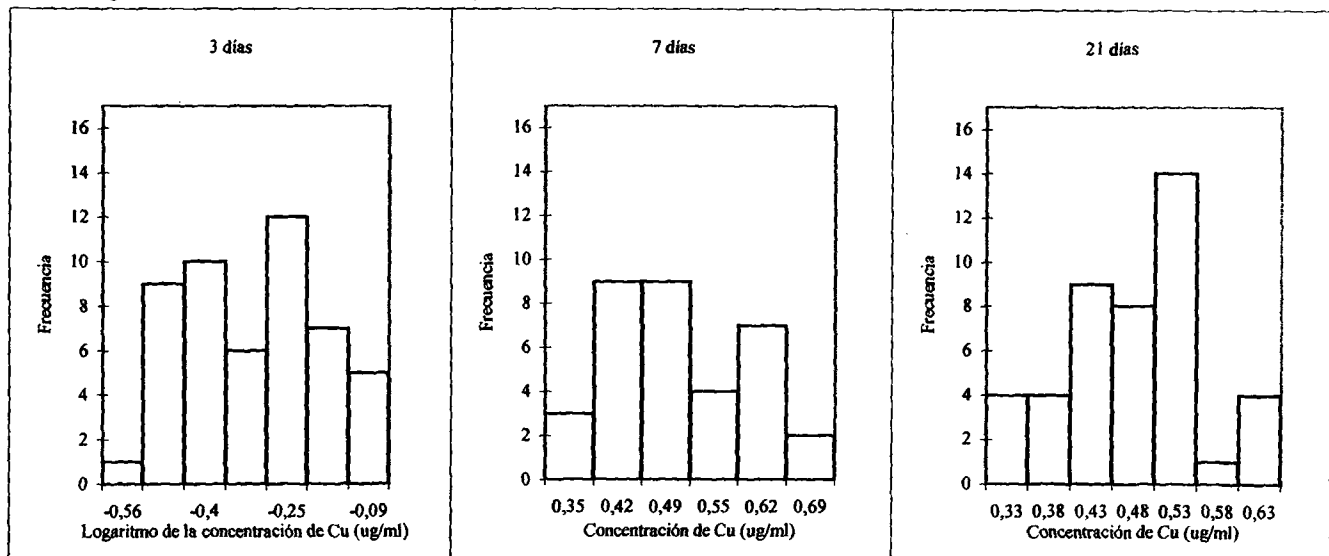


TABLA 3

Valores de concentración de Zn en leche materna (µg/ml)

Calostro	Días	Transicional	Días	Madura	Días	País
7,1±2,5	3	4,0±1,0	7	2,8±0,8	21	Este trabajo
9,3±1,6	2-5	6,7±0,2	6-10	2,9±0,5	11-30	India (16)
9,3±2,0	3	4,7±1,0	6-10	3,7±1,1	18-21	USA (17)
5,3±0,3	2-5	4,7±0,3	6-10	3,3±0,3	11-30	India (18)

TABLA 4

Valores de concentración de Cu en leche materna (µg/ml)

Calostro	Días	Transicional	Días	Madura	Días	País
0,52±0,2	3	0,50±0,1	7	0,47±0,08	21	Este trabajo
0,97±0,03	1.-5	0,86±0,05	10	0,36±0,03	20	Venezuela-Merida(8)
0,50±0,12	3	0,59±0,08	6-10	0,42±0,08	18-21	USA (17)
0,46±0,02	2-5	0,50±0,03	6-10	0,45±0,03	11-30	India (18)

rango es de 2,0 - 5,75 µg/ml, y madura (Figura 1c) con un rango 1,1 - 4,3 µg/ml, esta disminución del rango de concentraciones con el avance de la lactación es un indicativo de un aumento de la homogeneidad de las muestras de la leche cuando la lactación comienza a estabilizarse (16).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones promedio de Zn en las diferentes etapas de lactación. El valor promedio de la concentración disminuye progresivamente desde 7,1 µg/ml en el calostro, hasta 4,0 µg/ml en la leche transicional y 2,8 µg/ml en leche madura.

En la Figura 2 se presentan los histogramas de frecuencia de los valores de la concentración de Cu en las tres etapas de lactación, en ella se observa un cambio en la distribución de la concentración de Cu de la leche calostro a la leche madura (Figura 2a, b, y c). El rango de concentración disminuye ligeramente desde la leche de calostro (0,30-0,78 µg/ml) a la leche

transicional (0,32 - 0,72 µg/ml) y leche madura (0,31 - 0,65 µg/ml), lo que indica un incremento en la homogeneidad de las muestras con el avance de la lactación. Los resultados de Cu en leche calostro, no se ajustaron a una curva de distribución normal, sino a una distribución Log-normal. Mientras que la distribución de la concentración en leche transicional y madura se ajustaron a una curva normal. Se encontraron las concentraciones promedios de 0,52; 0,50 y 0,47 µg/ml para la leche de calostro, leche transicional y leche madura respectivamente. No encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones promedios de Cu durante el avance de la lactación.

En la Figura 3 se presentan los histogramas de distribución de frecuencia de los valores de la concentración de Fe en las tres etapas de lactación estudiadas. Se encontró que en todas las etapas seguían una curva de distribución normal. El rango de las concentraciones de Fe varía de la leche calostro

FIGURA.3

Histogramas de distribución de frecuencias para las concentraciones de hierro en leche materna a las diferentes etapas de lactación

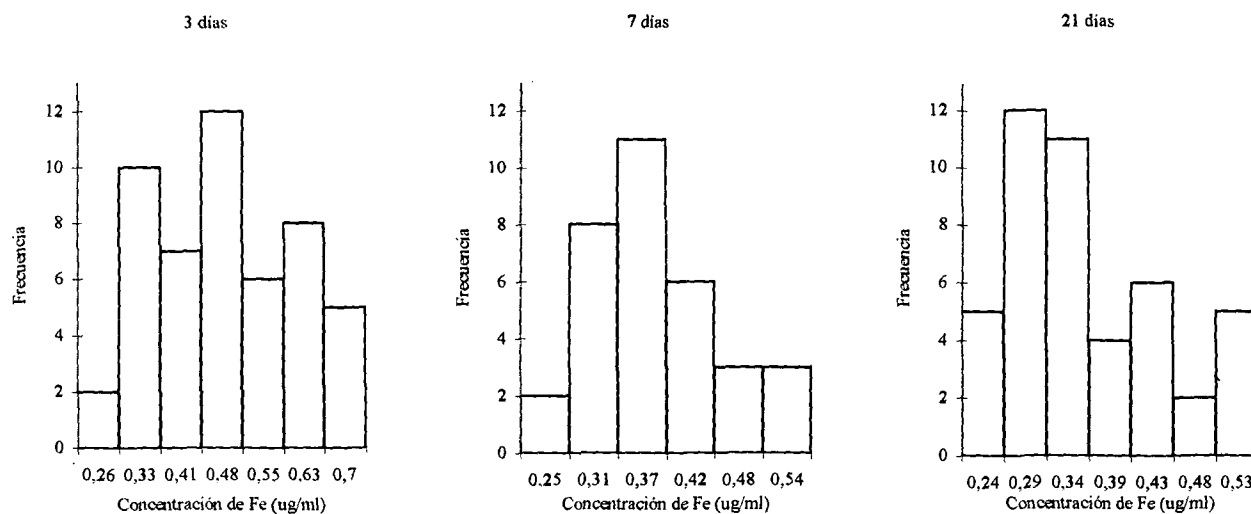


TABLA 5

Valores de concentración de Fe en leche materna ($\mu\text{g/ml}$)

Calostro	Días	Transicional	Días	Madura	Días	País
0,49 \pm 0,14	3	0,38 \pm 0,09	7	0,36 \pm 0,09	21	Este trabajo
0,49 \pm 0,15	1-5	0,29 \pm 0,02	10	0,14 \pm 0,02	20	Venezuela-Mérida (8)
0,49 \pm 0,15	3					USA (21)
0,85 \pm 0,50	1-3					Mexico (24)
		0,77 \pm 0,10	7	0,80 \pm 0,15	21	USA (25)

TABLA 6

Valores de concentración de Ca en leche materna ($\mu\text{g/ml}$)

Calostro	Días	Transicional	Días	Madura	Días	País
214 \pm 62	3	292 \pm 60	7	244 \pm 49	21	Este trabajo
241 \pm 8	3	284 \pm 48	7-14	188 \pm 64	\geq 15	Francia (26)
214 \pm 38	3	254 \pm 11	7	226 \pm 25	21	USA (27)

(Figura 3a) de 0,22-0,74 $\mu\text{g/ml}$ hasta 0,22 -0,57 $\mu\text{g/ml}$ en la leche transicional (Figura 3b), siguiendo con un comportamiento similar hasta la leche madura (Figura 3c) con un rango de 0,22 -0,55 $\mu\text{g/ml}$. La leche de calostro presenta un mayor rango de concentraciones indicando una mayor variabilidad del contenido de Fe, esta variación es menor en las etapas transicional y madura. Este comportamiento es indicativo de un incremento de la homogeneidad de las muestras de leche de las madres cuando la lactación comienza a estabilizarse (16).

Los valores de la concentración promedio de Fe en leche calostro, transicional y madura, fueron 0,49 $\mu\text{g/ml}$, 0,38 $\mu\text{g/ml}$ y 0,36 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente, encontrándose diferencias significativas entre las medias de las concentraciones a los 3 días con respecto a los 7 y 21 días, pero no entre estas últimas.

En la Figura 4 se presentan los histogramas de distribu-

ción de frecuencias de los valores de la concentración de Ca en leche calostro, transicional y madura respectivamente. Se observan muy pocos cambios en los mismos (Figura 4a, 4b y 4c). Para las tres etapas se encontró que siguen una curva de distribución normal. Los rangos de concentración de las etapas fueron similares 107-388, 192-393 y 144 -330 $\mu\text{g/ml}$. Los valores promedio de las concentraciones de Ca para la leche de calostro, transicional y madura fueron 214, 292 y 244 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

En la Figura 5 se presentan los histogramas de frecuencias de los valores de la concentración de P, en las tres etapas de lactación estudiadas, se observa un marcado cambio en la distribución de las concentraciones con el avance de la lactación. Se encontró un aumento del rango de concentración desde la leche de calostro de 70-169 $\mu\text{g/ml}$ (Figura 5a) hasta

FIGURA. 4

Histogramas de distribución de frecuencias para las concentraciones de calcio en leche materna a las diferentes etapas de lactación

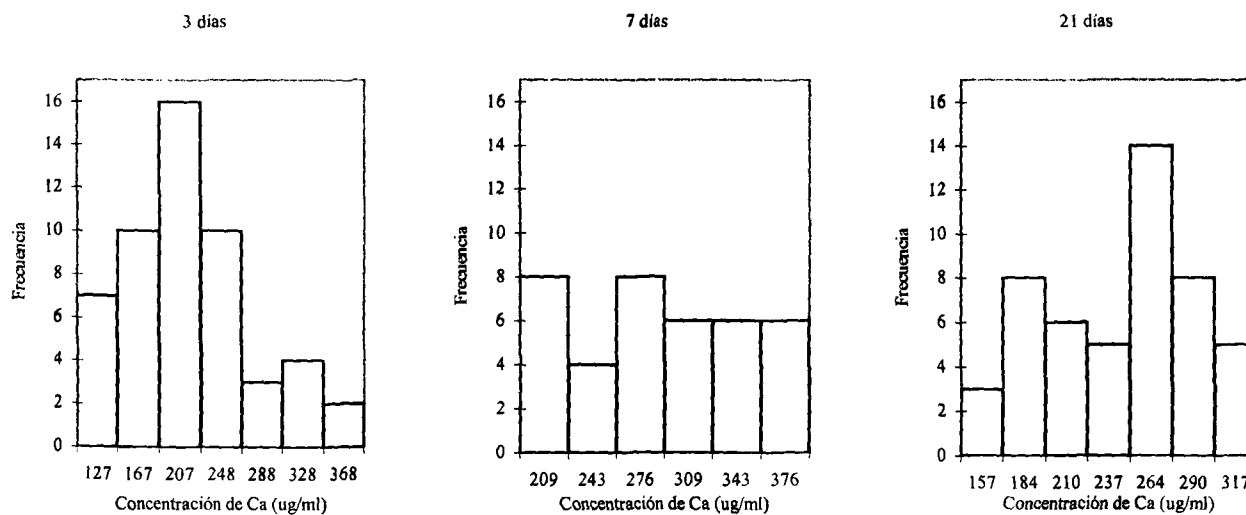


TABLA 7

Valores de concentración de P en leche materna (µg/ml)

Calostro	Días	Transicional	Días	Madura	Días	País
107±27	3	213±36	7	175±35	21	Este trabajo
		169±9	7	149±9	21	USA (25)
99±34	≤6	135±36	7-14	111±31	≥15	Francia (26)
110±12	3	151±18	7	153±14	21	USA (27)

TABLA 8

Valores de concentración de Mg en leche materna (µg/ml)

Calostro	Días	Transicional	Días	Madura	Días	País
33,3±7,5	3	30,4±5,2	7	25,2±3,3	21	Este trabajo
46,2±15,8	2-5	40,7±13,3	6-10	38,2±14,2	11-30	India (16)
29,3±4,8	≤6	27,6±6,5	7-14	24,0±12	>15	Francia (26)
25,0±4	3	29,0±2	21	29,0±3	21	USA (27)

la transicional de 136-278 µg/ml (Figura 5b.) para luego disminuir hasta 114 - 234 µg/ml en la leche madura (Figura 5c). En la leche calostro los resultados siguieron una curva de distribución log-normal. Mientras que los resultados en leche transicional y normal; siguieron una distribución normal el valor promedio fue de 107, 213 y 175 µg/ml, para la leche de calostro, leche transicional y leche madura respectivamente. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

En la Figura 6, se presentan los histogramas de distribución de frecuencias para el Mg, durante los tres periodos de lactación. Los resultados de las concentraciones de Mg en la leche de calostro, transicional y madura mostraron que estos seguían una curva normal de distribución. Existiendo un cambio en la distribución de los resultados desde la leche de calostro hasta la leche madura y una variación en los rangos de concentración. La leche de calostro presentó un mayor

rango de concentración (20,8 - 47,6 µg/ml, (Figura 6a) que va disminuyendo progresivamente hasta 19,8 - 32,5 µg/ml en la leche madura (Figura 6c). Las concentraciones promedios de Mg fueron de 33,3, 30,4 y 25,2 µg/ml en leche calostro, transicional y madura respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones promedios de la leche calostro y transicional, pero sí con respecto a la leche madura.

DISCUSION

Los valores de la concentración de Zn en etapas de lactación similares a las estudiadas en este trabajo reportados en la bibliografía en diferentes países (Tabla 3) muestran que los valores de la leche calostro presentan la mayor variabilidad entre los valores reportados. Se encuentran diferencias significativas entre los reportados y el nuestro, siendo menor

FIGURA.5

Histogramas de distribución de frecuencias para las concentraciones de fósforo en leche materna a las diferentes etapas de lactación

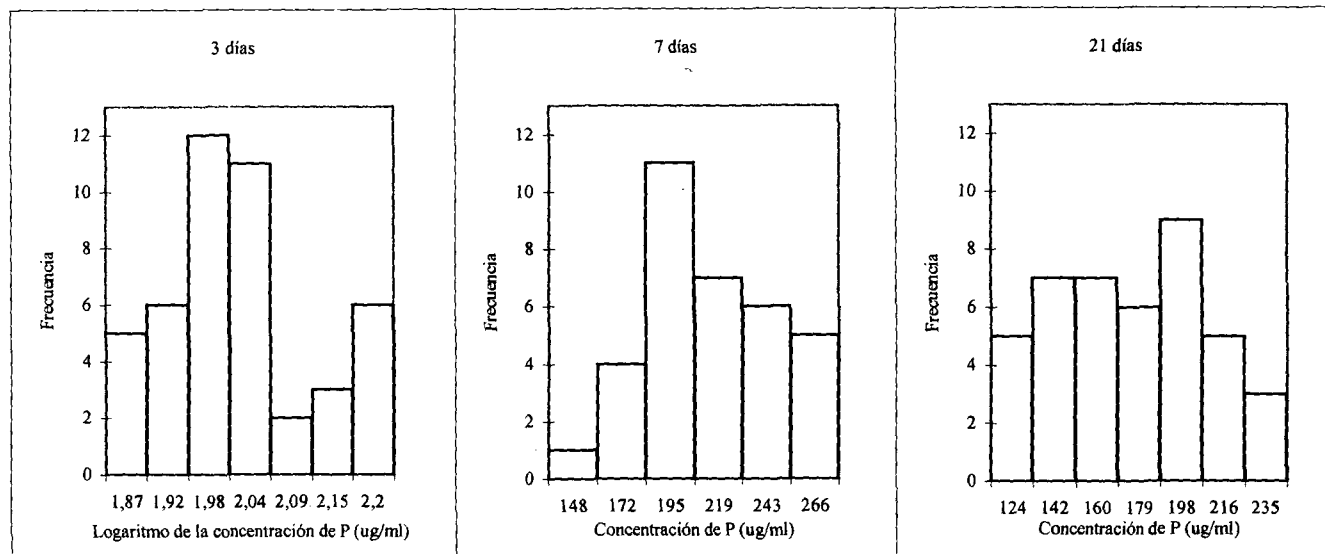


TABLA 9

Datos de los recién nacidos

Día	Peso/g	Talla/cm	Circunferencia cefálica /cm
Día 1	3,055±431	50,10±2,34	34,06±1,56
Día 21	3,931±551	53,2±2,08	37,00±1
Incremento	875,48	3,11	2,94

Datos tomados de Siciliano y col (9)

a los encontrados en la India (16) y USA (17) y mayor al encontrado en otro trabajo en la India (18). En la concentración de Zn en la leche transicional, se encontraron diferencias significativas solo con el reportado por Sharda (16), en estudios realizados en la India. En la leche madura no se encontraron diferencias significativas entre los valores promedios de la concentración encontrados y los reportados en la bibliografía. Se encontró una marcada disminución de la concentración promedio de Zn (Figura 1) de 44% desde los 3 días hasta los 7 días, para continuar disminuyendo aproximadamente en un 30% hasta los 21 días. Esta tendencia coincide con la mayoría de los trabajos reportados (17 - 19). Se ha reportado que esta marcada disminución de los valores de Zn en los primeros días de lactación se debe probablemente a que se encuentra enlazado a componentes de la leche (citratos, lactoalbuminas), los cuales disminuyen drásticamente desde el día 2 hasta el día 12 (7). El rango de concentración promedio de Zn encontrado en este estudio en el periodo de 3 a 21 días, de 7,1 a 2,8 $\mu\text{g/ml}$. puede ser ubicado dentro del rango de valores altos reportado por Iyengar (3,0 - 7,0 $\mu\text{g/ml}$) (20).

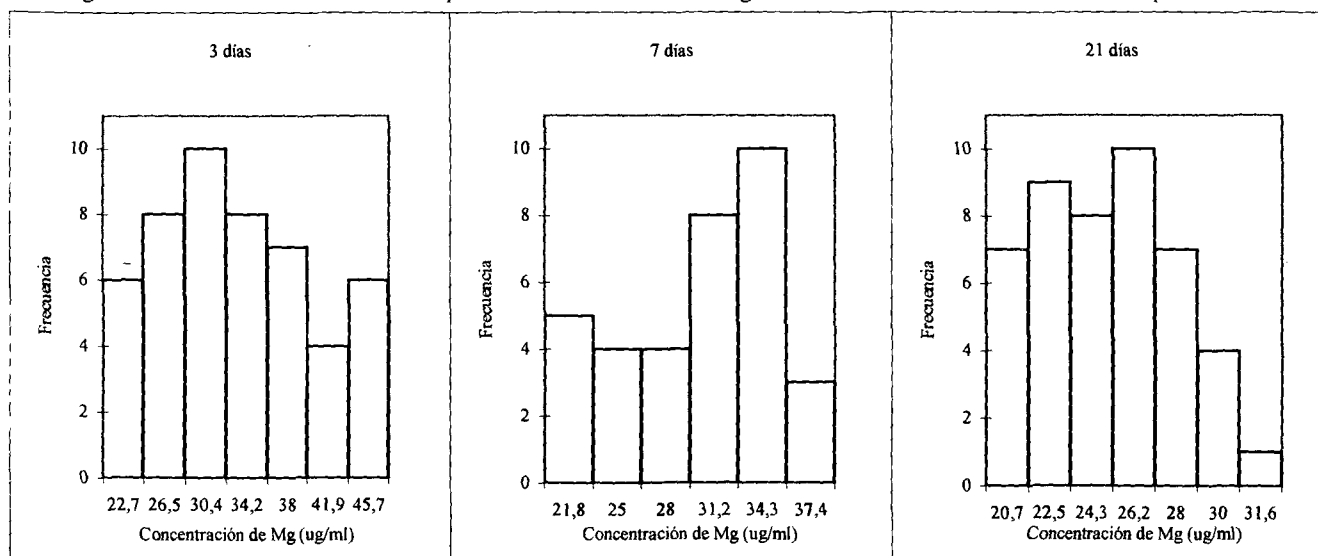
Para, el Cu la concentración permaneció constante durante el avance de la lactación, coincidiendo con lo reportado por Casey (17), Kirsksey (21) y Hisgashi (23), los cuales encontraron que la concentración de Cu no varía significativamente hasta después de los 14 días o un mes de lactación. Otros trabajos (8,16) han reportado, que la concentración de Cu

comienza a disminuir desde las primeras horas o días después del parto (calostro), continuando hasta la leche madura. Comparando los valores promedios reportados en la bibliografía (Tabla 4), no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los valores encontrados y los reportados por Casey (17) y Rajalaskhmi (18) en USA y la India respectivamente en periodos de lactación similares. Para la leche de calostro y leche transicional los valores encontrados son menores que los reportados por Burguera (8) y Sharda (16) en Mérida y la India respectivamente, pero mayores con respecto a la leche madura. Iyengar (20), reportó valores de referencia de Cu, frecuentemente encontrados en diferentes países cuyos rangos de concentraciones normales van de 0,25 a 0,40 $\mu\text{g/ml}$, considerando de 0,50 a 0,70 $\mu\text{g/ml}$ como relativamente altos, y bajos los menores e iguales a 0,20 $\mu\text{g/ml}$, en base a estos podríamos considerar que nuestro rango de concentración de 3 a 21 días de Cu se encuentran dentro de la categoría de normales a altos.

Se encontró que la concentración promedio de Fe (Tabla 5), disminuye desde la leche calostro hasta leche transicional, permaneciendo constante hasta la leche madura, este comportamiento es similar a lo reportado por Burguera (8) y Feeley (23), sin embargo ellos encuentran que esta disminución comienza con la primera semana después del parto hasta aproximadamente 30 a 45 días. Kirsksey (21), no encontró diferencias significativas entre los 3 y 14 días. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas, entre la concentración de Fe encontrada en leche de calostro con la reportada por Burguera (8) y Kirsksey (21) en Mérida y USA, respectivamente, mientras que Vega (2) en México reporta un valor mayor. Así mismo los valores en la leche transicional y leche madura fueron menores a los reportados por Lemons (25) y mayores a los reportados por Burguera (8) en USA y Mérida respectivamente. Iyengar (20) reporta que los valores más frecuentes de la concentración de Fe encontrados en diferen-

FIGURA. 6

Histogramas de distribución de frecuencias para las concentraciones de magnesio en leche materna a las diferentes etapas de lactación



tes países del mundo, son clasificados como rangos relativamente bajos de 0,20 a 0,25 $\mu\text{g/ml}$. Normales de 0,33 a 0,60 $\mu\text{g/ml}$ y altos de 0,70 a 1,70 $\mu\text{g/ml}$, según esta escala, el rango de valores encontrados en este trabajo de 0,36 a 0,49 $\mu\text{g/ml}$ durante todo el periodo de lactación, puede considerarse dentro de los valores normales.

El calcio presenta un aumento de la concentración promedio desde los 3 días hasta los 7 días, para luego disminuir hasta los 21 días, coincidiendo en general con lo reportado por Sann (26) en Francia (Tabla 6). Otros autores han reportado que la concentración de Ca presenta una significativa disminución después de la primera semana de lactación (4-7 días), hasta la leche transicional (10-14) días, incrementándose luego hacia la leche madura (30-45 días) (15). Lemons (25), encontró que no existe una variación significativa de la concentración de Ca durante las primeras 8 semanas de lactación, concordando con lo reportado por Gross (27). Los valores de las concentraciones promedios encontrados en este trabajo para las tres etapas de lactación estudiadas no presentan diferencias estadísticamente significativas con los valores reportados en Francia (26) y USA (27) en etapas similares.

En este estudio se encontró que la concentración de P aumenta desde el calostro hasta la leche transicional, para luego disminuir hasta a leche madura, coincidiendo estas tendencias con las reportadas por la bibliografía (15,26,28) como se muestra en la Tabla 7. Lemons (25) en USA, encontró que la concentración de P, no cambia durante el periodo de lactación durante las primeras 8 semanas después del parto. Los valores de la concentración de P encontrados en la leche de calostro, no presentan diferencias estadísticamente significativas con los valores reportados por Sann (26) y Gross (27) en Francia y USA, respectivamente, mientras que en la leche transicional y madura fueron significativamente mayor a los reportados por Lemons (25), Sann (26) Gross (27) en USA y Francia.

Las concentraciones promedios de Mg durante las tres etapas de lactación estudiadas, no variaron de la leche de calostro a la leche transicional, disminuyendo hasta la leche madura. Estos resultados difieren de la mayoría de los reportados (Tabla 8). Rajalaksmi (18) reportó que la concentración de Mg en leche materna comienza a disminuir desde el calostro (48 h-5 días) hasta leche madura de 1 mes. Sharda (16), encontró que existe una pequeña disminución desde los 2 días hasta 6-10 días, para permanecer más o menos constante hasta los 6 meses. Kirsey (21), reporta que la concentración de Mg, no cambia durante los periodos de lactación de 3 días a 1 año. Los valores promedios de las concentraciones encontradas no presentan diferencias estadísticamente significativas con las reportadas por Sann (26) y Gross (27) en Francia y USA, respectivamente, sin embargo son menores que los reportados por Sharda (16) en la India.

En general se observa que los cambios más marcados en la concentración de los oligoelementos estudiados en la leche materna suceden en la primera semana de lactación,

tendiendo a estabilizarse hacia la leche madura. La concentración de los elementos traza estudiados: zinc;hierro y cobre en leche en esta población de madres se mantienen dentro de los niveles considerados normales por Iyengar (20). Los valores de los oligoelementos calcio, fósforo y magnesio son comparables a los reportados por la bibliografía. Estos resultados sugieren que el estado nutricional de esta población de madres es adecuado para satisfacer las demandas del lactante en esta primera etapa de su vida, corroborado con los recién nacidos (Tabla 9) los cuales observaron un crecimiento normal durante estas tres semanas (9).

REFERENCIAS

1. Yoshinaga J, JZ Li, T Susuki, J Karita, M Abe, F Hitoshi, J Mishina & MMorita. Trace Elements in Human Transitory Milk. *Biol. Trace Elem Res* 31: 159-70, 1991.
2. Grossklaus, R I Knoechel-Shiffer. Effect of maternal diet on trace element and mineral composition of breast milk. En: *Composition and Physiological Properties of Human Milk*. J Schaub (Ed). Elsevier. Science Publishers B.V. 1985, p.33-45.
3. Picciano MF. Elements in Human Milk and Infant Formulas. En: *Trace Element in Nutrition of Children*. RK Chandra (Ed). Nestle Nutrition, Vevey/Raven Press 1985, p. 157-179.
4. Fomon SJ & LJ Filer. *Milk and Formulas*: En: *Infant Nutrition* 2da. Ed. Philadelphia WB Saunders.1974, p359-427.
5. Fransson, GB & B Lonnerdal. Distribution of Trace Elements and Minerals in Human and Cow's Milk *Pediatr Re* 17: 912-915. 1983.
6. Lonnerdal B. LR Woodhouse & C Glazier Compartmentalization and Quantitation of Protein in Human Milk. *J Nutr* 117: 1385-1395, 1987.
7. Susuki TK H Tamagawa, S Hirano, E Kobayashi, K Takahashi & N Shimojo. Changes in Element Concentration and Distribution in Breast-Milk Fractions of a Healthy Lactating Mother. *Biol Trace Elem Res* 28 109-121, 1991.
8. Burguera M, JL Burguera, AM Garaboto & OM Alarcón. Iron and Copper content of human milk at early stage of lactation in Venezuelan women. *Trace Elem Med* 5: 60-63, 1983.
9. Siciliano L, E. Dini, M Puig, I. Rodríguez, R Golding & A Itriago. Determinación de Zinc y Cobre en leche materna en una muestra de población de Caracas. *Arch Ven Puer Ped* 55:74-77, 1992.
10. Méndez Castellano H & M Méndez. Estratificación social y biológica humana. *Arch Ven Puer Ped* 49:93-104, 1986.
11. Carrión N, A Itriago, M Murillo, E Eljuri & A Fernández. Determination of Calcium, Phosphorus, Magnesium, Iron, Copper and Zinc in Maternal Milk by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. *J Anal At Spectrom* 9:205-207,1994.
12. Starographics. *Statistical Graphics System*. Copyright 1986, 1987 STSC.Inc.
13. Miller, JC & JN Miller. *Statistics for Analytical Chemistry*. Wiley, New York, 1985, p.56-57.
14. Zar JH *Biostatistical Analysis*. 2da. Ed. Prentice Hall, New Jersey, 1984. p,79-90.
15. Feeley RM, RR Eitenmiller, JB Jones & H Barnharts. Calcium, Phosphorus, and Magnesium Contents Human Milk During Early Lactation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2:262-267, 1987.
16. Sharda B, B Bhandari & LM Bhandari, Copper, Zinc and Magnesium content of breast of Indian women. *Trans Royal Soc Trop Med and Hyg* 77:201-203, 1983.
17. Casey CE, KM Hambidge & M Neville. Studies in human lactation: zinc, copper, manganese and chromium in human milk in the first month of lactation. *Am J Clin Nutr* 49:1193-1200,1985

18. Rajalakshmi K & SG Srikantia. Copper, Zinc and Magnesium content of breast milk of Indian women. *Am J Clin Nutri* 33:664-669, 1980.
19. Ohtake M, R Chiba, K Mochizuki & K Tapa. Zinc and Copper Concentrations in Human Milk and in Serum from Exclusively Breast-Fed Infants during the first 3 months of Life *Tohoku J Exp Med* 135:335-342,1981
20. Iyengar GV. Reference Values for the concentrations of As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, I, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb Se, and Zn in Selected Human Tissues and Body Fluids. *Biol Trace Elem Res* 12:263-295,1987
21. Kirksey A, JA Ernst, JL Roepke & L. TSai Ta. Influence of mineral and use contraceptives before pregnancy on the mineral content of human colostrum and of more mature milk. *Am J Clin Nutr* 32:30-39,1979.
22. Higashi A, T Ikeda, I Uehara & I Matsuda. Zinc and Copper Contents in Breast Milk of Japanese Women. *Tohoku J. Exp Med* 137: 41-46,1982.
23. Feeley RM, RR Eitenmiller, JB Jones & H Bandnhart. Copper, Iron, and Zinc contents of human milk at early stages of lactation. *Am J Clin Nutr* 37:443-448, 1983.
24. Vega L, E Batista E & C Meza. Manganeso, cobre, hierro y molibdeno en la secreción temprana de calostro humana. *Bol Med Hosp Infant Mexico* 44:86-91, 1987.
25. Lemons JA, L Moye, D Hall & M Simmons. Differences in the composition of preterm and term Human Milk during Early Lactation. *Pediatr Res* 13:113-117, 1982.
26. Sann L, F Bienvenu, C Lahet, J Bienvenu & M Bethenod. Comparison of the composition of breast milk from mothers of term and preterm infants *Acta Paediatr Scand* 70:115-116,1981.
27. Gross S J, RJ David, L. Bauman & RM Tomarelli. Nutritional composition of milk produced by mothers delivering preterm. *J. Pediatr* 96:641-644, 1980.

Recibido: 30-05-1995

Aceptado: 11-11-1996

Valores de zinc plasmático en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela

Daisy Amaya de C.¹, Roberto Urrieta², Negda M Gil³, Nelly C. Molano⁴, Ida Medrano⁴ y Haydée V. Castejón⁵

Instituto de Investigaciones Biológicas. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia

RESUMEN.- El objetivo del presente trabajo fue determinar la concentración plasmática de zinc en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela, con el fin de establecer el estado nutricional de este oligoelemento. Se estudiaron 159 niños (M:75;F:84) entre tres meses y ocho años, provenientes de familias de bajos ingresos, clasificándose nutricionalmente de acuerdo a criterios clínicos y antropométricos. La sangre se obtuvo por punción venosa, en ayunas, midiéndose el zinc plasmático por espectrofotometría de absorción atómica. Los niveles plasmáticos de zinc fueron inferiores a 75 µg/dl en el 38,36% de los niños. Según la evaluación nutricional, el 37,11% de la población estudiada era eutrófica, de ésta, el 33,89% mostró déficit de zinc. El resto de la población (62,89%) era desnutrida, de los cuales el 41% mostraba déficit de zinc. Al analizar por separado el grupo de niños con valores de zinc entre 75 y 80 µg/dl (zona crítica o a riesgo) el 18,65% de los eutróficos y el 10% de los desnutridos se ubicaron en este grupo; por lo consiguiente, más del 50% de la población infantil estudiada presentó niveles críticos o deficitarios de zinc plasmático. Se recomienda altamente iniciar estudios funcionales sobre el estado nutricional del zinc en la población infantil venezolana, en caso de ser deficitario, establecer programas de intervención nutricional con este oligoelemento, especialmente en la población infantil de los barrios marginales.

SUMMARY.- Zinc plasma values in an infantile low socioeconomic status population in Maracaibo, Venezuela.- The objective of the present work was to determine plasma zinc concentration in a children's population belonging to low income families in Maracaibo, Venezuela. One hundred fifty-nine children (M:75;F:84) aged 3 months to 8 years were studied by clinic, anthropometric and socio-economical parameters. Fasting peripheral venipuncture blood samples were obtained and analyzed for plasma zinc using atomic absorption spectrophotometry. Plasma zinc levels were low ($< 75 \mu\text{g/dl}$) in 38.36% of the children studied. In turn, 33.89% of the eutrophic group, and 41% of the malnourished group were zinc deficient. By analyzing separately the group of children in which plasma zinc levels ranged between 75-80 µg/dl (critical zone), it could be seen that 18.65% of eutrophic and 10% of malnourished children belonged to this group. Thus, over 50% of the total children's population studied had critical or deficient plasma zinc levels. Therefore, functional studies on nutritional status of zinc are recommended to the Venezuelan children population; in case of being evidently deficitary, it is necessary to establish immediate zinc supplementation nutritional programs; especially for children coming from low income families.

PALABRAS CLAVES: Zinc, Plasma, Pobreza, Malnutrición, Niños

INTRODUCCION

El zinc es un oligoelemento requerido para múltiples funciones biológicas como la síntesis de DNA, la división celular, la expresión genética (1-3); así como para la actividad de muchas enzimas (1,3-5) y en la inmunidad mediada por células (2-6).

El contenido de zinc en los alimentos es variable, siendo abundante en las carnes rojas, algunos mariscos y en el germen de algunos cereales; y en menor concentración, en los productos lácteos, tubérculos y hortalizas. Las proteínas de origen animal son buenas fuentes de zinc, mientras que en los vegetales, su concentración y biodisponibilidad es menor (7,8). Son varios los factores dietéticos que influyen sobre la biodisponibilidad de este oligoelemento (8); los aminoácidos cisteína, glicina y lisina y los quelantes naturales o sintéticos (citrato, EDTA) parecen favorecer dicha biodisponibilidad (9) mientras que las fibras, oxalatos, fitatos, los productos de la digestión de la caseína y algunos minerales como el cobre, hierro y calcio tienden a reducir su biodisponibilidad (7,10,11). Los cereales que contienen fibra, entre ellos el maíz y las legumbres, son las principales fuentes de fitato para el ser

humano. Los alimentos a base de maíz constituyen parte importante de la dieta diaria de los habitantes de México, Centro y Suramérica, en especial la de los estratos sociales más pobres. Solomons y col. (12) han reportado que en las poblaciones pobres de Latinoamérica, la inhibición de la retención del zinc puede llegar a ser muy severa por los fitatos contenidos en los alimentos que comúnmente consumen.

La primera evidencia clínica de deficiencia primaria de zinc en humanos fue reportada por Prasad y col. (13,14) y Halsted y col. (15) al estudiar una población de adolescentes y campesinos en Irán y Egipto. Las manifestaciones clínicas

1. Bioanalista. Docente Cátedra de Biología Celular, Esc. Med., Fac. de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo.
2. Ingeniero Químico. Laboratorio de Psiquiatría Biológica. Instituto de Investigaciones Biológicas. Universidad del Zulia. Maracaibo.
3. Docente Cátedra de Prácticas Profesionales Supervisadas en Nutrición Clínica. Esc. Nutrición, Fac. de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo.
4. Médico Pediatra. Servicio de Educación y Recuperación Nutricional del Instituto Nacional de Nutrición. Hospital Chiquinquirá. Maracaibo.
5. Médico-Investigadora. Coordinadora del Programa Desnutrición y Retardo Mental. Instituto de Investigaciones Biológicas. Fac. de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo

mas resaltantes de la deficiencia de zinc son: disminución del apetito, baja ganancia de peso, retardo en el crecimiento y en el desarrollo sexual, lesiones en piel y, en ocasiones, alteraciones de las funciones neuropsicológicas (1,8,13-17). Durante la gestación, tanto el feto como la madre son afectados por la deficiencia de zinc; reportándose un aumento acentuado de complicaciones obstétricas (8,18) con la correspondiente afectación del producto. Se conoce también que en una población infantil malnutrida, la susceptibilidad a las infecciones se incrementa significativamente por disminución de la competencia inmunológica en la cual el zinc juega un papel importante (2,6).

En Venezuela son escasos los estudios realizados para analizar este oligoelemento. En el año 1988, en el análisis de una población suburbana marginal del Estado Zulia, se detectó deficiencia de este oligoelemento en el 19,6% de la población, principalmente en el grupo etario entre 3 y 7 años (19); asimismo Oraa (20) reportó en 1991 un estudio sobre ingesta de zinc de la población, determinada por encuestas de consumo de alimentos, según estratos socioeconómicos, detectándose una deficiencia en la ingesta de este oligoelemento, especialmente en los estratos socioeconómicos IV y V. Por otro lado, Dini y col. (21) no encontraron deficiencia de zinc en un grupo de embarazadas venezolanas y sus recién nacidos, pertenecientes a los estratos III, IV y V; y Burguera y col. (22) han reportado valores normales de zinc en niños de otra población venezolana, Mérida. Sin embargo, el hecho de que Venezuela forme parte de los países de la Cultura del Maíz y sufra actualmente de una aguda crisis económica que incide en la disminución de la ingesta proteica en su población, con aumentos significativos de la desnutrición infantil, hace factible considerar que debe existir una mayor deficiencia en la ingesta diaria de zinc, con sus correspondientes consecuencias; de allí que el objetivo de la presente investigación es conocer el estado nutricional actual del zinc en una población infantil urbana en condiciones de marginalidad, en la ciudad de Maracaibo, Venezuela, utilizando como indicador bioquímico el análisis de su concentración en plasma.

MATERIAL Y METODO

De una muestra mayor de niños se seleccionaron en forma no aleatoria intencional 159 niños de ambos sexos (femeninos:84;masculinos:75) en edades comprendidas entre 3 meses y 8 años, pertenecientes a familias de bajos ingresos, residenciados en barrios marginales de la ciudad de Maracaibo. Las condiciones de la selección fueron la edad, la condición socioeconómica y estar libres de infecciones y cuadros inflamatorios. Los niños fueron examinados en varias instituciones hospitalarias públicas: Consulta de Control de niños sanos y de despistaje de desnutrición del Hospital Chiquinquirá, Hospital de Niños y Centro Médico Ambulatorio de Sabaneta y escolares de una escuela básica pública del barrio El Mamón, todos ubicados en la ciudad de Maracaibo, segunda en importancia en Venezuela. Dicha población fue

TABLA 1

Valores promedios de zinc plasmáticos en $\mu\text{g}/\text{dl}$ por grupo etáreo

Grupo	Edad(años)	n	$\bar{x} \pm \text{DE}$	Significancia
1	<1	40	79,06 \pm 19,13	NS
2	1-2,9	47	74,14 \pm 19,30	NS
3	3-4,9	29	80,46 \pm 19,92	NS
4	5-6,9	35	81,29 \pm 19,28	NS
5	7-8,9	8	83,85 \pm 11,10	NS

- Valores promedios \pm desviación estándar

- n = Número de muestras analizadas

- NS = No significativo

TABLA 2

Concentraciones plasmáticas de zinc ($\mu\text{g}/\text{dl}$) de una población infantil marginal de Maracaibo, de acuerdo a edad y sexo

Edad (Años)	Femenino		Masculino		Significancia
	n	$\bar{X} \pm \text{de}$	n	$\bar{X} \pm \text{DE}$	
<1	19	82,80 \pm 21,19	21	75,65 \pm 16,87	NS
1-2,9	24	73,51 \pm 20,05	23	74,81 \pm 18,90	NS
3-4,9	19	80,15 \pm 21,07	10	81,05 \pm 19,44	NS
5-6,9	18	81,44 \pm 23,49	17	81,14 \pm 14,27	NS
7-8,9	5	88,38 \pm 8,17	3	76,30 \pm 12,70	NS

- Valores promedios \pm desviación estándar

- n = Número de muestras analizadas

- NS = No se observaron diferencias significativas entre los sexos ni entre los grupos etáreos de igual sexo

clasificada en su condición socioeconómica en los estratos IV y V, de acuerdo al método de Graffar modificado por Mendez Castellano (23).

El diagnóstico nutricional fue realizado en base a la evaluación clínica y antropométrica por especialistas en Pediatría y Nutrición. Para la evaluación antropométrica se utilizaron los índices Peso, Talla, Edad y Sexo y la combinación de éstos, considerando para su estudio las gráficas de crecimiento elaboradas para Venezuela por el Instituto Nacional de Nutrición y como patrón de referencia, los valores de la OMS. De acuerdo al estado nutricional, los niños fueron clasificados en eutróficos y desnutridos.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción venosa en ayunas (5ml aprox.), entre las 7 - 10am, utilizando inyectadoras plásticas desechables libres de zinc. La precaución de extraer la sangre en ayunas evita falsos resultados, ya que se han reportado fluctuaciones en la concentración de zinc plasmático después de la ingestión de alimentos (24,25). Estas muestras, recogidas en tubos heparinizados, fueron centrifugadas a 1800 g por 10 minutos. Posteriormente el plasma fue transferido a tubos plásticos limpios y libres de zinc donde fue almacenado a -10°C hasta el momento de su análisis. Muestras hemolizadas fueron descartadas.

Los niveles plasmáticos de zinc se determinaron por

espectrofotometría de absorción atómica según el método descrito por Smith y col. (26); en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 3100 con llama de aire-acetileno a una longitud de onda de 213,8 nm. La medición de zinc requiere controlar al máximo los factores de contaminación con este oligoelemento, de allí que todo el material de vidrio y polietileno utilizado fue minuciosamente lavado, dejado en una solución de ácido nítrico al 20% toda la noche y enjuagado varias veces con agua desionizada.

Para el estudio estadístico de los datos se aplicó análisis de variancia y coeficiente de correlación para definir las posibles interrelaciones entre los diferentes grupos; así como también se aplicó el test "t" de Student buscando diferencias entre ellos y la prueba de Chi cuadrado con la corrección de Yates para el estudio de las deficiencias. Los resultados fueron expresados como promedios \pm desviación estándar y porcentajes.

RESULTADOS

Para analizar los resultados y definir los estados de déficit, se establecieron como valores normales de zinc plasmático los reportados por otros investigadores (19,24-27) 90 ± 15 $\mu\text{g/dl}$; valores inferiores a 75 $\mu\text{g/dl}$ fueron considerados como deficientes. Nosotros, en forma arbitraria, hemos establecido igualmente que aquellos valores ubicados en el rango entre 75 - 80 $\mu\text{g/dl}$ sean considerados como en zona crítica ya que cualquier stress de tipo infeccioso, inflamatorio o quirúrgico produciría el desbalance de estos valores. El valor promedio de zinc plasmático obtenido en la población infantil marginal estudiada (159 niños) fue de $79,05 \pm 20,54$ $\mu\text{g/dl}$. Este valor es ligeramente menor cuando se discrimina por sexo ($78,84 \pm 21,04$ en niñas y $78,38 \pm 20,63$ en niños) no existiendo diferencias significativas entre ellos. Al discriminar estos resultados, tomando en consideración la edad (Tabla 1), observamos que los niños entre 1 y 2,9 años mostraban los niveles mas bajos de zinc plasmático mientras que el grupo etario de 7-8,9 años presentaba los niveles mas altos. Sin embargo, esta diferencia no era estadísticamente significativa. Igualmente, no se detectaron diferencias significativas entre los sexos, ni entre los grupos etarios de igual sexo (Tabla 2).

Al tomar en consideración el estado nutricional de la población (Tabla 3), observamos que solo el 37,11% de la población infantil marginal estudiada fué catalogada como eutrófica y presentaba un valor promedio de zinc de $82,99 \pm 22,64$ $\mu\text{g/dl}$; mientras que el resto de la población mostró diferentes grados de desnutrición, con valores promedio de zinc de $76,46 \pm 18,99$. Sin embargo, al comparar dichos valores en ambos grupos, las diferencias observadas no fueron aparentemente significativas.

Cuando se consideró el estado nutricional del zinc (Tabla 4), el 38,36% de la población infantil estudiada mostró valores deficitarios de zinc plasmático (\bar{x} : $59,08$ $\mu\text{g/dl}$), déficit que se observó por igual en el sexo femenino como en el masculino (Tabla 5).

Si catalogamos el grado de deficiencia de zinc en la

TABLA 3

Valores promedio de zinc plasmático ($\mu\text{g/dl}$) en una población infantil marginal de Maracaibo de acuerdo a su estado nutricional

Población	Frecuencia (%)	X \pm DE
Eutrófica	37,11 (n=59)	82,99 \pm 22,64
Desnutrida	62,89 (n=100)	76,46 \pm 18,99
Total	100 (n=159)	79,05 \pm 20,54

-Valores promedios \pm desviación estándar

-n = Número de muestras analizadas

-Las diferencias entre los grupos no fueron significativas

TABLA 4

Distribución de la población infantil marginal de acuerdo a su estado nutricional y a su concentración de zinc plasmático

Estado Nutricional	Concentración plasmática de zinc ($\mu\text{g/dl}$)			
	<75		≥ 75	
	n	X \pm DE	n	X \pm DE
Eutroficos	20 (33,89%)	62,76 \pm 11,45	39 (66,11%)	91,28 \pm 14,99
Desnutridos	41 (41%)	57,29 \pm 10,63	59 (59%)	89,75 \pm 9,83
TOTAL	61 (38,36%)	59,08 \pm 11,11	98 (61,64%)	90,36 \pm 12,03

- Los valores en paréntesis representan la frecuencia en porcentaje

- n = Número de muestras analizadas

- Las diferencias entre los grupos no fueron significativas

población total de acuerdo a su concentración plasmática (Tabla 6), observamos que el 9,44% de dicha población (n:15) presenta niveles de zinc por debajo de 50 $\mu\text{g/dl}$ (deficiencia grave), once de los 15 niños eran desnutridos. Así mismo, el 10,06% de la población mostró deficiencia moderada, entre 50 y <60 $\mu\text{g/dl}$ (n:16). En este grupo sólo un niño fue clasificado como eutrófico, siendo esta deficiencia estadísticamente significativa. El 18,87% del total de niños mostró valores entre 60 y <75 $\mu\text{g/dl}$ (deficiencia leve) y el 13,20% entre 75 - 80 $\mu\text{g/dl}$, ubicado este último grupo en zona crítica o a riesgo. Esto significa que el 51,57% de la población infantil estudiada mostró niveles deficitarios o subóptimos de zinc plasmático, observado este déficit por igual entre los niños eutróficos (52,54%) y los desnutridos (51,00%). Es importante resaltar que ya el 6,78% de la población eutrófica y el 11% de la desnutrida mostraron niveles plasmáticos de zinc inferiores a 50 $\mu\text{g/dl}$, lo cual se considera extremadamente grave.

DISCUSION

El estado nutricional del zinc se determina generalmente por pruebas estáticas o funcionales. Entre las primeras, la determinación bioquímica de este mineral en fluidos biológicos como plasma, suero, orina, semen o en tejidos como piel, cabellos, leucocitos, plaquetas, etc, son los mas utilizados, siendo la determinación de zinc en plasma por medio de espectrofotometría de absorción atómica la mas ampliamente usada (1,13-15,24-28), por responder muy rápidamente a cambios en el contenido de zinc en la dieta, disminuyendo, al

reducir la ingesta de este mineral y aumentando, al efectuarse su suplementación (1,29). Sin embargo, se tiene conocimiento que el procedimiento más específico para establecer el estado nutricional del Zn en el organismo es su análisis en las células sanguíneas (30), procedimiento que es de difícil aplicación, especialmente en infantes, por requerirse 10 ml o más de sangre venosa (31). Como hemos ya reseñado, para una población infantil sana, la concentración promedio de zinc plasmático se ha establecido en $90 \pm 15 \mu\text{g/dl}$ (19,27). Se han reportado valores muy superiores en lactantes chilenos (28) y turcos (32). En Venezuela, no poseemos valores de referencia de este oligoelemento representativos de una amplia población infantil sana con excepción del trabajo reportado por Burguera y col. (22) en una muestra de 202 niños de la ciudad de Mérida. En la población infantil marginal estudiada por nosotros en el presente trabajo la concentración promedio de zinc plasmático fue de $79,05 \pm 20,54 \mu\text{g/dl}$, por debajo del valor promedio de referencia. La concentración promedio obtenida en el grupo de niños con deficiencia de zinc ($<75 \mu\text{g/dl}$) fue de $59,08 \pm 11,11$, mientras que en el grupo con niveles normales de zinc ($>75 \mu\text{g/dl}$) dicho valor promedio fue de $90,36 \pm 12,03$, comparable a los valores de referencia. El valor promedio de zinc plasmático obtenido en nuestro estudio ($79,05 \mu\text{g/dl}$), a pesar de estar dentro del rango considerado como normal, se encuentra en el límite inferior de éste, siendo más bajo que el reportado en otras publicaciones para poblaciones de iguales características, como es el caso de los valores reportados por Fávoro y Vennuchi (27) en un grupo de niños brasileños de condición marginal en los cuales el promedio fue de $88 \mu\text{g/dl}$ y los reportados por Estevez y col. (19) en una población infantil marginal suburbana de Maracaibo, con niveles de $87,97 \pm 3,88 \mu\text{g/dl}$. Una diferencia mucho mayor se observa si se comparan nuestros resultados con los reportados por Rodríguez y col. (28) en infantes chilenos con valores promedio de 135 ± 22 y $155 \pm 21 \mu\text{g/dl}$ para niños menores y mayores de 18 meses respectivamente.

Al analizar los niveles de zinc por grupo etáreo hemos notado que al subclasificar la población infantil de acuerdo al grupo etáreo la muestra se hizo poco representativa en algunos grupos por su escaso número. Sin embargo, se observó una tendencia a mostrar diferencias en las concentraciones de zinc plasmático, tendencia que puede ser corroborada al realizar un estudio con una mayor población infantil correspondiente al total de una comunidad marginal.

La disminución relativa de las concentraciones de zinc plasmático observada por nosotros en los grupos etáreos menores de 3 años, es comparable a la reportada por otros investigadores (19,28); esta disminución podría tener relación con el consumo de las reservas adquiridas durante las últimas semanas del embarazo (28). Estas reservas son complementadas en los primeros meses de vida cuando la alimentación se hace a base de leche materna. Sin embargo, en las poblaciones de bajos recursos, la leche materna no es suficiente para el aporte de zinc, como lo señala Walravens y col. (33); y la alimentación posterior a base de leche de vaca, es también insuficiente en cuanto al aporte de este

TABLA 5
Distribución de la población infantil marginal de acuerdo a su concentración de zinc plasmático

Niveles plasmáticos de zinc ($\mu\text{g/dl}$)	Femenino(%)	Masculino(%)	Total (%)	Significancia
<75	40,48 (n=34)	36 (n=27)	38,36 (n=61)	NS
>75	59,52 (n=50)	64 (n=48)	61,64(n=98)	NS
TOTAL	100 (n=84)	100 (n=75)	100 (n=159)	

- Los valores representan la frecuencia en porcentaje.

- n = Número de muestras analizadas

- NS = No significativo

TABLA 6
Relación entre el estado nutricional de la población infantil y el estado del zinc plasmático

Concentración plasmática de Zn ($\mu\text{g/dl}$)	Eutróficos	Desnutridos	Total
	Frecuencia (%)	Frecuencia (%)	
<50	6,78 (n=4)	11 (n=11)	9,44 (n=15)
50 - <60	1,69 (n=1)	15*(n=15)	10,06 (n=16)
60 - <75	25,42 (n=15)	15 (n=15)	18,87 (n=30)
75 - 80	18,65 (n=11)	10 (n=10)	13,20 (n=21)
>80	47,46 (n=28)	49 (n=49)	48,43 (n=77)
Total	100 (n=59)	100 (n=100)	100 (159)

- n = Número de muestras analizadas

- * = Significativo para una P <0,01

oligoelemento o su biodisponibilidad (9,34-36), provocando un descenso de las reservas de zinc que se acentúa aún más ante los requerimientos mayores exigidos por el crecimiento del niño en este período vital (11). En los grupos etáreos de mayor edad, observamos un relativo incremento de los niveles de zinc, lo cual ha sido reportado también por otros investigadores (19,22) y pudiera ser debido a la mayor variedad del aporte dietético, mejorando las reservas corporales y, por ende, sus concentraciones plasmáticas (28), o por cambios en su composición corporal.

No observamos diferencias significativas en la concentración plasmática de zinc con respecto al sexo, lo cual está acorde con lo reportado en la literatura para sangre (27,33) y cabello (37).

En nuestro estudio, más de la tercera parte de la población infantil eutrófica analizada presentó niveles deficitarios de zinc plasmático. Si consideramos, además, que los niveles comprendidos entre 75-80 $\mu\text{g/dl}$ son catalogados como en zona crítica, por las razones ya mencionadas, el porcentaje de niños eutróficos deficientes en zinc se elevaría a un 52,54%. Igualmente, más de la mitad de la población desnutrida (51%) muestra valores de zinc deficitarios o en zona crítica. En ambos grupos, eutróficos y desnutridos, este porcentaje es peligrosamente alto, si se tiene en cuenta la doble fragilidad de esta población, infantil y marginal. La deficiencia de zinc es causada por múltiples factores, entre ellos, el más frecuente, el régimen dietario (29,38). Como hemos ya referido, las altas

concentraciones de fibra o fitato presentes en la dieta interfieren con la absorción intestinal de este mineral (7,9,11); de allí que los resultados del presente estudio parecen afirmar la hipótesis de que en nuestra población, en especial en aquella perteneciente a los estratos sociales más desposeídos existe un déficit nutricional de zinc. Asimismo, la baja ingesta proteica en la población marginal constituye otro factor determinante de la deficiencia de zinc (39,40). Igualmente, la presencia de parasitosis tiende a disminuir su concentración por pérdidas intestinales (9).

La aparente prevalencia de deficiencia de zinc encontrada por nosotros es mayor a la reportada en otras poblaciones marginales de Venezuela (19) o del Brasil (27); en este último, la prevalencia de deficiencia de zinc fue solo de un 13%. Con respecto a la desnutrición, investigaciones realizadas por Weber y col. (41) en niños desnutridos han determinado que un 56% de tales niños muestran deficiencia en los niveles de zinc en pelo. Resultados similares han sido reportados por Atalay y col. (39) quienes asociaron las diferentes formas de desnutrición proteico-calórica con la deficiencia de zinc, señalando los problemas de malabsorción como agravantes de tal deficiencia.

Las deficiencias marginales de zinc en niños preescolares han sido asociadas con retardo en la curva de crecimiento, baja ganancia de peso y poco apetito (42,43). Por otro lado, se ha podido observar que niños con retardo en el crecimiento responden a una suplementación con zinc, aumentando su talla y mejorando su peso (33,43-45) de allí que aumentar el consumo dietético de zinc podría ser beneficioso para ciertos segmentos de la población, especialmente durante los períodos de rápido crecimiento. El aparente déficit de zinc plasmático en la población infantil marginal estudiada podría sugerir un estado nutricional deficitario de zinc en una comunidad marginal. Sin embargo, para establecer esta situación se necesitaría de una muestra representativa usando un proceso aleatorizado con base comunitaria que permita, además, aumentar la población infantil en los diferentes grupos etáricos, obteniéndose así cifras más confiables con respecto al zinc plasmático en las diferentes edades. Igualmente sería conveniente efectuar otras pruebas funcionales complementarias que corroboren el estado deficitario de este oligoelemento. En Venezuela, actualmente los indicadores económicos del país son negativos, con encarecimiento de la cesta básica de alimentos y sus consecuencias nutricionales, lo cual permite predecir que la deficiencia de zinc se acentuará, produciendo así un deterioro progresivo de la salud mental y corporal del niño venezolano. En vista de esta situación, consideramos prioritario sugerir a las instituciones responsables de la calidad de vida del venezolano, que se inicien estudios funcionales sobre el estado nutricional del zinc en la población infantil venezolana y en caso de ser evidentemente deficitario, establecer programas masivos de intervención nutricional con este oligoelemento, en especial, en los sectores más desposeídos de la población.

AGRADECIMIENTO

Deseamos agradecer al Instituto de Investigaciones Biológicas, en especial al Laboratorio de Psiquiatría Biológica, en cuyas instalaciones realizamos parte del trabajo experimental. Igualmente queremos manifestar nuestro agradecimiento al Dr. Carlos de la Cruz, del Laboratorio de Espectroscopía Molecular y Atómica de la Facultad de Ciencias, en cuyos equipos realizamos las mediciones espectroscópicas. Se le agradece también al CONICIT el apoyo financiero (F-137) que permitió la compra del Espectrómetro de Absorción Atómica. Debemos agradecer, también, a los profesores Gilbert Corzo y Jesús Estevez, por su valiosa colaboración en la parte estadística y al profesor Alan Castellano por el montaje y realización del presente manuscrito.

REFERENCIAS

1. Prasad, AS. Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *Am J Clin Nutr* 53:403-412, 1991.
2. Sherman, AR. Zinc, copper and iron nutrition and immunity. *J Nutr* 122(35):604-609, 1992.
3. Hambidge, KM. Zinc and diarrhea. *Acta Paediatr Suppl* 381:82-86, 1992.
4. Prasad, AS, D. Oberleas, P. Wolp & J.P. Horwitz. Studies on zinc deficiency: Changes in trace elements and enzyme activities in tissues of zinc-deficient rats. *J Clin Invest* 46:549-57, 1967.
5. Harris, DE. Copper as a cofactor and regulator of copper, zinc superoxide dismutase. *J Nutr* 122(35):636-640, 1992.
6. Schlesinger, L, M Arevalo, S Arredondo, M Diaz, B Lonnerdal & A Stekel. Effect of a zinc-fortified formula on immunocompetence and growth of malnourished infants. *Am J Clin Nutr* 56:491-8, 1992.
7. Gibson, R. Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 59:1223S-325S, 1994.
8. Sandstead, HH: Zinc deficiency. A public health problem? *Am J Dis Childr* 145:853-859, 1991.
9. Cousins, RJ & JM Hempe. Zinc. En: *Conocimientos Actuales Sobre Nutrición*. Organización Panamericana de la Salud. Inst. Inter. de Ciencias de la Vida. North America. 1991, p.289-300.
10. Mill, CF. Dietary interactions involving the trace elements. *Annual Rev Nutr* 5:173-93, 1985.
11. Milner, JA. Trace minerals in the nutrition of children. *J Pediatr* 117(2):5147-5155, 1990.
12. Solomons, NW, RA Jacob, O Pineda & F Viteri. Studies on the bioavailability of zinc in man, II: Absorption of zinc from organic and inorganic sources. *J Lab Clin Med* 94:335-343, 1979.
13. Prasad, AS, JA Halstead & M Nadimi. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geofagia. *Am J Med* 31:532-46, 1961.
14. Prasad, AS, A Miale, Z Farid & H Sandstead. Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hypogonadism and dwarfism. *J Lab Clin Med* 61:537-49, 1963.
15. Halstead, JA, HA Ronaghy & P Abadi. Zinc deficiency in man: The Shiraz experiment. *Am J Med* 53:277-84, 1972.
16. Dreosti, IE. Zinc in Brain Development and Function. En: *Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease: An Update*. AS Prasad(Ed). New York, Wiley-Liss. 1993, p.81-90.
17. Wallwork, JC & HH Sandstead. Zinc and Brain Function. En: *Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease: An Update*. AS Prasad(Ed). New York, Wiley-Liss. 1993, p.65-80.
18. Diez-Ewald, M, G Fernandez, E Bonilla, B Portillo, G Vizcaino &

- H Machado. Concentraciones séricas de ácido fólico y cinc en suero materno y cordón umbilical. Influencia en el desarrollo del embarazo y el parto y condiciones del recién nacido. *Invest Clin* 29(4):205-217, 1988.
19. Estévez, JL, L Chacín, E Bonilla y R Villalobos. Concentraciones séricas de cobre y cinc en una población suburbana del Estado Zulia (Venezuela). *Invest Clin* 29(3):97-109, 1988.
 20. Oraa, E. Fósforo y oligoelementos. Requerimientos y consumo en Venezuela. En: *La Nutrición ante la Salud y la Vida. IV Simposio de la Fundación Cavendes*. Caracas. Venezuela. Ediciones Cavendes. 1991, p.209-212.
 21. Dini, E, L Siciliano, M Puig, I Rodríguez, R Golding, A Fernandez, A Itriago, M Ranando & N Carrión. Zinc y cobre en embarazadas venezolanas y sus recién nacidos. *Annal Ven Nutr* 5:37-42, 1992.
 22. Burguera, JL, M Burguera & OM Alarcón. Blood levels of zinc, cobalt, cooper, iron and manganese in children from Mérida, Venezuela. *Trace Elem Med* 9(4):194-197, 1992.
 23. Mendez Castellano, H. Estratificación social. Método Graffar modificado para Venezuela. *Arch Venez Puer Ped* 49:93-104, 1986.
 24. Hambidge, KM, MJ Goodall, C Stall & J Pritts. Post-prandial and daily changes in plasma zinc. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 3:55-57, 1989.
 25. Wallock, LM, JC King, KM Hambidge, JE English-Westcott & J Pritts. Meal-induced changes in plasma, erythrocyte and urinary zinc concentrations in adult women. *Am J Clin Nutr* 58:695-701, 1993.
 26. Smith, JC, GP Butrimovitz & WC Purdy. Direct measurement of zinc in plasm by atomic absorption spectroscopy. *Clin Chem* 25:1487-91, 1979.
 27. Fávoro, RMD & H Vennucchi. Niveis plasmaticos de zinco e antropometria de crianças da periferia de centro urbano do Brasil. *Rev Saude Publ S. Paulo* 24(1):5-10, 1990.
 28. Rodríguez, A, G Soto, G Venegas, C Castillo & S Torres. Niveles de zinc y cobre en lactantes chilenos. *Arch Latinoamer Nutr* 34(1):26-33, 1984.
 29. Ruz, M, KR Cavan, WJ Bettger, L Thompson, M Berry & R Gibson. Development of a dietary model for the study of mild zinc deficiency in humans and evaluation of some biochemical and functional indices of zinc status. *Am J Clin Nutr* 53:1295-1303, 1991.
 30. Jones, RB, PW Keeling, PJ Hilton & RPH Thompson. The relationship between leukocyte and muscle zinc in health and disease. *Clin Sci* 60:237-239, 1981.
 31. Malvy, DJM, J Arnaud, B Burtshy, MJ Richard, A Favier, O Hout & O Amédée-Manesme. Reference values for serum zinc and selenium of french healthy children. *Eur J Epidemiol* 9(2):155-161, 1993.
 32. Tanzer, F & J Ozalp. Plasma and Leukocyte zinc and copper levels in patients with protein energy malnutrition. *J TropPediat* 34:306-308, 1988.
 33. Walravens, PA, A Chakar, R Mokni, J Denise & D Lemonnier. Zinc supplements in breastfed infants. *Lancet* 340:683- 685, 1992.
 34. Picciano, MF. Oligoelementos en la leche humana y las fórmulas lácteas. En: *Trace Elements in Nutrition of Children*. RKChandra(Ed) Nestle Nutrition Vevey, Raven Press, New York 1985, p.1-24.
 35. Krebs, NF, CJ Reidinger, AD Robertson & M Hambidge. Growth and intakes of energy and zinc in infants fed human milk. *J Pediatrics* 124(1):32-39, 1994.
 36. Johnson, P & G Evans. Relative zinc availability in human breast milk, infant formulas and cow's milk. *Am J Clin Nutr* 31:416, 1978.
 37. Sturaro, A, G Parvoli, L Doretti, G Allegri & C Costa. The influence of color, age and sex on the content of zinc, copper, nickel, manganese and lead in human hair. *Biol Trace Element Res* 40:1-8, 1994.
 38. Cavan, KR, RS Gibson, CF Grazioso, AM Isalgue, M Ruz & NW Solomons. Growth and body composition of periurban guatemalan children in relation to zinc status: A longitudinal zinc intervention trial. *Am J Clin Nutr* 57:344-52, 1993.
 39. Atalay, Y, A Arcasoy & M Kurkquoglu. Oral plasma zinc tolerance test in patients with protein energy malnutrition. *Archiv of Disease in Childhood* 64:1608-1611, 1989.
 40. Greger, GL & SM Snedeker. Effect of dietary protein and phosphorus levels on the utilization of zinc, copper and manganese by adult males. *J Nutr* 110:2243-2253, 1980.
 41. Weber, ChW, GW Nelson, M Vasquez & PB Pearson. Trace elements in the hair of healthy and malnourished children. *J Trop Ped* 36:230-234, 1990.
 42. Mokni, R, A Chakar, F Bleiberg-Daniel, JL Mahu, PA Walravens, P Chappuis, J Navarro & D Lemonnier. Decreased serum levels of nutritional biochemical indices in healthy children with marginally delayed physical growth. *Acta Paediat* 82:539-43, 1993.
 43. Walravens, PA, M Hambidge & DM Koepfer. Zinc supplementation in infants with a nutritional pattern of failure to thrive: A double-blind, controlled study. *Pediatrics* 83(4):532-538, 1989.
 44. Nakamura, T, S Nishiyama, Y Futagoishi, Y Matsuda & A Higashi. Mild to moderate zinc deficiency in short children: Effect of zinc supplementation on linear growth velocity. *J Pediatr* 123(1):65-69, 1993.
 45. Walravens, PA, NF Krebs & KM Hambidge. Linear growth of low-income preschool children receiving a zinc supplement. *Am J Clin Nutr* 38:195-201, 1983.

Recibido: 30-11-1995

Aceptado: 18-12-1996

Crecimiento del menor de un año con lactancia materna exclusiva en relación a la referencia OMS 1994.

Eduardo Atalah Samur¹, y Cecilia Castillo Lancellotti²

Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
Unidad de Nutrición, Ministerio de Salud, Chile.

RESUMEN. El objetivo fue analizar el crecimiento de niños chilenos de nivel socioeconómico medio-bajo alimentado de acuerdo a las actuales recomendaciones de la OMS y compararlo con la tabla recientemente propuesta por OMS para este grupo. Se utilizó la base de datos de la Encuesta Nacional de Lactancia de 1993, seleccionando niños de 1 a 12 meses \pm 5 días con lactancia materna exclusiva hasta los cuatro o seis meses y complementada con sólidos a partir de esa edad (939 varones y 940 mujeres). Se determinó el puntaje z de la relación peso/edad y talla/edad en relación al nuevo estándar y a NCHS/OMS. En cada mes se determinó el puntaje z promedio respecto a ambos estándares y su distribución en las siguientes categorías: $\leq -2,0$ DE; $-1,0$ a $-1,9$ DE; $0 \pm 0,9$ DE; $1,0$ a $1,9$ DE; y $\geq 2,0$ DE. El peso/edad fue inferior a la nueva norma al mes de edad ($-0,32$ DE) pero aumentó hasta alcanzar $1,29$ DE a los 10 meses. La talla edad promedio se ubicó bajo la referencia durante todo el período, aunque también mostró una tendencia a mejorar el segundo semestre ($F 6,01$ $p < 0,001$). El patrón de crecimiento observado fue más similar a NCHS que a OMS. La nueva tabla identifica una mayor proporción de niños con déficit nutricional el primer semestre de la vida que NCHS ($p < 0,001$), lo que puede contribuir, a introducir precozmente alimentos complementarios. La relativa homogeneidad de la población donde se obtuvo la tabla limita su aplicación en países en vías de desarrollo.

PALABRAS CLAVES: Lactancia materna exclusiva, crecimiento, estado nutricional, tabla de referencia.

SUMMARY. Growth of exclusively breast-fed Chilean infant in relation to new WHO Reference Charts. The aim of this study was to evaluate the growth of Chilean infants from medium-to-low socioeconomic status fed according to the current WHO guidelines. Growth pattern was compared to a recent reference chart published by WHO for infants, and the NCHS/WHO growth standards. The source of information was a nation-wide infant feeding survey conducted in 1993. From this database, infants aged 1-12 month \pm 5 days, with exclusive breast feeding until the fourth or sixth month were selected (939 males, 940 females). The weight-for-age z-score (WAZ), and the height-for-age z-score (HAZ) were calculated using both the NCHS/WHO and the new WHO reference growth charts. At each month of age, WHZ and HAZ results were grouped in the following categories: $\leq -2,0$; $-1,9$ to $-1,0$; $0 \pm 0,9$; $1,0$ to $1,9$; and $\geq 2,0$. Observed WAZ at the first month of age was below the new WHO reference chart ($-0,32$ z-score), increasing up to $1,29$ z-score at the tenth month. The HAZ results were lower the WHO reference chart throughout the period studied, although a trend to improved values was noted during the second semester ($F = 6,01$ $p < 0,001$). Growth pattern of the studied group was more similar to the NCHS/WHO chart than the new chart proposed by WHO. As a consequence, the new WHO reference chart identifies a higher proportion of the infants as having a subnormal nutritional status during the first semester of life, compared to those classified in this category by the NCHS/WHO standards ($p < 0,001$). This can be a factor for the introduction of complementary foods early in life. The relative homogeneity of the population used as source of the WHO reference chart may limit its use in developing countries.

KEY WORDS: Exclusive breast feeding; growth; nutritional status; reference growth charts.

INTRODUCCION.

En 1993 la Unidad de Nutrición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) organizó un Grupo de Trabajo con el objetivo de proponer recomendaciones para el uso apropiado de la antropometría en lactantes, desarrollar Tablas de referencia con indicadores antropométricos e identificar aspectos cruciales que requieran una mayor investigación. El grupo destacó dos áreas que no han sido suficientemente analizadas en informes previos: (a) la caracterización de los patrones de crecimiento en niños menores de un año alimentados según las actuales recomendaciones de la OMS;

y (b) la necesidad de desarrollar Tablas de referencia para lactantes según esos patrones alimentarios (1).

LA OMS recomienda actualmente la alimentación con leche materna exclusiva hasta los 4-6 meses de edad, sin el agregado de agua, otros líquidos o de alimentos sólidos. Recomienda continuar con la lactancia hasta los dos años o más, la que debe ser complementada con alimentos nutricionalmente adecuados y seguros (1).

El principal criterio para evaluar la calidad de la dieta y la

1. Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
2. Unidad de Nutrición, Ministerio de Salud, Chile.

adecuación del crecimiento del lactante es la antropometría. Sin embargo se ha demostrado que el crecimiento de niños con lactancia exclusiva que viven en condiciones ambientales favorables es menor que el esperado por las Tablas de NCHS/OMS, especialmente en la segunda mitad del período de lactancia exclusiva (2-4). Ello puede determinar que el personal de salud tome decisiones equivocadas, como introducir precozmente alimentos complementarios en niños con lactancia exclusiva, con el consiguiente riesgo sobre la morbilidad y estado nutricional (5-11).

Este hecho motivó al Grupo de Trabajo de la OMS a estudiar el crecimiento de niños alimentados al pecho que viven en condiciones ambientales favorables. Se analizaron los datos provenientes de 7 estudios longitudinales recientes realizados en Estados Unidos, Canadá, Dinamarca, Suecia, Finlandia y el Reino Unido que incluían un total de 453 niños con lactancia materna. De ellos fueron seleccionados 226 niños que recibieron lactancia exclusiva por un mínimo de 4 meses y una lactancia complementada por 12 meses o más. El 42, 38 y 17% de la muestra total recibió alimentos sólidos entre 4-5, 6-7 y 8-9 meses respectivamente. En base a este grupo se construyeron Tablas antropométricas por edad y sexo que fueron recientemente publicadas (12).

El presente trabajo tiene por objeto analizar el crecimiento de niños chilenos de nivel socioeconómico medio-bajo alimentados de acuerdo a las actuales recomendaciones de la OMS y compararlo con la Tabla de referencia recientemente propuesta para este grupo. Se comparó además el patrón de crecimiento en relación a las tablas de NCHS/OMS. Se espera contribuir a establecer la validez del nuevo estándar para países de ingresos medios o para comunidades con menor nivel de desarrollo que aquellas donde fue obtenido.

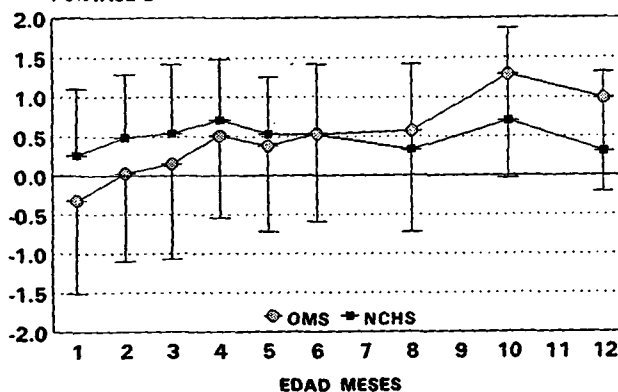
MATERIALES Y METODOS

Para el análisis se utilizó una base de datos proveniente de la Encuesta Nacional de Lactancia Materna realizada por el Ministerio de Salud en septiembre de 1993 (13). La encuesta tuvo representatividad nacional y fue aplicada en 102 consultorios urbanos pertenecientes a los 26 Servicios de Salud que integran el Sistema Nacional de Servicios de Salud (32% del total de establecimientos urbanos). El Sistema de Servicios de Salud atiende aproximadamente al 70% de la población menor de 6 años de todo el país. Desde un punto de vista socioeconómico los beneficiarios pertenecen fundamentalmente a los 3 quintiles de menores ingresos, siendo la cobertura cercana al 100% en el 20% más pobre. El nivel de escolaridad promedio de las madres que asisten a los centros de salud es de 8 años, cifra que presenta algunas variaciones regionales.

El tamaño de muestra fue definido con un nivel de confianza 95%, error de estimación por grupo de edad de 2,5%, corrección por respuestas incompletas (10%) y efecto de diseño de 1,5. Se definió de esta forma un tamaño muestral de 9912 niños (14), que se cumplió en un 94%. La muestra de cada Servicio de salud se estableció en forma proporcional a la población

GRAFICA 1

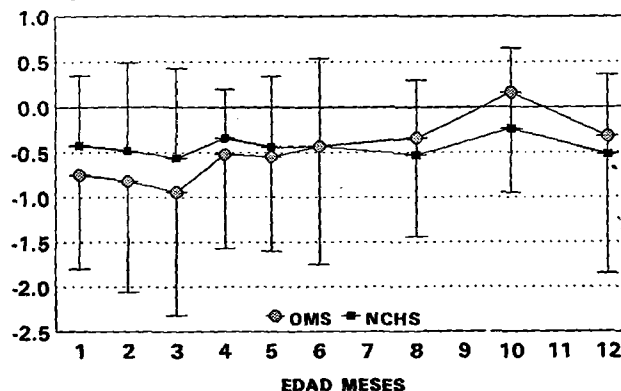
Peso/edad promedio en menores de 12 meses con lactancia exclusiva en relación a tablas OMS 94 y NCHS (Puntaje Z)*
PUNTAJE Z



* Incluye alimentos sólidos después de los 4-6 meses

GRAFICA 2

Talla/edad promedio en menores de 12 meses con lactancia exclusiva en relación a tablas OMS 94 y NCHS (Puntaje Z)*
PUNTAJE Z



* Incluye alimentos sólidos después de los 4-6 meses

bajo control. La encuesta fue aplicada por el personal de salud del establecimiento (enfermeras y nutricionistas) a todos los niños que asistieron por control de salud o por morbilidad en una semana determinada (septiembre de 1993) hasta completar el tamaño de muestra establecido.

La información alimentaria fue obtenida directamente de la madre o cuidadora del niño y se exploró el consumo de los siguientes alimentos durante el día anterior: leche materna, fórmulas lácteas, agua, jugos, otros líquidos, papillas y alimentos sólidos. De acuerdo al tipo de alimentación se establecieron cinco categorías: lactancia materna exclusiva, lactancia más sólidos, lactancia más fórmula y/o sólidos, fórmula exclusiva y fórmula más sólidos. Se obtuvo además el peso y la talla en forma estandarizada según las normas del Ministerio de Salud.

De esta base de datos se seleccionaron los niños que cumplían los siguientes requisitos: (a) edad entre 1 y 12 meses \pm 5 días de la edad respectiva; y (b) alimentación de acuerdo a la recomendación de la OMS: lactancia materna exclusiva

hasta los cuatro o seis meses y complementada con sólidos a partir de esas edades. Alrededor del 10% de los niños con lactancia exclusiva declararon haber recibido agua el día anterior, los que fueron también incorporados al análisis.

Se excluyeron del análisis las edades en que el tamaño de muestra era inferior a 25 niños (7, 9 y 11 meses). La muestra quedó formada por 1.879 niños (939 varones, 940 mujeres) con la siguiente distribución por edad: 1 mes = 405; 2 meses = 420; 3 meses = 261; 4 meses = 303; 5 meses = 133; 6 meses = 195; 8 meses = 87; 10 meses = 45; y 12 meses = 30.

A partir de los valores antropométricos se determinó el puntaje z de la relación peso/edad y talla/edad respecto al nuevo estándar propuesto por OMS para niños con lactancia exclusiva (12). El mismo análisis se hizo en relación a las tablas NCHS/OMS. El puntaje z se calculó según la siguiente fórmula: (valor observado - valor de referencia) / desviación estándar para la edad y sexo. En cada mes se determinó el puntaje z promedio respecto a ambos estándares y su distribución en las siguientes categorías: $\leq -2,0$ DE; $-1,0$ a $-1,9$ DE; $0 \pm 0,9$ DE; $1,0$ a $1,9$ DE; y $\geq 2,0$ DE.

Para el procesamiento de los datos se utilizaron los programas ANTHRO y STATA. En el análisis estadístico se usó análisis de varianza y prueba de chi cuadrado, considerándose estadísticamente significativas diferencias con un valor de $P < 0,05$ (15).

RESULTADOS.

La Gráfica 1 presenta el promedio del peso para la edad (puntaje z) respecto a las dos tablas analizadas. La muestra estudiada presenta un valor negativo al mes de edad en relación a la nueva tabla OMS, pero aumenta gradualmente hasta ubicarse una DE por encima de la referencia a los 10 meses de vida. La comparación con NCHS demuestra un peso promedio mayor que la referencia durante todo el período estudiado (alrededor de 0,5 DE).

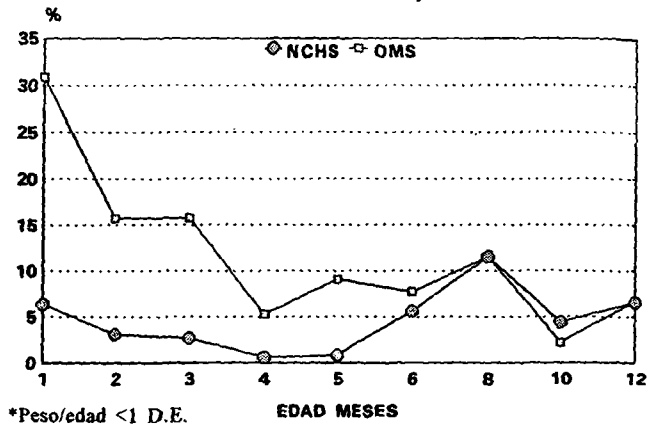
La talla tiene un comportamiento diferente al peso (Gráfica 2), con valores negativos respecto a ambos estándares desde el nacimiento hasta el año de edad. En comparación con el estándar OMS se observa un déficit importante el primer trimestre de vida, para acercarse a la norma al final del primer año. Cuando se compara el crecimiento con la tabla NCHS se observa un valor negativo pero relativamente similar durante todo el período analizado (- 0,5 DE).

El estado nutricional según el peso para la edad se presenta en la Tabla 1. En los menores de 6 meses la proporción en cada categoría se acerca bastante a la distribución normal al comparar con OMS, con una prevalencia algo mayor de lo esperado en ambos extremos de la curva. Con NCHS la distribución está fuertemente desplazada hacia la derecha, encontrándose diferencias significativas entre ambos criterios ($p < 0,0001$). En el segundo semestre de la vida la distribución está desplazada a la derecha en relación a ambas tablas, sin que se observen diferencias significativas entre ellas.

El mismo análisis en relación a talla/edad se presenta en la

GRAFICA 3

Prevalencia de déficit de peso/edad con lactancia materna exclusiva en relación a tablas OMS 94 y NCHS *



GRAFICA 4

Prevalencia de déficit de talla/edad con lactancia materna exclusiva en relación a tablas OMS 94 y NCHS *

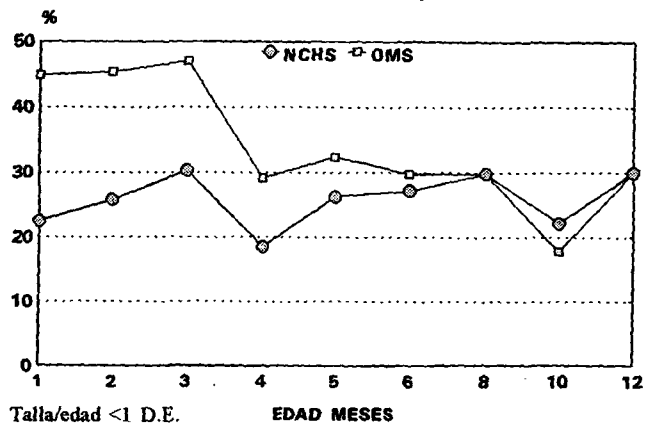


Tabla 2. En el primer semestre la distribución está francamente desplazada a la izquierda al comparar con OMS, con una proporción significativamente mayor de déficit en relación a lo esperado en una distribución normal. En relación a NCHS existe también un desplazamiento de los valores hacia el déficit, aunque en menor grado. En el segundo semestre mejora la distribución en relación a OMS, sin alcanzar la normalidad y se produce un leve deterioro al utilizar NCHS. En ambos períodos las diferencias de clasificación son estadísticamente significativas.

Finalmente se compara la prevalencia de peso/edad bajo una DE en cada mes analizado en relación a ambos estándares (Gráfica 3). Destaca en los primeros meses una prevalencia de déficit por peso/edad según OMS superior a lo observado con NCHS. Después de los 6 meses las prevalencias son similares con ambos estándares. La prevalencia de déficit de talla/edad según OMS es muy superior a lo esperado en la distribución normal en casi todo el período, pero con una tendencia a disminuir durante el segundo semestre. La

proporción de déficit con respecto a NCHS también supera lo esperado, pero se mantiene más o menos estable en el período estudiado (Gráfica 4).

DISCUSION

Los resultados demuestran que el lactante chileno de nivel socioeconómico medio-bajo, alimentado con lactancia materna según las recomendaciones OMS presenta desde el primer mes de vida un peso superior a las tablas NCHS. Ello reafirma el hecho conocido que la velocidad de crecimiento de los niños con lactancia materna exclusiva es superior a la observada en niños con fórmula los primeros meses de la vida. El mayor peso se mantuvo también el segundo semestre, a diferencia de otros estudios que demuestran una declinación del ritmo de crecimiento en esta etapa (3,4). Aparentemente una adecuada complementación de la lactancia con alimentos sólidos permite mantener patrones de crecimiento similares a los de los niños con fórmula en este periodo.

La mayor sorpresa fue el comportamiento en relación a la tabla OMS obtenida en niños con lactancia exclusiva. La tabla propuesta representa probablemente las condiciones ideales: mujeres bien nutridas de países desarrollados, con buena disposición a amamantar a sus hijos, con posibilidades de entregar una adecuada alimentación complementaria y con bajo nivel de exposición a las infecciones de la infancia que limitan el crecimiento. En todo el período estudiado los lactantes chilenos presentaron un peso superior a la referencia, a excepción de los dos primeros meses de vida. Las diferencias de peso entre los dos grupos se fueron acentuando hacia el final del primer año, hasta superar en cerca de 800 gramos al grupo de referencia. Aunque los datos nuestros no permiten establecer velocidad de crecimiento por ser un estudio transversal, la diferencia de peso entre el mes 1 y 12 fue de 6.130 y 5.590 gramos en hombres y mujeres respectivamente, cifra que supera en 1.090 y 940 gramos el incremento de la tabla OMS en el mismo período de tiempo.

Es difícil interpretar este mayor incremento de peso en los niños de la muestra. Una probabilidad estaría dada por diferencias en el volumen y/o calidad de la leche materna. Sin embargo las mayores diferencias se producen en el segundo semestre, cuando se introduce la alimentación no láctea. En Chile el Sistema Nacional de Servicios de Salud tiene normas alimentarias precisas, que estimulan la preparación de papillas con una densidad energética cercana a 1 kcal por gramo (verduras, cereales, carne y aceite). A esa edad se sugiere el aporte de volúmenes cercanos a los 200 gramos y el agregado de postres con un moderado aporte energético (frutas). Ello podría explicar el mayor incremento de peso observado en niños chilenos durante el segundo semestre de la vida.

Los datos demuestran también que la longitud del niño chileno es menor respecto a NCHS y a la nueva referencia OMS desde el nacimiento. Al mes de edad la diferencia con OMS es de 1,2 cms, aunque se reduce a 0,8 cms al final de año. Ello indica que el incremento de talla en el período es un poco

TABLA 1

Distribución del peso-edad en relación al estándar OMS y NCHS

Peso/edad Puntaje Z	OMS		NCHS	
	n	%	n	%
Menores de 6 meses				
<=-2,0	51	3,4	5	0,3
-1,0 a -1,9	209	13,8	44	2,9
0 ± 0,9	962	63,5	1097	72,4
1,0 a 1,9	209	13,9	298	19,7
>=2,0	84	5,4	71	4,7
Total	1515	100,0	1515	100,0
Chi2 170,96 p= <0,000				
6 a 12 meses				
<=-2,0	3	0,9	1	0,3
-1,0 a -1,9	25	7,1	24	6,8
0 ± 0,9	205	57,9	234	66,1
1,0 a 1,9	78	22,1	69	19,5
>=2,0	43	12,1	26	7,3
Total	354	100,0	354	100,0

Chi2 7,68 p= N.S.

TABLA 2

Distribución de talla-edad en relación al estándar OMS y NCHS

Talla/edad Puntaje Z	OMS		NCHS	
	n	%	n	%
Menores de 6 meses				
<=-2,0	189	12,6	52	3,4
-1,0 a -1,9	438	29,1	299	19,9
0 ± 0,9	780	51,9	1088	72,4
1,0 a 1,9	81	5,4	57	3,8
>=2,0	15	1,0	7	0,5
Total	1503	100,0	1503	100,0
X ² 161,96 p= 0,000				
6 a 11 meses				
<=-2,0	23	6,5	12	3,4
-1,0 a 1,9	78	22,0	86	24,3
0 ± 0,9	209	59,1	242	68,4
1,0 a 2,0	35	9,9	12	3,4
>2,0	9	2,5	2	0,5
Total	354	100,0	354	100,0

X² 21,97 p=0,0005

superior a la norma, lo que se refleja en la tendencia a mejorar el puntaje z. Es poco probable que la menor talla observada tenga una causa nutricional, considerando el peso promedio de nacimiento (alrededor de 3.300 gramos), la alimentación con lactancia materna exclusiva y el incremento de peso superior a la norma. La menor talla de nacimiento podría ser en parte genética, aunque también puede estar asociada a la baja estatura promedio de la mujer chilena de ese nivel socioeconómico (1,55 m).

La proporción de niños en riesgo o déficit nutricional el primer semestre de la vida es significativamente mayor con

OMS que con NCHS. Ello se explica por un mayor nivel de exigencia de la primera tabla (300 gramos de diferencia a los 3 meses), pero también por una D.E. menor. Así por ejemplo en niños de 3 meses de edad una DE representa el 10 y el 16% del peso promedio según la tabla OMS y NCHS respectivamente, lo que determina un rango más estrecho para la normalidad con la primera de ellas. El bajo nivel de dispersión de los datos OMS se explican por ser una población aparentemente homogénea, lo que no refleja necesariamente la variabilidad individual en poblaciones no seleccionadas. Este hecho es importante porque la alta proporción de niños en aparente déficit nutricional en los primeros meses de la vida puede inducir al equipo de salud a interrumpir una lactancia materna exitosa.

Llama la atención en nuestro estudio la alta proporción de niños con lactancia exclusiva. Una baja fracción de las madres informó que el niño había recibido agua el día anterior, situación que difiere significativamente de las prácticas de alimentación observadas anteriormente en el país. Ello podría ser explicado por la constante preocupación del Ministerio de Salud por fomentar la lactancia según las recomendaciones OMS (6,16-18), aunque tampoco se puede descartar un subregistro, dado que las madres reconocen que el equipo de salud desincentiva esa práctica. En caso que las lactancias exclusivas de este estudio fueran en realidad lactancias predominantes según la definición de la OMS, creemos que ello no afecta la interpretación de los resultados.

Se puede concluir que los niños estudiados tienen un patrón de crecimiento diferente al derivado de la tabla OMS, especialmente el segundo semestre de la vida. Curiosamente el comportamiento de este grupo se asemeja más al patrón NCHS, aunque el peso es superior y la talla inferior. La nueva tabla sobrestima la prevalencia de déficit nutricional, con el consiguiente riesgo de interrupción de la lactancia. La aparente homogeneidad étnica de la población donde se obtuvo la tabla sugiere la necesidad de construir una nueva tabla en niños alimentados según las recomendaciones OMS, que incluya población de buen nivel socioeconómico perteneciente a diferentes grupos raciales.

REFERENCIAS

1. WHO Working Group on Infant Growth. An evaluation of infant growth: the use and interpretation of anthropometry in infants. *Bulletin of the World Health Organization* 1995; 73 (2) 165-174.
2. WHO Working Group. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. *Bulletin of the World Health Organization* 1986; 64: 929-941.
3. Salmenpera L, Perheentupa J, Siimes MA. Exclusively breast-fed healthy infants grow slower than reference infants. *Pediatr Res* 1985; 19: 307-312.
4. Dewey K, Heinig J, Nommsen LA, Peerson J, Lonnerdal B. Growth of breast-fed and formula-fed infants from 0 to 18 months: the DARLING study. *Pediatrics* 1992; 1992: 1035-1041.
5. Wray JD. Breast-feeding: and international and historical review. In Falkner F: *Infant and child nutrition worldwide. Issues and perspectives*. CRC Press, Boston 1991. Page 61-116.
6. República de Chile. Ministerio de Salud. *Lactancia Materna: contenidos técnicos para profesionales de salud*. Editorial Printer, Santiago, Chile 1995.
7. Black RE, López de Romaña G, Brown KH, Bravo N, Grados O, and Kanashiro HC. Incidence and etiology of infantile diarrhea and major routes of transmission in Huascar, Perú. *Am J of Epidemiology* 1989; 129: 785-797.
8. Lopez I, Cabiol C, Ravero R. Lactancia materna, peso, diarrea, y desnutrición en el primer año de vida. *Bol Of San Panam* 1983; 95(3): 271-81.
9. Rubin D, Leventhal J, Krasinikoff P et al. Relationship between infant feeding and infectious illness: a prospective study of infant during the first year of life. *Pediatrics* 1990; 85:464-71.
10. Howie PW, Forsyth JS, Ogston SA, Clark A, Florey Ch. Protective effect of breast feeding against infection. *BMJ* 1990; Vol 300: 11-16.
11. Atalah E, Alvarado R, Díaz S y Rivero S. Lactancia absoluta, crecimiento y morbilidad en lactantes de bajo nivel socioeconómico. *Rev Chil Pediatr* 1994; 65: 331-337.
12. WHO Working Group on Infant Growth. An evaluation of infant growth. Nutrition Unit, World Health Organization, Geneva, 1994.
13. Castillo C, Atalah E, Riumalló, Castro R. Lactancia natural y estado nutricional del lactante chileno. *Bol Oficina Sanit Panam* 1995; 119(6):494-502.
14. Kish F, Leslie E. *Survey Sampling*. John Wiley & Sons, New York, USA, 1967.
15. Snedecor G. and Cochran W. *Statistical methods*. The Iowa State University Press, 6th Ed. Ames, Iowa, 1972.
16. República de Chile. Metas y líneas de acción en favor de la infancia. *Compromisos con los niños de Chile para la década*. Santiago, Chile 1992.
17. Castillo C, Atalah E, Castro R. Alimentación del menor de 18 meses: relación con el estado nutricional. *Rev Chil Pediatr* 1996; 67: 22-28.
18. Alvarado R, Atalah E, Díaz S, Rivero S, Labbé M, Escudero Y. Evaluación de un programa de fomento de lactancia materna con participación comunitaria. *Rev Chil Pediatr* 1994; 65: 166-170.

Recibido: 23-07-1996

Aceptado: 11-03-1997

Effect of different dietary levels of vitamin E on lipid peroxidation in rats

Helio Vannucchi, Alceu Afonso Jordão Junior, Antonio Carlos G. Iglesias, Márcia Varella Morandi & Paula Garcia Chiarello.

Division of Clinical Nutrition, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, 14049 - 900, Ribeirão Preto - SP, Brazil.

SUMMARY.- The regulation of normal oxidative balance include the maintenance of adequate levels of dietary antioxidants such as vitamin E. The objective of this investigation was to study the effect of three different dietary levels of vitamin E (normal, supplemented 20 times higher and deficient) on plasma and liver lipid peroxidation, assayed by determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and vitamin E in plasma and liver and hepatic reduced glutathione. Administration of dietary vitamin E caused a dose-dependent increase in liver and plasma concentration of this vitamin to 42.11 µg/g liver and 29.52 µmol/l respectively, in the supplemented group, and a low concentration of TBARS, 0.67 nmol/mg protein, in liver. The group receiving the diet without vitamin E showed high values of hepatic TBARS, 2.95 nmol/mg protein, and low values of reduced glutathione and reduced concentration of hepatic and plasma vitamin E (1.75 µg/g liver and 3.67 µmol/l, respectively). In conclusion, the vitamin E deficiency alone induces the liver lipid peroxidation in rats, and maintenance of adequate or higher vitamin E levels acts as a protective factor against free radical generation.

RESUMEN: Efectos de diferentes niveles dietéticos de vitamina E en la peroxidación lipídica de ratas.- La regulación del balance oxidativo normal incluye mantener adecuados niveles dietéticos de antioxidantes, como la vitamina E. Esta investigación tuvo por objetivo analizar el efecto de tres cantidades diferentes de vitamina E en la dieta: normal, veinte veces mayor y de deficiencia, en la peroxidación lipídica en plasma e hígado, obtenidas por la determinación de las sustancias ácido reactivas de los tiobarbitúricos (TBARS), vitamina E en el plasma, hígado y glutatión hepático reducido. La administración de diferentes niveles dietéticos de vitamina E por un período de diez semanas causaron un incremento dosis-dependiente en el hígado y plasma de esta vitamina de 42.11 µg/g y 29.52 µmol/l, respectivamente. El grupo con suplementación tiene baja concentración de TBARS, 0.67 nmol/mg de proteína en el hígado. El grupo que recibió dieta sin vitamina E presentó valores hepáticos superiores de TBARS, 2.95 nmol/mg de proteína y bajos valores de glutatión reducido y baja concentración de vitamina E en el hígado y plasma (1.75 µg/g y 3.67 µmol/l, respectivamente). Concluyendo, la deficiencia sola de vitamina E induce la peroxidación lipídica hepática en ratas y niveles adecuados o altos de esta vitamina actúan como factores protectores contra la producción de radicales libres.

INTRODUCTION

Adequate levels of nutritional antioxidants such as vitamin E are an essential factor in health maintenance, having an important influence on several processes such as drug metabolism. In human and animal diets the main forms of vitamin E are α -tocopherol and γ -tocopherol, from natural sources. The most biopotent form of this vitamin is R,R,R α -tocopherol (1). Vitamin E protects against free radical generation in a system that involves ascorbic acid and glutathione. Thus, nutritional adequacy of vitamin E and vitamin C is essential, controlling the membrane damage initiated by free radicals (2,3). Oxidative damage caused by reactive oxygen species, referred to as «oxidative stress», reflects a shift in the prooxidant-antioxidant balance, in favor of the prooxidant process. Aging and some diseases such as diabetes, atherosclerosis, and cancer appear to involve reactive oxygen species (4,5,6). Vitamin E acts in this process as the major lipid soluble antioxidant responsible for protecting the polyunsaturated fatty acids in membranes against lipid

peroxidation, acting as an efficient scavenger of hydroperoxyl radicals in biological systems (7,8). Animal experiments and human epidemiological studies suggest that vitamin E may reduce the risk of cancer, probably due to its antioxidant properties. The objective of this study was to examine the effect of different dietary levels of vitamin E (normal, supplemented 20 times higher and deficient) on biochemical indicators of lipid peroxidation

MATERIAL AND METHODS

Animals. Male Wistar rats from the colony of the Faculty of Medicine-USP, Ribeirão Preto Brazil, were used at approximately 60 g of initial body weight. Animals were randomly divided into three groups of six animals each: the first group (control) was kept on a basal diet with normal recommended levels of vitamin E for rodent laboratory animals (9), the second group (supplemented) received a basal diet to which vitamin E was added in an amount 20 times higher the recommended level and the third group (deficient) received a diet containing no vitamin E in a vitamin mix. All nutrients

except vitamin E in the experimental diet were adequate for optimum animal growth (9). Animals were maintained under standardized conditions of light (8:00 am to 8:00 pm), humidity and temperature (22°C) and given diets and water *ad libitum* for a period of ten weeks. At the end of the experiment the animals were killed by heart puncture. Blood was collected in a heparinized syringe, and plasma was obtained after centrifugation at 1.000g for 10 min. Immediately after sacrifice the livers were removed, washed in saline, weighed and frozen in liquid nitrogen and stored at 70° C until biochemical analysis.

Biochemical analysis. Lipid peroxidation is measured as thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) concentration in plasma and liver of rats. Plasma TBARS were measured by the method of Buege and Aust (10) and liver TBARS by the method of Uchiyaa and Mihara (11). Plasma and liver vitamin A and vitamin E were determined by the HPLC method (12). HPLC separations were performed on a 5- μ m Shimpack C-18 column (6.0 mm x 15 cm) preceded by a guard C-18 column (4.6 mm x 1 cm) with a mobile phase of acetonitrile: dichloromethane: methanol (70:20:10) at a flow rate of 2 ml/min. Retinol was detected at 325 nm and vitamin E at 292 nm in a photodiode array UV/VIS detector. The concentration of vitamins was calculated from peak area responses using a standard curve prepared by chromatography of known amounts of pure vitamins. Reduced glutathione was measured in the liver samples by a modification of the fluorimetric method of Hu (13). Protein concentration was determined by the method of Lowry et al. (14) and albumin by the bromocresol green method (15).

Statistical analysis. Comparison of group means were done by ANOVA and regression analysis was performed among the parameters obtained in this study (16).

RESULTS

The effect of ten weeks period of experimental diet on plasma and liver vitamin A and vitamin E in rats is shown in a Table 1. Dietary different levels of vitamin E had no significant effect on level of plasma retinol but liver vitamin A were significantly higher in a control group, compared with rats fed supplemented and deficient diets. Plasma vitamin E concentration differed among groups with supplemented rats, reaching higher values compared with others groups and the deficient group showing the lowest value. A significantly higher accumulation of α -tocopherol was observed in the liver of vitamin E supplemented group, whereas control and deficient group showed no difference in a liver α -tocopherol concentration. Plasma lipid hydroperoxide formation as measured by TBARS did not differ significantly between the experimental groups (Table 2); however, hepatic peroxide levels were higher in the deficient group compared with other two groups. Plasma albumin and reduced glutathione levels were similar in all groups (Table 3). The different levels of dietary vitamin did not cause any significant change in a final body

weight and the average food intake per day did not vary among the three experimental groups (data not show). The correlation coefficients among the parameters obtained in this study are presented in Table 4.

DISCUSSION

Regulation of the normal prooxidant-antioxidant state includes the maintenance of adequate levels of antioxidants and the localization of these compounds and enzymes involved in antioxidative process. An adequate diet supplying the dietary levels of antioxidants as vitamins E and C, β -carotene and others micronutrients is an essential factor. The present data show that different levels of vitamin E content in the diet lead to different vitamin E concentration in plasma and liver tissue. Dietary vitamin E deficiency causes a dramatic depletion of a α -tocopherol in plasma, and lower hepatic value. In contrast the supplemented group had higher levels of α -

TABLE 1
Plasma and liver levels of vitamin A and vitamin E in rats submitted to different dietetic levels of vitamin E

Diet	Plasma vitamin A μ mol/l	Liver vitamin A μ g/g of tissue
Normal	0.71 \pm 0.39 A	1.05 \pm 0.44 B
Supplemented	0.78 \pm 0.34 A	0.52 \pm 0.23 A
Deficient	1.19 \pm 0.58 A	0.63 \pm 0.29 A

Diet	Plasma vitamin E μ mol/l	Liver vitamin E μ g/g of tissue
Normal	20.78 \pm 2.49 B	8.35 \pm 6.17 A
Supplemented	29.52 \pm 4.26 C	42.11 \pm 12.42B
Deficient	3.67 \pm 1.36 A	1.75 \pm 1.16 A

Mean \pm SD of six rats per group. Means in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$) as assessed by ANOVA

TABLE 2
Effect of diet on levels of plasma and liver TBARS

Diet	Plasma TBARS μ mol/l	Liver TBARS nmol/mg protein
Normal	1,44 \pm 0,12 B	0,54 \pm 0,06 A
Supplemented	1,09 \pm 0,10 A	0,67 \pm 0,06 A
Deficient	1,24 \pm 0,17 A	2,95 \pm 0,27 B

Mean \pm SD of six rats per group. Means in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$) as assessed by ANOVA test

TABLE 3
Reduced glutathione and albumin in plasma of rats submitted to different dietary levels of vitamin E

Diet	Reduced Glutathione μ g/g	Albumin g/100ml
Normal	1396.9 \pm 143.43 A	3.79 \pm 0.11 A
Supplemented	1427.3 \pm 319.91 A	3.55 \pm 0.07 A
Deficient	1146.8 \pm 252.16 A	3.49 \pm 0.30 A

Mean \pm SD of six rats per group. No significant differences ($p < 0.05$) as assessed by ANOVA test.

TABLE 4
Regression analysis and correlation coefficients among parameters assessed in this study

	PR	LR	PT	LT	PTB	LTB	ALB	GSH
Plasma Retinol (PR)	1.00	-0.28	-0.44	-0.26	0.26	0.43	-0.61*	-0.038
Liver Retinol (LR)		1.00	-0.28	-0.039	0.35	0.21	0.32	0.31
Plasma Tocopherol (PT)			1.00	0.76*	-0.25	-0.89*	0.32	0.40
Liver Tocopherol (LT)				1.00	-0.59*	-0.53*	-0.09	0.33
Plasma TBARS (PTB)					1.00	-0.11	0.04	-0.13
Liver TBARS (LTB)						1.00	-0.46	-0.51*
Albumin (ALB)							1.00	0.30
Glutathione (GSH)								1.00

* $p < 0.05$

tocopherol in plasma and liver. The liver is the one of the major organs that store vitamin E and the concentration obtained in this study correlates well with the plasma values. The liver retinol level also is affected by level of vitamin E in diet, with the control group showing more accumulation of vitamin A. A higher TBARS concentration in liver was found in this study, revealing that vitamin E alone may be responsible for elevation of malondialdehyde in this organ. Table 4 shows a highly negative correlation ($r = -0.89$, $p < 0.05$) between values of hepatic TBARS and plasma vitamin E. Vitamin E levels in plasma of control and supplemented rats correspond to similar values of hepatic TBARS, however the low level of plasma vitamin E in a deficient animals causes a significant increase on hepatic peroxide. In this study the value of circulating vitamin E had a decisive influence on production of lipid hydroperoxide by the rat liver. Vitamin E deficiency induce increased levels of hepatic TBARS but normal or higher vitamin E levels in plasma did protect against the generation of this liver peroxidation product, maintaining the hepatic TBARS at low levels. Liver TBARS levels were inversely correlated with plasma and hepatic vitamin E levels ($p < 0.05$), but the control and supplemented group showed similar levels of liver TBARS, possibly indicating that the protective action of vitamin E against in vivo lipid peroxidation was not dose-dependent in this study, and that the normal dietary level of vitamin E offers the same protection as the higher level, in agreement with reports by others authors (17). Plasma TBARS were inversely correlated with liver concentration of vitamin E ($p < 0.05$). The control group reached higher values when compared with others two groups, this result was unexpected, but determination of plasma malondialdehyde is considered to be a poor index of lipid peroxidation and the method is not specific, since others known and unknown substances produce positive TBARS reaction (17). Others studies that vitamin E was employed as antioxidant demonstrated no significant difference between malondialdehyde or TBARS levels in plasma of rats submitted to supplemented or deficient vitamin E diet (18), but gave a significant difference in hepatic concentration of malondialdehyde, with higher levels of this peroxidation product in rats fed a deficient vitamin E diet (18,19). Deficient vitamin E diet also resulted in a decrease in hepatic levels of cytochrome P450 in association with increase

of malondialdehyde concentration in this tissue (20,21). It's generally accepted that cytochrome P450 mediated mixed function oxidases in a detoxification process, with the formation of more polar, biological inactive and readily excretable metabolites (21). Therefore the effect of vitamin E deficiency may decrease xenobiotic metabolism and thereby increase the toxicity, for the loss in cytochrome P450 activity in liver. Formation of malondialdehyde in oxidative stress also is associated with mutagenesis and carcinogenesis (22) and factors that stimulate lipid peroxidation and malondialdehyde formation include selenium or vitamin E deficiency and accumulation of highly unsaturated acids (22). Application of malonaldehyde in skin of mice resulted in a high incidence of tumors, 12 mg of malonaldehyde applied daily proved toxic, sometimes fatally so (23) some animals in this study also develop carcinomas of their internal organs, includes liver, rectal carcinoma, lung, kidney and rectum metastases (23). Albumin concentration, indicator of hepatocellular function, was similar for three groups studied, revealing that the levels of dietary vitamin E not modify the synthesis of this protein in liver. In this study the deficient group showed lower concentrations of reduced glutathione in relation of control and supplemented group, but the difference was not significant, the values were slightly lower when compared with reported values (24). In conclusion, the results obtained in this study suggest that at the maintenance of adequate levels of vitamin E is indispensable as a protective factor, exerting a significant influence on liver lipid peroxidation, as assessed by hepatic TBARS, in this group of animals. Vitamin E deficiency alone causes a dramatic increase of TBARS in liver, with possible deleterious consequences.

REFERENCES

1. Liebler DC. The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Crit.Rev. Toxicology* 23 (2): 147-169;1993.
2. Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am.J.Clin.Nutr.* 53: 189S-193S; 1991.
3. Chan AC. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 71: 725-731; 1993.
4. Harman D. Free-radical theory of aging. *Ann. N.Y.Acad.Sci.* 717:1-15; 1994
5. Jain SK, Levine SN. Elevated lipid peroxidation and vitamin E-

- quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free. Radic. Biol.* 18: 337-341; 1995
6. Knekt P. Role of vitamin E in prophylaxis of cancer. *Ann.Med.*23: 3-12; 1881.
 7. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of action. *Am Med.* 97: 5s-13s; 1994.
 8. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role carotenoids, tocopherols and thiols. *Am.J.Clin.Nutr.* 53: 194S-200S; 1991.
 9. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final reports of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J.Nutr.* 123: 1939-1951; 1993.
 10. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Meth. Enzymology* 52: 302- 310; 1978.
 11. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malondialdehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal.Biochem.* 86: 271-278; 1978.
 12. Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and β carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J.Chromatogr.* 572: 103-116; 1991.
 13. Hu M-L. Measurements of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Meth.Enzymology* 233: 380-385; 1994.
 14. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J.Biol.Chem.* 193: 265-275; 1951.
 15. Gustafsson JEC. Improved specificity of serum albumin determination and estimation of acute phase reactants by use of bromocresol green reaction. *Clin.Chem.* 22:616-622; 1976.
 16. Snedecor GW, Cockran WG. Statistical methods. 6th. edn. Iowa University Press, Ames.1967.
 17. Lee H-S, Csallany AS. Measurement of free and bound malondialdehyde in vitamin E-deficient and -supplemented rat liver tissue. *Lipids* 22: 104-107; 1987.
 18. Kameda K, Imai M, Senjo M. The effect of vitamin E deficiency on some erythrocyte membrane properties. *J.Nutr.Sci. Vitaminol.* 31: 481 490; 1985
 19. Iwasaki M, Iwaka M, Miyata N, Itoi Y, Kamke Y. Effects of vitamin E deficiency on hepatic microsomal cytochrome P450 and phase II enzymes in male and female rats. *Internat .J. Vit. Nutr.* 64: 109-112; 1994.
 20. Lee SM, Clemens MG. Effects of α -tocopherol on hepatic mixed functions oxidases in hepatic ischemia/reperfusion. *Hepatol.* 15: 276-281; 1992.
 21. Ioannides C, Parke DV. The cytochrome P-448 A unique family of enzymes involved in chemical toxicity and carcinogenesis. *Biochem.Pharmacol.* 36: 4197-4207; 1987.
 22. Draper HH, Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica* 9: 901-907; 1990.
 23. Shamberger RJ, Aqdreone TL, Willis CE. Antioxidants and cancer. IV. Initiating activity of malonaldehyde as a carcinogen. *J.Nat.Cancer Inst.* 53: 771-1773; 1974.
 24. Hissin PJ, Hilf R. A Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissue. *Anal .Biochem.*74: 214-228; 1978.

Recibido: 04-03-1996

Aceptado: 23-01-1997

Adiposidad y patrón de distribución en un grupo de preescolares de estratos socioeconómicos bajos de Caracas*

Betty M. Pérez¹, Maura Vásquez², Maritza Landaeta -Jiménez³, Guillermo Ramírez⁴ y Thais Ledezma⁵

RESUMEN.- En adultos los riesgos de enfermedades crónicas no transmisibles están asociados a la adiposidad y al patrón de distribución de la grasa, características que se modifican con las etapas del crecimiento, por lo tanto, la prevención puede iniciarse en edades tempranas. En 449 preescolares de 3 a 6 años medidos en 1991 (Parroquia La Vega-Caracas), se analizó el comportamiento de la adiposidad y el patrón de distribución en seis pliegues, mediante componentes principales relacionados con variables socioambientales por un indicador (ICSA), que se obtuvo por un método de clasificación jerárquica sobre las coordenadas de un análisis de correspondencias múltiples. Los resultados se interpretaron según estado nutricional (peso - edad), ICSA, sexo y edad. El ICSA identificó dos grupos: G1: hogares en condiciones socioambientales más desfavorables, y G2: hogares con mejores condiciones. La primera componente se relacionó con adiposidad total, la segunda con patrón extremidad/tronco y la tercera con patrón superior/inferior. En los niños con déficit nutricional, el contraste en el patrón superior/inferior se manifestó entre los pliegues subescapular (-0,53) y supraespal (0,32), y en los normales entre tríceps (-0,46) y muslo (0,29). Los cambios se relacionaron: en el nivel de adiposidad con sexo, estado nutricional y edad, en el patrón superior/inferior con malas condiciones socioambientales, sexo y edad. Los niños con déficit resultaron con mayor adiposidad central, y los normales con más grasa periférica. Los factores ambientales desfavorables alteran no solo el estado nutricional sino que también pueden interferir el patrón de distribución superior/inferior, comportamiento que constituye una señal de alerta, de alteraciones biológicas a edades tempranas.

PALABRAS CLAVES: Patrón de adiposidad. Componentes principales, índice calidad de vida, peso- edad, niños. Venezuela.

INTRODUCCION

La grasa corporal en términos del nivel de adiposidad y patrones de distribución, es un tema de interés fundamental para el biólogo humano, debido a su importancia epidemiológica y a la influencia que ejerce sobre la morfología. Se ha reportado que el patrón de distribución de la adiposidad, independiente de su nivel, constituye un indicador de salud y estado nutricional y se le asocia con riesgos de enfermedades cardiovasculares y metabólicas (1).

En niños y adolescentes este fenómeno, conjuntamente con la edad, nivel de maduración, sexo y grupo étnico, influye sobre la configuración morfológica (2). De igual manera, se ha encontrado que la forma centrípeta de distribución está asociada con niveles altos de lípidos y lipoproteínas e hiperinsulinemia; así como con la elevación de la presión sistólica (3). Las investigaciones sobre el comportamiento de la adiposidad se han realizado por diferentes métodos que

SUMMARY.- Fatness and fat distribution in school children from low socioeconomic stratum.- Epidemiological studies suggest that body fat distribution in adults is associated with chronic nontransmissible diseases, less is known during the growing years. The current study was undertaken to explore the relationship between level of fatness, fat patterning and some socioenvironmental variables in a group of 449 children aged 3 to 6, living in Caracas, who belong to the poorest Venezuelan socio-economic stratum. Data was analyzed taking nutritional status (weight-for-age), an index of socioeconomic conditions (ICSA), sex and age, as control variables. Using a multivariate analysis we derived first, two groups of households (G1 and G2) as determined by socioeconomic variables, to which principal component analysis was applied to elicit fatness and relative fat patterning through six skinfolds. First component identify level of adiposity, second extremity/trunk fatness, and third upper/lower pattern. Comparison of normal children with those of low weight-for-age showed differences in adiposity and in the upper/lower patterning as detected by the skinfolds involved in the differences: subscapular (-0.53) and supraspinale (0.32) in children with low weight-for-age; triceps (-0.46) and thigh (0.29) in those classified as normal. We found that gender, nutritional condition, environmental variables and age, were significant predictors of the differences in adiposity level; while age and households conditions, appear to be related to upper/lower patterning. The data equally suggests that body fat is more centrally distributed in boys with low weight-for-age. Since these patterns are indicators of risk in the ongoing years, we call the attention about environmental circumstances.

KEY WORDS: Fat Patterning. Principal component analysis. Children. Basic Needs. Venezuela. Anthropometry. Nutritional Status.

utilizan índices contruidos sobre la base de pliegues de tejido adiposo y de circunferencias (4). Recientemente se ha popularizado el uso de las componentes principales, técnica de reducción especialmente diseñada para investigar la magnitud y naturaleza de las intercorrelaciones entre variables; ésta hace énfasis sobre los aspectos exploratorios y

1. Antropólogo físico. Investigador Titular. Instituto de Investigaciones Económicas y Sociales. Universidad Central de Venezuela
2. Estadístico Matemático. Profesor Asociado. Escuela de Estadística. Universidad Central de Venezuela.
3. Médico nutrólogo investigador. Fundacredesa.
4. Matemático. Profesor Asociado. Escuela de Estadística. Universidad Central de Venezuela.
5. Estadístico. Profesor Agregado. Instituto de Investigaciones Económicas y Sociales. Universidad Central de Venezuela.

* Proyecto financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT. F-146)
Dirigir correspondencia a: Betty M. Pérez, Apartado de Correos 78162. La Urbina. Caracas. 1074. Venezuela

descriptivos del fenómeno investigado, antes que en la confirmación o rechazo de hipótesis (5). Sin embargo, son pocas las investigaciones en niños preescolares donde se reportan relaciones del nivel y el patrón de la adiposidad, con factores biológicos y sociales (6).

En este estudio se examinó el comportamiento de la adiposidad y su distribución, en preescolares de una comunidad de estratos socioeconómicos bajos del Área Metropolitana de Caracas y se relacionó con variables biológicas como sexo, edad y estado nutricional, y con algunos factores socioambientales, siguiendo los planteamientos de Johnston (7), quien propone realizar un enfoque biocultural del problema.

MATERIALES Y METODOS

Los datos de este estudio, 449 preescolares de 3 a 6 años medidos en 1991 en la Parroquia La Vega - Caracas (Tabla 1), forman parte de una muestra opinática de 1200 preescolares y escolares, de estratos socioeconómicos bajos, que integraron una investigación acerca de los efectos de algunos factores sociales y económicos sobre distintos indicadores de composición corporal y estado nutricional (8, 9).

Las variables consideradas en este estudio de los preescolares fueron las siguientes: seis pliegues de tejido adiposo: tríceps (TRIC), subescapular (SUBE), supraespinal (SUPR), abdominal (ABDO), muslo (MUSL) y pantorrilla media (PANT), los cuales se midieron de acuerdo a los procedimientos señalados por Ward (10). Se utilizó un calibrador SLIM-GUIDE y las medidas se tomaron en el lado derecho del cuerpo, en un pliegue vertical en el caso del tríceps, abdominal, muslo y pantorrilla media; y oblicuo para el subescapular y supraespinal, a la altura de la parte inferior de la escápula, para el primero y sobre la línea ilio-espinal para el segundo. Se utilizó el peso para la edad como indicador del estado nutricional, y se clasificó como normal a todo valor entre (p10-p90) y como déficit a todo valor (< p10) con respecto a la distribución de percentiles de la referencia nacional (11). Con las variables socioeconómicas se elaboró un indicador de condiciones socioambientales (ICSA) para agrupar a los hogares de procedencia de estos niños. El ICSA se determinó mediante el método de Clasificación Jerárquica de Ward (10), aplicado sobre medidas de semejanza entre los hogares, que

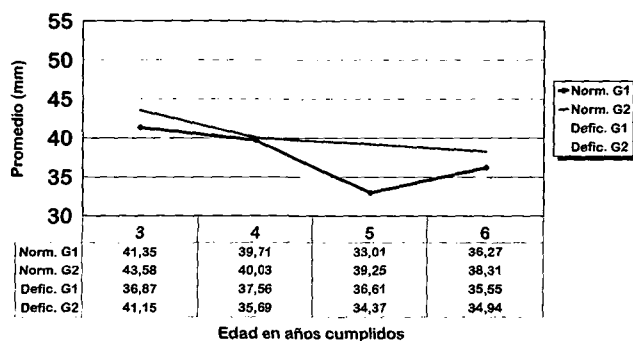
TABLA 1

Distribución de la muestra por sexo, edad y estado nutricional

Sexo	Edo. Nutricional (P - E)	Edad			
		3	4	5	6
Niños	Normales	43	44	43	31
	Con déficit	21	22	24	28
Niñas	Normales	37	38	31	42
	Con déficit	13	14	7	11

GRAFICO 1A

Adiposidad total promedio en niños según estado nutricional, ICSA y edad



se calcularon a partir de las coordenadas de un Análisis de Correspondencias Múltiples (12, 13). Este análisis se efectuó previamente sobre los hogares, en base a algunos de los indicadores que describen la metodología de Necesidades Básicas Insatisfechas (14), como son: presencia en el hogar de niños en edad escolar que no asisten a la escuela, hacinamiento, calidad de los materiales utilizados en la construcción de la vivienda, disponibilidad de agua corriente dentro de la vivienda, y existencia de servicios adecuados para la eliminación de excretas (15).

Se aplicó un Análisis de Componentes Principales a los pliegues de tejido adiposo estandarizados (16, 17), con el objeto de identificar las fuentes más importantes de variabilidad en el comportamiento de la adiposidad. Las componentes obtenidas, que son combinaciones lineales de los pliegues estandarizados, se interpretaron en términos de sus correlaciones con los pliegues y, en función de valores test (18) que miden la importancia de las variables ilustrativas: sexo, edad en años, estado nutricional, y el ICSA para explicar el comportamiento de estas componentes. El valor test de una categoría respecto de una componente principal, es el valor del estadístico para contrastar la hipótesis de igualdad entre la media de las coordenadas principales en los individuos que poseen la categoría, y la media de las coordenadas principales en el grupo total. Estas magnitudes son referidas a percentiles de una distribución normal $N(0,1)$.

Finalmente, se utilizó un índice de adiposidad total que se construyó sobre la base de los seis pliegues utilizados en esta investigación, y los perfiles promedio de los pliegues estandarizados. Estos se obtuvieron de la siguiente manera: se calculó la media y la desviación estándar de cada pliegue en cada una de las categorías de las variables ilustrativas y los valores individuales se expresaron como puntajes Z. Los perfiles promedios de los pliegues estandarizados por grupo se representaron de acuerdo al esquema de Garn (19), esto garantizó la comparabilidad de la adiposidad, en las distintas

categorías de cada una de las variables ilustrativas. En todos los análisis efectuados eminentemente de carácter exploratorio, se utilizó el programa SPAD.N, versión 2.5 (20).

RESULTADOS

Indicador de condiciones socioambientales (ICSA). Dentro del marco de pobreza generalizada existente en esta población, el ICSA define dos grupos: uno formado mayoritariamente por hogares con una alta proporción de las necesidades básicas insatisfechas (G1), y otro con mejores condiciones relativas (G2). Como puede observarse en la Tabla 2, las diferencias entre ambos grupos se manifiestan fundamentalmente en cuanto al acceso a los servicios básicos dentro de la vivienda, a los materiales empleados en la construcción de la misma, a la condición de hacinamiento, y a la presencia de niños mayores de siete años que no asisten a la escuela. Este indicador se utiliza a lo largo del desarrollo de la investigación, como variable que permite resaltar aspectos importantes del comportamiento de la adiposidad.

Adiposidad y patrón de distribución. En las sub-poblaciones resultantes del cruce de las variables sexo y estado nutricional, se obtuvieron tres componentes principales de interés, que captan alrededor de un 85% de la variabilidad total de los datos originales. La estructura de estas componentes fue común a todas las sub-poblaciones antes señaladas, razón por la cual todos los análisis fueron referidos al grupo total de niños (Tabla 3). Una excepción fue la tercera componente, que en el subgrupo de niños con déficit nutricional presentó un comportamiento diferente respecto a los otros grupos.

La primera componente principal puede interpretarse como un factor de adiposidad total, ya que se presenta alta y

TABLA 2

Porcentaje de hogares con necesidades básicas insatisfechas en los dos grupos determinados por el ICSA

Necesidades	Grupos de hogares	
	G1 (%)	G2 (%)
Viviendas sin servicios adecuados de disposición de excretas	90	3
Viviendas sin servicios de agua corriente	90	3
Viviendas construidas con bloques	6	55
Viviendas tipo rancho	94	43
Hacinamiento	83	39
Hogares con niños en edad escolar que no asisten a la escuela	14	1

TABLA 3

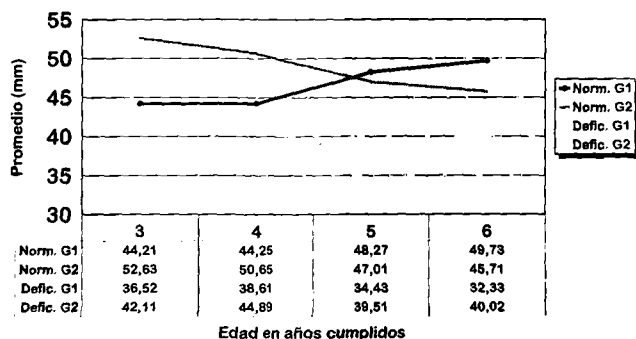
Correlaciones entre las tres primeras componentes y los pliegues

Pliegue	Componentes					
	Grupo total			Grupo con déficit		
	1	2	3	1	2	3
Tríceps	0.82	-0.18	-0.46	0.79	-0.22	-0.26
Subescapular	0.84	0.20	-0.22	0.75	0.16	-0.53
Supraespal	0.84	0.36	0.08	0.73	0.49	0.32
Pantorrilla	0.73	-0.58	0.13	0.68	-0.54	-0.25
Abdominal	0.84	0.33	0.20	0.81	0.35	0.12
Muslo Anterior	0.83	-0.22	0.29	0.80	-0.28	0.14
% de varianza	66.31	11.61	6.78	57.84	13.55	9.08

directamente correlacionada con todos los pliegues, esto indica la existencia de dos grupos polares, uno integrado por niños que en líneas generales poseen grosos por encima del promedio en todos los pliegues, y otro formado por aquellos cuyos niveles de grosor están por debajo del promedio. Por su parte, las correlaciones entre los pliegues y la segunda componente, establecen una oposición entre aquellos ubicados en las extremidades, especialmente la pantorrilla y el muslo, y los de la zona del tronco, lo que definió un patrón extremidad/tronco. Esta oposición determinó un criterio que señaló la existencia de grupos de niños con grasa relativa mayor en las extremidades que en el tronco, y viceversa. La tercera componente se correlacionó positivamente con pliegues de la parte inferior del cuerpo, y negativamente con los de la parte superior, lo que describió un patrón superior/inferior. Los resultados para esta componente mostraron que en el grupo de niños considerados globalmente, el contraste en la distribución de la grasa se produjo con mayor fuerza entre el tríceps y el muslo anterior; mientras que en los niños con déficit, este contraste se manifestó fundamentalmente entre el subescapular y el supraespal.

GRAFICO 1B

Adiposidad total promedio en niñas según estado nutricional, ICSA y edad



Comportamiento de la adiposidad y de su distribución según variables ilustrativas. La información reportada por los valores test (Tabla 4) en las distintas categorías de las variables ilustrativas, permitió obtener una aproximación a algunas particularidades del comportamiento de la adiposidad total

particularidades del comportamiento de la adiposidad total (componente 1) y de sus patrones (componentes 2 y 3). En lo relacionado con el nivel de adiposidad total, se evidenció un claro dimorfismo sexual (p -valor < 0.01), así como diferencias determinadas por el estado nutricional (p -valor < 0.01), la edad a los 3 años (p -valor < 0.01) y a los 5 (p -valor < 0.05). De esta manera, se encontró que niveles altos de adiposidad total, son en general, una característica de niñas con peso para la edad dentro del rango normal, y edad alrededor de los 3 años. Mientras que niveles bajos, constituyen una característica de varones con déficit nutricional, y edad cercana a los 5 años. El patrón extremidad/tronco (componente 2), varió solamente en función de la edad, 3 años (p -valor < 0.01), 5 años (p -valor < 0.01). Los puntajes extremos de esta segunda componente describieron dos grupos opuestos, el primero de ellos en el cual se perfiló un patrón con tendencia periférica, correspondió a niños de uno y otro sexo de 3 años. El segundo grupo siguió un patrón con tendencia a la centralización de la grasa, presentándose en preescolares de aproximadamente cinco años de edad. El patrón superior/inferior (componente 3) lo explicó el ICSA (p -valor $< .01$), el sexo (p -valor < 0.05), y la edad a los 4 y 6 años (p -valor < 0.05). Las puntuaciones positivas extremas que indican mayor adiposidad relativa en la parte inferior del cuerpo respecto de la superior, correspondieron a niñas que provienen de los hogares con mejores condiciones socio-ambientales (G2). Por el contrario, las puntuaciones negativas que definen un patrón de distribución invertido respecto al anterior, describieron en general a varones que provienen del grupo de hogares con condiciones socio-ambientales más desfavorables (G1).

Comportamiento de la adiposidad y de su distribución. suma

GRAFICO 2A

Perfiles promedio de pliegues estandarizados
Niños por grupos de edad (3 a 6 años)

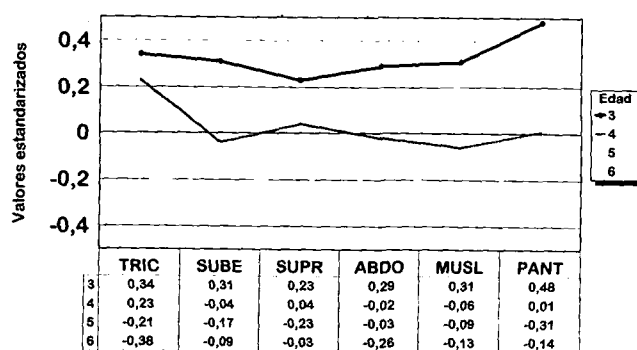


TABLA 4

Valores Test para las categorías de las variables ilustrativas
en las tres primeras componentes principales

Variable	Categorías	Componente		
		1	2	3
EDAD	3	3.7**	3.2**	-1.9
	4	0.4	-0.4	-2.1*
	5	-2.5*	-2.6**	1.4
	6	-1.7	-0.3	2.7**
SEXO	Masculino	-8.0**	1.7	-2.7**
	Femenino	8.0**	-1.7	2.7**
EDO	Normales	5.7**	-0.9	1.8
NUTRIC(P-E)	Con déficit	-5.7**	0.9	-1.8
ICSA	G1	-1.8	1.0	-4.0**
	G2	1.8	-1.0	4.0**

* Valor test significativo estadísticamente (p -valor < 0.05)

** Valor test significativo estadísticamente (p -valor < 0.01)

de seis pliegues. En los Gráficos 1A y 1B se advierten claramente algunos aspectos del comportamiento de la adiposidad total medida en términos de la suma de los seis pliegues. Puede observarse una pérdida progresiva en el nivel de grasa al incrementarse la edad, ligeramente más pronunciada en niñas. Las niñas con peso normal para la edad y que viven en condiciones socio-ambientales más desfavorables (Norm. G1), constituyen una excepción. Así mismo, los niveles de adiposidad fueron por lo general más altos en niñas que en niños, lo que está de acuerdo con los procesos normales del crecimiento. Sin embargo llamó la atención la ausencia de este patrón en los grupos de niños y niñas de peso bajo para la edad y del grupo social más desfavorecido (Defic. G1). Adicionalmente, a lo largo de todas las edades se encontraron diferencias marcadas entre las niñas normales y aquellas con déficit, este comportamiento contrasta con las diferencias apenas perceptibles en niños.

Edad y sexo. En los Gráficos 2A y 2B se muestra la evolución del patrón de adiposidad por edad y sexo. En los niños a los 3 años, la grasa relativa se reparte más o menos uniformemente en todos los pliegues, con un nivel levemente mayor en la pantorrilla. A medida que se incrementó la edad, los mayores cambios en general se produjeron en los pliegues de las extremidades y se observó en las edades finales una ligera tendencia a la centralización. En las niñas pudo notarse un patrón periférico a los 3 años, con pérdida progresiva de grasa en los años siguientes, más evidente en los pliegues de las extremidades, sin embargo no se perfiló un patrón específico.

ICSA y estado nutricional. Los efectos que marcan las diferencias en las condiciones de vida de estos niños, fueron más evidentes a nivel del pliegue muslo, en contraste con el tríceps el cual presentó diferencias menores (Gráfico 3A). El estado nutricional determinó diferencias a nivel de todos los pliegues, ligeramente más marcadas en la zona del tronco (Gráfico 3B).

GRAFICO 2B

Perfiles promedio de pliegues estandarizados. Niñas por grupos de edad (3 a 6 años)

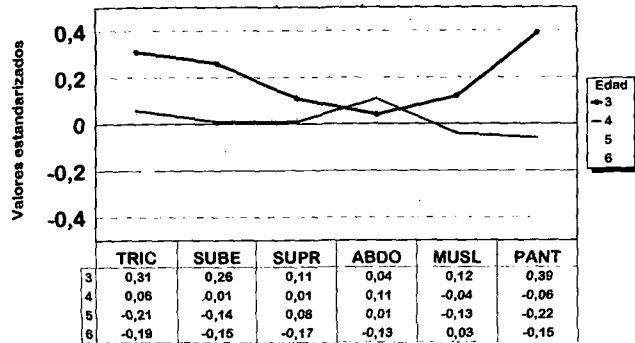


GRAFICO 3B

Perfiles promedio de pliegues estandarizados de acuerdo a estado nutricional (3-6 años)

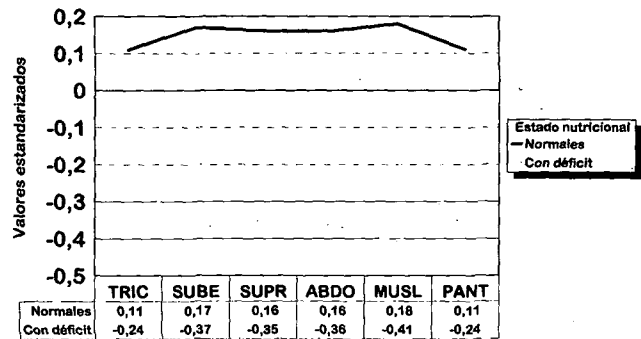
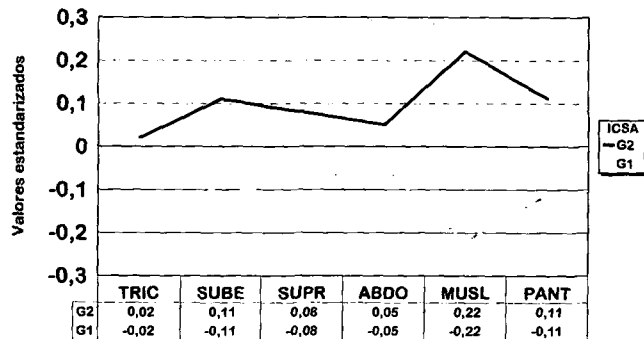


GRAFICO 3A

Perfiles promedio de pliegues estandarizados de acuerdo al ICSA (3-6 años)



actividad física (5). A diferencia de lo encontrado por Kaplowitz (21) en niños mexicano-americanos, quienes presentan un patrón centralizado a los 8 años, en los varones de este estudio, ocurre a edades más tempranas, la tendencia a una distribución relativa del tejido adiposo en la parte superior del cuerpo. En un estudio reciente que investiga la adiposidad y el patrón de distribución en niños cubanos (22), los autores encontraron relación entre el nivel de la adiposidad y el estado nutricional mientras que no detectaron evidencias de asociación con el patrón. Los preescolares de Caracas coinciden con la investigación anterior, solamente en lo relativo a la adiposidad. En términos generales se ha considerado la genética como el factor de principal influencia sobre el patrón de distribución. Así lo documentan diferentes estudios entre ellos el realizado por Arsenak y Rodríguez en niños venezolanos (23); mientras que la adiposidad en sí, es más dependiente del medio ambiente circundante. Sin embargo, los resultados de esta investigación sugieren que distintos factores ambientales asociados con las condiciones de vida de los niños, pueden interferir para modificar en parte, el patrón biológico de distribución.

DISCUSION

Los cambios en el nivel de la adiposidad, de acuerdo con los resultados obtenidos pueden explicarse básicamente en función del sexo, estado nutricional y la edad, en ese orden de importancia, mientras que en lo relacionado con la distribución superior/inferior, dichos cambios aparecen fundamentalmente asociados con el nivel de insatisfacción de las necesidades básicas, la edad, y el sexo. Estos resultados reflejan características que aparecen consistentemente en poblaciones humanas las cuales difieren en edad, sexo, grupo racial y

Los resultados del análisis de componentes principales indican que el dimorfismo sexual acompañado de una variable no estructural como la edad, del estado nutricional y de algunos aspectos socio-ambientales de la pobreza, ayudan a explicar el comportamiento de la adiposidad tanto en lo relativo al nivel como al patrón, situación que evidencia claramente la acción conjunta de factores biológicos y sociales. El menor grosor en adiposidad en los niños respecto a las niñas es una característica común reportada inclusive a edades muy tempranas (20) y se ha constituido en uno de los ejemplos más clásicos cuando se hace referencia al dimorfismo sexual en el género humano. Los niños clasificados como normales

de acuerdo al indicador peso para la edad, tienen mayor adiposidad en la parte inferior del cuerpo, mientras que los niños con peso bajo para la edad que viven en condiciones socio-ambientales más críticas, acumulan mayor adiposidad en la parte superior del cuerpo. Esto señala situaciones de riesgo en los varones, debido a su tendencia a la centralización a edades más tempranas. En relación a las niñas, es de hacer notar que niveles más altos de la grasa periférica se interpretan como reserva energética que se moviliza para protegerse durante el embarazo y la lactancia (24).

En el patrón superior/inferior se estableció en niños normales el contraste entre tríceps y muslo anterior, mientras que en los niños con déficit el mismo ocurrió entre subescapular y supraespinal. Este patrón que es poco evidente cuando se utilizan pliegues, aparece en ciertas situaciones cuando la evaluación de la composición corporal se realiza con circunferencias, ya sea en adultos, o en individuos con sobrepeso (25). Su presencia en niños con déficit nutricional podría constituir una señal de alerta respecto a posibles riesgos de enfermedades crónicas.

Se encontró que el pliegue de tríceps, frecuentemente utilizado en la evaluación nutricional, no estableció mayores diferencias entre los niños de peso bajo para la edad y los de peso normal. Igualmente llamó la atención, que se encontraron las mayores diferencias de acuerdo al estado nutricional en el pliegue muslo, por ello sería importante considerar su medición cuando se trate de evaluar la recuperación nutricional de un niño. Estos resultados deben tomarse con cautela, ya que el tamaño de la muestra se reduce sensiblemente al considerar los grupos formados por el cruce de las variables ilustrativas. Sin embargo, contribuye en cierta forma a clarificar las interrogantes planteadas por Johnston (7) en cuanto a la influencia ambiental y su relación con el poder explicativo de los pliegues.

AGRADECIMIENTO

Los autores dejan constancia de la dedicación y esfuerzo de la antropóloga Zuleima Rodríguez, quien como auxiliar de investigación del proyecto participó de manera entusiasta en las distintas fases del estudio.

REFERENCIAS

- Hanmer, L., Wilson, D., Litt, Y., Killen, J., Hayward, Ch., Miner, B., Vosti, C & Taylor, B. Impact of pubertal development on body fat distribution among White, Hispanic, and Asian female adolescents. *J Pediat* 1991; 118: 975-980.
- Pérez, B. Estimación de la composición corporal en indígenas venezolanos. *Rev. Cubana Alimen. Nutr* 1989; 3 (3): 348-361.
- Freedman, DS, Srinivasan, SR., Burke, GL., Shear, Ch., Smoak, C, Harsha, D., Webber, L y Berenson, G. Relation of body fat distribution to hyperinsulinemia in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *Am J Clin Nutr* 1987; 46: 403-410.
- Hermelo, M., Amador, M. Métodos para la evaluación de la Composición Corporal en Humanos. Colección con fines docentes 2. Faces - UCV 1993: 10-77.
- Mueller W H & Wohleb J C. Anatomical distribution of subcutaneous fat and its description by multivariate methods: How valid are principal components?. *Am J Phys Anth* 1981; 54: 25-35.
- Mueller, WH., Kaplowitz, HJ. The precision of anthropometric assessment of body fat distribution in children. *An Hum Biol* 1994; 21: 267-274.
- Johnston, F., Reid, W., de Baessa, Y., MacVean, R. Socioeconomic correlates of fertility, mortality and child survival in mothers from a disadvantaged, urban Guatemalan community. *Am J Hum Biol* 1989; 1: 25-30.
- Ledezma, T., Landaeta-Jiménez, M., Pérez, B., Mancera, A. Condiciones socioeconómicas y situación nutricional. Estudio de una comunidad de Caracas. *Ann Ven Nutr* 1992.; 5: 17-24.
- Pérez, B., Landaeta-Jiménez, M., Mancera, A., Ledezma, T. Análisis de la composición corporal en una muestra de niños de estratos bajos de Caracas. *Acta Cient Venez* 1993; 44: 157-163.
- Ward, R., Ross, W., Leyland, A., and Selbie, S. The advanced O-Scale physique assessment system. *Kinemetrix*, 1989: 117 p.
- Méndez Castellano, H., López de Blanco, M., Landaeta-Jiménez, M., Pereira, I., Tineo, A. Estudio Transversal de Caracas. *Fundacredesa*, 1981.
- Greenacre, M. *Correspondence Analysis in Practice*. Academic Press. Cambridge, 1993.
- Jambu, M. *Exploratory and multivariate data analysis*. Academic Press. San Diego, Ca. 1991; 474 p.
- Oficina Central de Estadística e Informática. Fundación Escuela de Gerencia Social OCEI/FEGS. Propuesta metodológica para la medición de la pobreza. "Informe Final". Caracas, 1994.
- Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y Ministerio de la Familia. *La Pobreza en Venezuela*, 1990.
- Hotelling, H. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *J. Educ. Psychol.* 1933; 24: 417-441, 498-520.
- Lebart, L., Morineau, A., Warwick, K. *Multivariate Descriptive Statistical Analysis*. New York. John Wiley 1984: 81-100.
- Morineaux, A. Note sur la caractérisation statistique d'une classe et les valeurs-test. *Bull Tech. CISA*. aris, 1984.
- Garn, S. Relative fat patterning: An individual characteristics. *Hum Biol* 1955; 27: 75-89.
- SPAD.N: Systeme portable pour l'analyse des données. 1993.
- Kaplowitz, H., Martorell, R and Mendoza, F. Fatness and fat distribution in Mexican-American children and youth from the hispanic and nutrition examination survey. *Am J Hum Biol* 1989; 1: 631-648.
- Díaz, ME. Fat distribution in Cuban infants. *Am J Hum Biol* 1994; 6: 687-692.
- Arsenak, M., Rodríguez, A. Distribución anatómica de la grasa corporal subcutánea en una muestra escolar de Los Teques: patrones absolutos y agregación familiar. Tesis de maestría. Caracas. IVIC, 1991.
- Rebuffe-Scrive, M. Adipose tissue metabolism and fat distribution. En: *Human body composition and fat distribution*. N.G. Norgan De Euro Nut 1985; 8: 211-217.
- Baumgartner, RN., Roche, AF., Gúo, S., Lohman, T., Boilean, RA., Slaughter MH. Adipose tissue distribution: the stability of principal components by sex, ethnicity and maturation stage. *Hum Biol* 1986; 58: 719-736.

Recibido: 02-02-1996

Aceptado: 16-01-1997

Prevalencia de *Aeromonas* spp. en agua de superficie

Pilar Hernández S¹ y Raquel Rodríguez de García²

Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Apto 40109, Caracas 1040, Venezuela.

RESUMEN. Evidencias microbiológicas, clínicas, inmunológicas y epidemiológicas han demostrado la enteropatogenicidad de algunas cepas de *Aeromonas*. La principal fuente de infección es el agua y estos microorganismos han sido hallados virtualmente en todos los ambientes acuáticos. Adicionalmente, algunas *Aeromonas*, incluyendo las cepas enterotoxigénicas, son capaces de crecer rápidamente a temperatura de 5° C y aun de producir toxinas. Los productos vegetales regados con aguas contaminadas pueden alcanzar niveles críticos de *Aeromonas* después de ser mantenidos bajo refrigeración, y constituyen así un riesgo para la salud pública al ser consumidos sin cocción en forma de ensaladas. Se realizó el presente estudio con el propósito de evaluar este riesgo. Las muestras de agua de superficie fueron sembradas en placas de agar ampicilina almidón y de agar inositol-verde brillante-sales biliares. 100 ml de cada muestra fueron filtrados a través de una membrana Milipore de 0.45 µm. Los filtros fueron colocados en agua peptonada alcalina como medio de enriquecimiento durante 24h a 35°C. Un asa impregnada con el enriquecimiento fue utilizada para el aislamiento en superficie de los agares selectivos mencionados. Las colonias presuntivas fueron identificadas mediante el sistema API 20E. El nivel de prevalencia de *Aeromonas* en las muestras analizadas fue del 17.8%. Se observó una mayor frecuencia de aislamiento cuando se empleaba la técnica de enriquecimiento. *A. Veronii* biotipo *sobria*. (anteriormente *A. sobria*) fue la especie más frecuentemente hallada. Debido a que esta especie ha estado asociada con la mayor virulencia, el uso de agua contaminada para el riego de los productos vegetales que van a ser conservados bajo refrigeración y consumidos crudos puede representar un riesgo para la salud pública.

PALABRAS CLAVE: aguas de superficie, *Aeromonas*, productos vegetales.

INTRODUCCION

Los resultados de investigaciones microbiológicas, clínicas, inmunológicas y epidemiológicas han permitido establecer la enteropatogenicidad de algunas cepas de *Aeromonas* (1-4).

Estos microorganismos están asociados con casos de gastroenteritis en infantes menores de dos años, en ancianos y en pacientes inmunocomprometidos. Se han aislado principalmente en ambientes acuáticos y se ha atribuido el origen de algunas infecciones al consumo de agua contaminada (5-9). En Australia, los niveles del orden de 10² por 100 ml han estado relacionados con un aumento en los casos de gastroenteritis asociados con *Aeromonas* durante los meses de verano (6). Algunas especies de *Aeromonas* móviles presentan la capacidad de crecer a temperaturas de refrigeración, de allí que una baja población en un alimento conservado bajo esta forma durante varios días puede alcanzar niveles

SUMMARY. Prevalence of *Aeromonas* spp. in surface water.- Some *Aeromonas* strains are well recognized enteropathogens according to microbiological, clinical, immunological and epidemiological evidence. The main source of infection seems to be untreated water, these microorganisms can be found in virtually all aquatic environments. Additionally, some *Aeromonas*, which include enterotoxigenic strains, are capable of rapid growth at 5°C and even of producing toxins. Vegetable products irrigated with contaminated water may reach critical *Aeromonas* levels after being kept under refrigeration, this could represent a public health risk when they are consumed as uncooked salads. This study was pursued to evaluate such risk. Surface water samples were streaked on starch ampicillin and inositol-brilliant green-bile salts agar dishes. In addition, 100 ml of each sample were filtered through a 0.45 µm Millipore membrane filter. The filters were incubated on alkaline peptone water as enrichment media during 24h at 35°C. Enrichment broth was then streaked on the selective agars above mentioned. Isolates from both tests were identified using the API 20 E System. The prevalence of *Aeromonas* strains in the analyzed samples was 17.8%. A higher isolation rate was observed after the enrichment technique. Starch ampicillin agar showed a higher recuperation rate. *A. veronii* biotype *sobria* (formerly *A. sobria*) was isolated with higher frequency. Since this species has been associated with the greatest virulence, the use of contaminated water to irrigate vegetable products that are to be kept under refrigeration and consumed without ulterior cooking may represent a risk to the public health.

KEY WORDS: Surface water, *Aeromonas*, vegetable produce.

críticos y producir enterotoxinas. Se ha descrito que las poblaciones de *Aeromonas* spp. normalmente presentes en los alimentos almacenados durante 7 a 10 días a temperaturas de 5°C pueden mostrar un aumento de población entre 10 y 100 veces mayor (10-13). De allí que la eventual utilización de aguas de riego contaminadas con estos microorganismos puede constituir un riesgo para la salud pública, especialmente si se considera que muchos alimentos de origen vegetal, almacenados bajo refrigeración, serán consumidos sin cocción ulterior bajo la forma de ensaladas.

Así mismo, las especies de *Aeromonas* han estado asociadas con infecciones extraintestinales tales como heridas infectadas (por contacto con aguas o con moluscos contaminados) septicemia, meningitis y bacteremia. Este tipo de infecciones ha sido observadas con mayor frecuencia en pacientes inmunosuprimidos o con SIDA (1,10, 14).

1. Autor a quien puede dirigirse la correspondencia

En la ciudad de Caracas se ha observado un marcado incremento en la incidencia de *Aeromonas* spp aisladas en las heces de pacientes con diarrea acuosa profusa. Se estableció el presente estudio con el propósito de conocer el papel del agua como reservorio del microorganismo y vehículo de transmisión, identificar las especies aisladas y conocer el efecto estacional en su incidencia pues no se disponía de información previa.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron 49 muestras de agua tomadas de los diferentes reservorios con que cuenta la ciudad para abastecer sus estaciones de tratamiento. El análisis se realizó durante el período de transición de la estación de sequía a la estación de lluvia, época en la que se registran las máximas temperaturas en la ciudad de Caracas. Las muestras fueron captadas conforme a las recomendaciones establecidas en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (15) y analizadas el día de la toma.

Se procedió al aislamiento directo de la muestra, mediante un asa, en la superficie de placas de agar ampicilina-almidón (AA) (16) y de agar inositol-sales biliares-verde brillante (IBB) (17). En forma paralela, 100 ml de cada muestra fueron filtrados a través de una membrana Millipore de 0.45 μm (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). La membrana se colocó en agua peptonada alcalina (pH 8.6), incubándose a 35°C durante 24 horas. Posteriormente, se aisló con un asa en la superficie de placas con los agares selectivos antes mencionados y todas las placas fueron incubadas a 35°C por 24 horas. En el agar AA, las colonias son de color amarillo miel rodeadas de un halo que corresponde a la hidrólisis del almidón y que se evidenciará mediante la adición de reactivo de Lugol. En el agar IBB, las colonias son incoloras.

De cada medio se escogieron colonias típicas que fueron transferidas a cuñas de agar nutritivo y una vez se comprobó su pureza y se apreciaron, mediante tinción de Gram, las características microscópicas típicas de *Aeromonas* spp., fueron caracterizadas mediante el sistema API 20E (bio Merieux S.A., Marcy l'Etoile, Francia). Se llevaron a cabo, en forma paralela, controles positivos y negativos. Los cultivos de referencia fueron suministrados por el Dr. Carlos Abeyta del U.S. Food and Drug Administration Seafood Products Research Center, Bothell, Washington, USA y por la Colección Española de Cultivos, Departamento de Microbiología, Valencia, España.

Se utilizó la prueba de Fisher para la evaluación estadística del efecto estacional ($p < 0.05$)

RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 1 se muestran los resultados de la incidencia de *Aeromonas* spp en las muestras analizadas por período. En la tabla 2 se muestra la distribución de las especies caracterizadas. La incidencia promedio fue de 17.8%

TABLA 1
Incidencia de *Aeromonas* spp en las muestras analizadas por período

Período	% Positivo
Marzo	13.3
Abril/Mayo	26.7
Junio	13.3

TABLA 2
Distribución de las especies *Aeromonas* caracterizadas

<i>Aeromonas sobria</i>	62.50%
<i>Aeromonas hydrophila</i>	12.50%
<i>Aeromonas</i> spp.	25.00%

Una mayor tasa de recuperación fue observada en el agar AA mostrando de esta forma que su efectividad para el aislamiento de *Aeromonas* spp en muestras ambientales es equiparable a la observada en alimentos. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores (18).

Así mismo, se observó una mayor frecuencia de aislamiento cuando se utilizó la técnica de enriquecimiento. Esto debido a que, a diferencia de las muestras clínicas, las poblaciones del microorganismo son usualmente bajas en las muestras de agua y de alimentos y debe competir con la microflora acompañante, viéndose así su recuperación favorecida mediante la utilización del agua peptonada alcalina, resultados que concuerdan con los ya observados por otros investigadores (19,20)

Se apreció una mayor incidencia durante el período de instalación de la estación de lluvia, período en que se registran las temperaturas máximas y aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$), los resultados coinciden con la tendencia observada en otro estudio (21) en el que también señala una mayor frecuencia de aislamiento durante los meses cálidos.

En la Tabla 2 se muestra la distribución de las especies de *Aeromonas* caracterizadas. Las cepas de *Aeromonas veronii* presentaron reacciones de Voges-Proskauer y lisina decarboxilasa positivas, resultados estos que se han relacionado con la patogenicidad de las cepas (22). *Aeromonas veronii* fue la especie que se aisló con mayor frecuencia, resultados similares fueron obtenidos por otros autores en muestras ambientales de Costa Rica y Australia (23, 24).

Así mismo, se ha observado que es la especie que se ha visto más frecuentemente asociada con gastroenteritis (25-30) y es la que ha estado involucrada con la aparición de los síntomas más severos (27, 3) es mucho más invasiva que *Aeromonas hydrophila* (30,31) y ha estado más frecuentemente asociada con bacteremia.

Los resultados obtenidos indican que las aguas de superficie pueden constituir un importante reservorio de *Aeromonas*, especialmente de las especies potencialmente patógenas y que su consumo sin tratamiento, utilización con fines

recreacionales, o utilización como agua de riego particularmente en aquellos alimentos que son almacenados bajo refrigeración y se consumen sin previa cocción, pueden constituir un riesgo potencial para la salud pública especialmente para los segmentos de población señalados como particularmente sensibles.

RECONOCIMIENTO

El presente trabajo fue financiado por el Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela. Se agradece la colaboración del personal de la Planta Experimental de Tratamiento de Agua de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela por su valioso aporte en la captación de las muestras.

REFERENCIAS

1. Altwegg, M., and H.K. Geiss. *Aeromonas* as a human pathogen. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 16: 253-286, 1989.
2. Kuijper, E., L. Van Alpen, M.F. Peters, and D.J. Brenner. Human serum antibody response to the presence of *Aeromonas* spp in the intestinal tract. *J. Clin. Microbiol.* 28: 584-590, 1990.
3. Janda, J.M. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. *Clin. Microbiol. Rev.* 4: 397-410, 1991.
4. Jiang, Z.D., A.C. Nelson, J.J. Mathewson, C.D. Ericson, and H.L. Dupont. Intestinal secretory immune response to infection with *Aeromonas* species and *Plesiomonas shigelloides* among students from the United States in México. *J. Infect. Dis.* 164: 979-982, 1991.
5. Le Chevalier, M.W., T.M. Evans, R.J. Seidler, O.P. Daily, B.R. Merrell, D.M. Rollins, and S.W. Joseph. *Aeromonas sobria* in chlorinated drinking water supplies. *Microb. Ecol.* 8: 325-333, 1982.
6. Burke, V., J. Robinson, M. Gracey, D. Peterson, and K. Partridge. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a metropolitan water supply: seasonal correlation with clinical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 361-366, 1984.
7. Hazen, T.C., C.B. Fliermans, R.P. Hirsch, and G.W. Esch. Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 36: 731-738, 1978.
8. Abeyta C., and M.M. Wekell. Potential sources of *Aeromonas hydrophila*. *J. Food Safety* 9: 11-22, 1988.
9. Schubert, R.H. *Aeromonas* and their significance as potential pathogen in water. *Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser.* 20: 131S-135S, 1991.
10. Palumbo, S.A., C. Abeyta, and G. Stelma. *Aeromonas hydrophila* group. En: *Compendium of Methods for the microbiological Examination of Foods.* C. Vanderzant and D.F. Splittstoesser (Ed.). American Public Health Association, Washington, D.C. 1992, p. 479-515.
11. Callister, S.M. and W.A. Agger. Enumeration and characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolated from grocery store produce. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:249-253, 1987.
12. Berrang, M.E., R.E. Brackett, and L.R. Beuchat. Growth of *Aeromonas hydrophila*, on fresh vegetables stored under a controlled atmosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:2167-2171, 1989.
13. Kirov, S.M. The public health significance of *Aeromonas* spp. in foods. *Int. J. Food. Microbiol.* 20:179-198, 1993.
14. Rolston, K.V.I., S.E. Zandvliet, S. Rodríguez, H.T. Nguyen, and G.P. Bodey. Species of *Aeromonas* and *Plesiomonas* infections in patients with cancer and AIDS. *Experientia.* 47: 437-439, 1991.
15. American Public Health Association. *Standard Methods for the examination of water and wastewater.* Washington, D.C., the Association, 1985.
16. Palumbo, S.A., F. Maximo, A.C. Williams, R.L. Buchanam, and D.W. Thayer. Starch-ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 1027-1030, 1985.
17. Schubert, R.H.W. Ueber den Nachweis von *Plesiomonas shigelloides* Habs und Schubert, 1962, und ein Elektivmedium, den Inositol-Brillantgrün-Gallesaltz-Agar. *E. Rodenwaldt-Arch.* 4: 97-103, 1977.
18. Jeppesen, Claus. Media for *Aeromonas* spp. *Plesiomonas shigelloides* and *Pseudomonas* spp from food and environment. *Int. J. Food Microbiol.* 26: 25-41, 1995.
19. von Graevenitz, A. and C. Bucher. Evaluation of differential and selective media for isolation of *Aeromonas* and *Plesiomonas* spp. from human faeces. *J. Clin. Microbiol.* 17:16-21, 1983.
20. Freund, S.M., J.A. Koburger, and C.I. Wei. Enhanced recovery of *Plesiomonas shigelloides* following an enrichment technique. *J. Food Protect.* 51: 110-112, 1988.
21. Wilcox, M.H., A.M. Cook, A. Eley, and R.C. Spencer. *Aeromonas* spp as potential cause of diarrhea in children. *J. Clin. Pathol.* 45: 959-963, 1992.
22. Burke, V., J. Robinson, J. Beaman, M. Gracey, M. Lesmana, R. Rockhill, P. Echevarria and J.M. Janda. Correlation of enterotoxigenicity with biotype in *Aeromonas* spp. *J. Clin. Microbiol.* 18: 1196-1200, 1983.
23. Rodríguez, E. y F. Antillón. *Aeromonas* spp y *Plesiomonas shigelloides* en bivalvos, cieno y aguas del Golfo Nicoya, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 37: 69-74, 1989.
24. Cahill, M.M. and I.C. Mac Rae. Characteristics of O/129 sensitive motile *Aeromonas* strains isolated from freshwater on starch ampicillin agar. *Microb. Ecol.* 24: 215-226, 1992.
25. Daily, O.P., S.W. Joseph, J.C. Coolbaugh, R.I. Walker, B.R. Merrel, D.M. Rollins R.J. Seidler, R.R. Colwell, and C.R. Lissner. Association of *Aeromonas sobria* with human infection. *J. Clin. Microbiol.* 13: 769-777, 1981.
26. Kirov, S.M., B. Rees, R.C. Welloock, J.M. Goldsmid and A.D. Van Galen. Virulence characteristics of *Aeromonas* spp in relation to source and biotype. *J. Clin. Microbiol.* 24: 827-834, 1986.
27. Carrello, A., K.A. Silburn, J.R. Budden and B.J. Chang. Adhesion of clinical and environmental *Aeromonas* isolates to HE-p-2 cells. *J. Med. Microbiol.* 26: 19-27, 1988.
28. Kirov, S.M. and L.J. Hayward. Virulence traits of *Aeromonas* in relation to species and geographic region. *Aust. J. Med. Sci.* 14: 54-58, 1993.
29. Havelar, A.H., F.M. Schets, A. van Silfhout, W.H. Jansse, G. Wieten, and D. van der Kooij. Typing of *Aeromonas* strains from patients with diarrhoea and from drinking water. *J. Appl. Bacteriol.* 72:435-444, 1992.
30. Watson, I.M., J. Robinson, V. Burke, and M. Gracey. Invasiveness of *Aeromonas* spp in relation to biotype, virulence factors and clinical features. *J. Clin. Microbiol.* 22: 48-51, 1985.
31. Gray, S.J., D.J. Sticker and T.N. Bryant. The incidence of virulence factors in mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from farm animals and their environment. *Epidemiol. Infect.* 105:277-294, 1990.

Recibido: 21-02-1996

Aceptado: 15-10-1996

Prevalencia de *Plesiomonas shigelloides* en agua de superficie

Pilar Hernández S¹ y Raquel Rodríguez de García

Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Apto. 40109. Caracas 1040 A. Venezuela

RESUMEN: *Plesiomonas shigelloides* es un bacilo Gram negativo que ha estado implicado en casos de gastroenteritis aguda, meningitis, bacteremia y osteomielitis. Se encuentra normalmente presente en el ambiente, en agua dulces, peces y aves, particularmente en las regiones tropicales y subtropicales. El presente estudio se llevó a cabo con el propósito de establecer el rol de las aguas de superficie como reservorio y vehículo de transmisión del microorganismo y para evaluar el efecto estacional en su incidencia. Muestras de agua de superficie fueron aisladas en la superficie de dos agares selectivos y simultáneamente fueron concentradas mediante la técnica de Seidler, sometidas a enriquecimiento en agua peptonada alcalina y aisladas en la superficie de los agares selectivos. Los aislados fueron caracterizados mediante pruebas bioquímicas. La prevalencia en las muestras analizadas fue de 59% y se observó una mayor frecuencia durante la estación cálida. El uso de ese tipo de agua para el riego de productos vegetales que van a ser consumidos sin cocción ulterior puede representar un riesgo para la salud pública.

PALABRAS CLAVES: agua de superficie, *Plesiomonas shigelloides*

INTRODUCCION

Plesiomonas shigelloides es un bacilo Gram negativo, recto, de extremos redondeados, móvil debido a la presencia de flagelos polares, anaerobio facultativo, catalasa y oxidasa positivo que ha estado implicado en gran número de brotes de gastroenteritis particularmente en países tropicales y subtropicales, habiéndose descrito su aislamiento en las heces de pacientes de Mali, Zaire, Kenia, Madagascar, Tahiti, Tailandia e India (1-4). Así mismo, numerosos casos de septicemia, osteomielitis, artritis séptica, meningitis, colecistitis y pseudoapendicitis han estado asociados con el microorganismo (5-7). En los casos de meningitis neonatal, la tasa de mortalidad es de aproximadamente 80% (8). Algunos investigadores describen la producción de una β hemolisina que puede ser uno de los principales factores de virulencia asociados con el microorganismo (9). La bacteria fue descrita por primera vez por Ferguson y Henderson en 1947 (10) quienes la aislaron a partir de las heces de un paciente sano y la denominaron *Paracolon C27*. Posteriormente debido a que presenta un antígeno común al de *Shigella sonnei*, se le denominó *Aeromonas shigelloides* pero debido a las diferencias morfológicas y fisiológicas con los miembros de este género, Cooper y Brown (11) en 1968 la transfieren a un nuevo género, *Plesiomonas*, y denominan la bacteria como *Plesiomonas shigelloides* (*Vibrionaceae*). Sin embargo, su ubicación

SUMMARY. Prevalence of *Plesiomonas shigelloides* in surface water.- *Plesiomonas shigelloides* is a Gram negative rod that has been implicated in acute gastroenteritis, meningitis, bacteremia and osteomyelitis. Is normally found in the environment, in fresh water, fish and birds, particularly in tropical and subtropical regions. The present study was pursued with the purpose of establish the role of surface water as reservoir and transmission vehicle and to evaluate the seasonal effect on incidence. Surface water samples were isolated on the surface of two selective agars and simultaneously were concentrated using the Seidler technique, submitted to enrichment procedure in alkaline peptone water and isolated on the surface of the selective agars. Isolates were characterized using biochemical test. The prevalence on analyzed samples was 59% and a higher frequency was observed during the warmer season. The use of this water to irrigate vegetable products that are to be consumed without ulterior cooking may represent a risk to the public health.

KEY WORDS: Surface water, *Plesiomonas shigelloides*.

taxonómica es todavía objeto de controversia, en 1994 Ruimy y col. (12), después de estudiar las secuencias de pequeñas subunidades de rRNA señalan que la *Plesiomonas* está filogenéticamente relacionada con la familia *Enterobacteriaceae*.

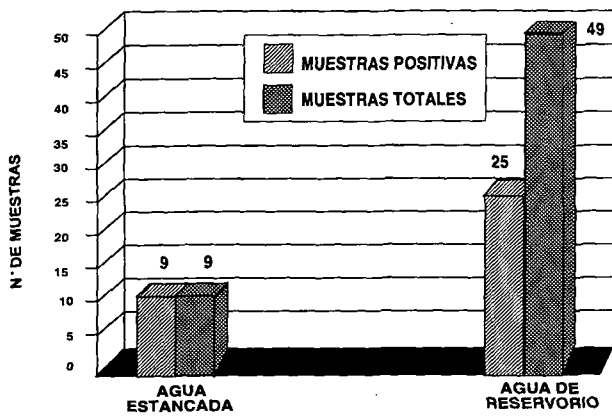
Las cepas son ubicuas, encontrándose normalmente en el ambiente, en aguas dulces, peces y aves (1). En dos brotes de diarrea que afectaron a numerosas personas, *Plesiomonas shigelloides* fue aislada tanto del reservorio de agua potable como de las heces de los pacientes afectados (13). La bacteria se ha encontrado con frecuencia en las aguas dulces de superficie y ha sido responsable de otro brote en el cual el agua estuvo involucrada. (14).

Numerosos estudios han demostrado un efecto estacional en la frecuencia de aislamiento del microorganismo en las muestras ambientales, así como un aumento en los casos de diarrea durante los meses más cálidos (1,13).

El presente trabajo se llevó a cabo con el propósito de determinar la incidencia del microorganismo en las aguas de superficie y determinar la influencia del efecto estacional en su prevalencia, puesto que no teníamos información previa sobre estos aspectos en la ciudad de Caracas. Los resultados obtenidos permiten evaluar el potencial riesgo que implicaría para la salud pública la utilización de estas aguas con fines

1. Autor a quien puede dirigirse la correspondencia

FIGURA 1

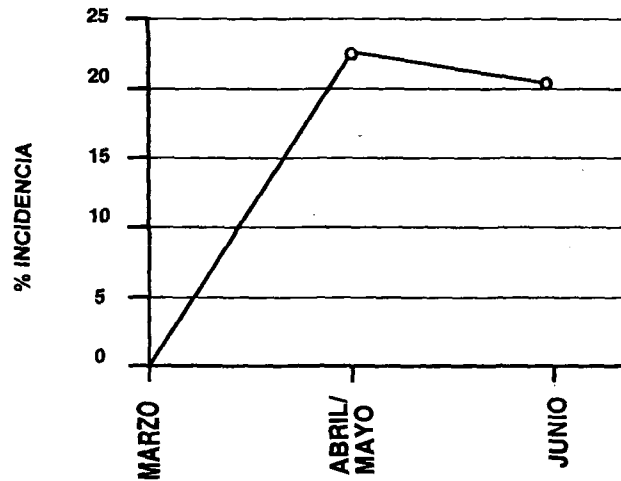
Prevalencia de *Plesiomonas shigelloides* en las muestras analizadas

recreacionales o para el riego de vegetales y hortalizas que son consumidos en forma cruda.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron 49 muestras de agua de superficie provenientes de los diferentes reservorios con que cuenta la ciudad y que nutren las diferentes estaciones de tratamiento, durante el período de transición de la estación de sequía a la estación de lluvia. Nueve muestras de agua estancada que llegaron al laboratorio durante este período fueron también analizadas. Las muestras fueron analizadas el día de la toma y para ello se siguieron las recomendaciones establecidas por el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (15). Utilizando un asa se aisló directamente en la superficie de placas de agar Inositol-verde brillante-sales biliares (IBB) y de agar *Plesiomonas* (PL) (16). Paralelamente, al menos 100mL de muestra fueron filtrados a través de una membrana Millipore de 0.45µm (Millipore Corp, Bedford, MA, USA) (17); la membrana se colocó en agua peptonada alcalina (pH 8,6) 24h a 35°C para efectuar un enriquecimiento (18). Posteriormente se procedió al aislamiento en la superficie de las placas de los agares selectivos mencionados. Las placas fueron incubadas a 35-37°C por 24-48 h. *Plesiomonas shigelloides* forma colonias blanquecinas o rosadas en el agar IBB y colonias rosadas rodeadas de un halo rosado en el PL. Las colonias sospechosas fueron transplantadas a tubos con agar tres azúcares hierro (TSI) y al medio inositol gelatina. En este último, *Plesiomonas* toma el medio amarillo y no hidroliza la gelatina. En el TSI, produce una reacción ácida/alcalina sin gas ni sulfuro de hidrógeno. Estos cultivos que mostraron reacciones típicas, fueron sometidos a la prueba de oxidasa. *Plesiomonas* es oxidasa positiva. Se llevaron a cabo, en forma paralela, controles positivos y negativos. Conforme sugieren Koburger y Wei (20), se utilizaron como cultivos de referencia la cepa de *Plesiomonas shigelloides* ATCC 14029 suministrada por el Dr. Gustavo Barbosa-Cánovas del Food Engineering Program, Washington State University, Pullman, USA y una cepa salvaje suministrada por el Dr. Manuel García, del Animal Research Institute, Food Production and Inspection

FIGURA 2

Efecto estacional en la prevalencia de *Plesiomonas shigelloides*

Branch, Canadá. La prueba de Fischer fue utilizada para establecer si las diferencias atribuidas al efecto estacional eran estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1 se muestra la prevalencia de *Plesiomonas shigelloides* en las muestras analizadas. En la Figura 2 se aprecia el efecto estacional. En la mayoría de los casos *Plesiomonas shigelloides* pudo ser recuperada sólo después de la fase de enriquecimiento, indicando así que este procedimiento puede ser el más indicado para el aislamiento del microorganismo en muestras ambientales donde puede estar presente en bajas concentraciones y está frecuentemente acompañado por una microflora fisiológicamente similar. No se observaron diferencias en los resultados obtenidos con los dos agares selectivos empleados, siendo similar la frecuencia de aislamiento del microorganismo y apreciándose diferencia sólo en la selectividad, pues en el agar PL se presentaron gran número de colonias con características semejantes a las de *Plesiomonas* que fueron luego identificadas como *Pseudomonas* spp. Sin embargo, *Pseudomonas* spp., aunque frecuentemente presentes en agua, pueden diferenciarse rápidamente de *Plesiomonas* mediante la prueba de TSI, (19).

Numerosos estudios han demostrado la presencia de un efecto estacional en la frecuencia de aislamiento del microorganismo así como un aumento de los casos de diarrea durante los meses más cálidos (13,1). En el presente estudio se observa esta tendencia, habiéndose presentado una mayor incidencia durante Abril/Mayo y Junio, meses en que se presenta las temperaturas más altas en la ciudad. Las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$). La incidencia observada en las aguas analizadas demuestra que este sustrato constituye un reservorio importante. Resultados similares han sido apreciados por otros investigadores en diferentes partes del mundo (13,20,21). Las aguas de superficie podrían significar un riesgo para la salud pública cuando son utilizadas con fines recreacionales o para el riego de vegetales y hortalizas que son consumidos en forma cruda.

RECONOCIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela. Los autores agradecen la colaboración del personal de la Planta de Tratamiento de Agua de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela por su valiosa ayuda en la captación de las muestras.

REFERENCIAS

1. Arai, T., N Ikejima, I.Ito, S. Sakai, T. Shimada and R. Sakazaki. A survey of *Plesiomonas shigelloides* from aquatic environments, domestic animals, pets and humans. *J. Hyg. Camb.* 4:203-211,1980.
2. Pitarangsi, C., P. Echeverria, R. Whitmire, C. Tirapat, S. Formal, G.J. Dammin., and M. Tingtalapong. Enteropathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides*: prevalence among individuals with and without diarrhea in Thailand. *Infect. Immun.* 35:666-673,1982.
3. Richard, C.,M. Lhuillier, and B. Laurent. *Plesiomonas shigelloides*: une vibronacée enteropathogene exotique. *Bull. Inst. Pasteur* 76:187-200,1978
4. Vandepite, J.A. Makulu, and F. Gatti. *Plesiomonas shigelloides*: survey and possible association with diarrhoea in Zaire. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.* 54:503-513, 1974
5. Dahm, L.J. and A.G. Weinberg. *Plesiomonas (Aeromonas) shigelloides* septicemia and meningitis in a neonate. *Southern Med. J.* 73:393-394, 1980.
6. Gordon, D.L., C.R. Philpot and C Mc Guire. *Plesiomonas shigelloides* septic arthritis complicating rheumatoid arthritis. *Aust. N.Z. J. Med.* 13:275-276, 1983.
7. Humphrey, H., B. Keogh. and C.T. Kiane. Septicemia and pleural effusion due to *Plesiomonas shigelloides*. *Post. Med. J.*62:663-664,1986.
8. Billiet, J. S. Kuypers, S. Van Lierde, and J. Verhaegen. *Pseudomonas shigelloides* meningitis and septicaemia in a neonate: report of a case and review of the literature *J. Infect.* 19:267-271, 1989
9. Janda ans S. Abbot. Expression of Hemolytic Activity by *Plesiomonas shigelloides*. *J. of Clin. Microbiol.* 31:1206-1208,1993.
10. Ferguson, W.W. and N.D. Henderson. Description of strain C27: A motile organism with the major antigen of *Shigella sonnei* phase I.J. *Bacteriol.* 54:179-181,1947.
11. Cooper, R.G. and G.W. Brown *Plesiomonas shigelloides* in South Australia. *J Clin Pathol.* 21:715: 715-718, 1968.
12. Ruimy R., V. Breittmayer, P. Elbaze, B. Lafay, O. Boussemart, M. Gauthier, and R. Christen. Phylogenetic Analysis and Assessment of the Genera *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, and *Plesiomonas* deduced from small-subunit rRNA sequences. *Int J. Syst. Bacteriol.* 44:416-426, 1994.
13. Tsukamoto, T., Y. Kinoshita, T. Shimada and R. Sakazaki. Two epidemics of diarrhoeal disease possibly caused by *Plesiomonas shigelloides* *J. Hyg. Camb.* 80:275-280. 1978
14. Bhat, P.S. Shanthakumari and D. Rajan The characterization and sinificance of *Plesiomonas shigelloides* and *Aeromonas hydrophila* isolated from an epidemic of diarrhea. *Ind. J. Med. Res.* 62:1051-100, 1974.
15. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater. American Public Health Association, Washigton, D.C. 1985.
16. Miller, M.L. and J.A. Koburger *Plesiomonas shigelloides*: an opportunistic food and waterborne pathogen. *J. Food Protect.* 48:449-457, 1985
17. Seidler, R.J., D.A. Allen , H. Lockman, R.R. Colwell, S.W. Joseph and O.P. Daily. Isolation, enumeration, and characterization of *Aeromonas* from polluted waters encountered in diving operations. *Appl Environ. Microbiol.* 39:1010-1018,1980.
18. Von Graevenitz, A. and C. Bucher. Evaluation of differential and selective media for isolation of *Aeromonas* and *Plesiomonas* spp. from human feces. *J. Clin. Microbiol.* 17:16-21,1983.
19. Jeppesen, C. Media for *Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides* and *Pseudomonas* spp from food and environment. *Int. J. Food Microbiol.* 26:25-41, 1995.
20. Koburger, J. A and Ch. I Wei. *Plesiomonas shigelloides*. En: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washigton D. C. 1992.
21. Abbey, S. D., N.P. Emerinwe, M. Phill, E. N. Amadi. Ecological survey of *Plesiomonas shigelloides*. *J. Food Protect.* 444-446, 1993.

Recibido: 09-08-1996

Aceptado: 08-10-1996

Characterization of yellow rice and development of instant flours by hydrothermal process

F. Martinez-Bustos¹, Delgado L. L², Victorio, M.G³ and Morales S. E⁴

Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas, C. P. 76010, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro. Mexico.

SUMMARY: Commercial brown and yellow milled rice submitted to inappropriate storage conditions were characterized and utilized to develop instant flours that were used in the preparation of atoles. The grains were classified as long-thin; the average size was 2.13 x 6.79 mm. The milling yields obtained in laboratory with paddy rice were 70% brown rice and 60% milled rice. Brown rice and yellow milled rice had similar amylose contents, 22.5 and 25.6% respectively. Gel consistency was soft with low gelatinization temperature (63-68°C) for both samples. Field fungi, such as *Helminthosporium oryzae*, and storage fungi, such as *Aspergillus* spp, were present in paddy, yellow milled and commercial rice. The fungus *Helminthosporium oryzae*, *Aspergillus* spp, and *Penicillium* spp were not present in instant flours. Instant flours were prepared by soaking the grain in water, and then steaming, drying and milling it. The highest values for water absorption index were obtained from yellow milled instant rice flour. The color of yellow milled instant rice flour varied from white ("L") to pale yellow (lesser values of "b"). The lower viscosity of the instant flours indicates the breakdown of polymers and reveals that unintact starch granules were not present in instant flours. Protein and ash contents of brown and milled rice were unaffected by hydrothermal process, and the lipid content showed only little changes. Sensory analyses carried out on the atoles prepared with instant flours considered them acceptable, specially for products made from milled yellow rice.

RESUMEN: Caracterización de arroz manchado y elaboración de harinas instantáneas por proceso hidrotérmico. Se caracterizaron arroz integral y pulido manchados por condiciones ambientales y/o inadecuadas de almacenamiento. Estos materiales fueron utilizados como materia prima para la elaboración de harinas instantáneas, que se utilizaron en la preparación de atoles. Los granos fueron clasificados como largos-delgados, con un tamaño promedio de 2.13 x 6.79 mm. Los rendimientos obtenidos en la molienda experimental a partir de arroz palay fueron de 70% en el descascarado y 60.33% en el pulido total. Arroz integral y arroz pulido manchados presentaron contenidos similares de amilosa, con valores de 22.5 y 25.6 respectivamente. La consistencia de gel fue blanda o baja, con una temperatura baja de gelatinización (63-68°C) para ambas muestras. En arroz palay, integral y pulido manchados se registraron la presencia de hongos de campo como *Helminthosporium oryzae* y hongos de almacén como *Aspergillus* spp. En harinas instantáneas no se registró la presencia de estos hongos. Las harinas instantáneas fueron preparadas por maceración del grano en agua a temperatura ambiente, tratamiento con vapor en autoclave, secado y molienda. Las harinas instantáneas obtenidas de arroz pulido manchado presentaron los más altos valores de índice de absorción de agua y presentaron un color blanco amarillento pálido y con un color más blanco en relación a las harinas instantáneas de arroz integral manchado, debido a la remoción del pericarpio. Los bajos valores de viscosidad en harinas instantáneas indicaron una hidrólisis completa de los gránulos de almidón. El proceso hidrotérmico evaluado no afectó los contenidos de proteína y cenizas, afectando ligeramente el contenido de lípidos. La evaluación sensorial de los atoles preparados con harinas instantáneas fueron considerados aceptables con mejores valores de aceptación para los atoles de arroz pulido manchado.

INTRODUCTION

Yellow rice are fermented grains resulted from a combination of microbiological and chemical activities triggered by over-exposure of harvested, unthreshed paddy rice in the field to extremely wet environmental conditions that result in overheating of the grain before it is dried. The percentage of yellow grain can be as high as 50%. This affects quality (1). Some of the factors contributing to the high percentage of broken grains are a rapid drying at higher temperature and fluctuating weather condition specially in the humid tropics, which lead to the development of numerous fissures, ultimately resulting in a number of full cracks (1). Yellowing of rice is a common post-harvest problem in some

1. Profesor-Investigador. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Laboratorio de Investigación de Materiales. Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas, C. P. 76010, Universidad Autónoma de Querétaro. Qro. México
2. Investigador y responsable del laboratorio de calidad de arroz. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), Apdo. Postal 10 Chapingo, Edo. de México, México.
3. Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma de Chapingo. Edo de México. C.P. 56230, México.
4. Auxiliar de investigación. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Laboratorio de Investigación de Materiales. Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas, C. P. 76010, Universidad Autónoma de Querétaro, Qro. México.

regions in the humid tropics of the southern Mexico, causing financial losses due to down-grading or rejection. In 1993, 28% of the harvested rice was broken grain and 21% was yellow rice (2). The yellow rice is not of good commercial quality since Mexican consumers prefer milled white rice. This problem cause the storage of large volumes, occupying the storage bins with low priced. Yellow rice is commonly used in the animal feed or brewing industries. In Mexico, a very popular beverage named atole, is frequently prepared from rice flour (3). Manufacturing processes for precooked cereal have been reported using doubledrum atmospheric dryer; however, the rheological properties of the slurry are difficult to control, and they affect the drying operation to a much higher degree than any other factor involved (4). The basic principle to obtain instant flour is soaking the grain in water, and then steaming, drying and milling it. Instant flour can be produced with a wide assortment of functional properties as water absorption capacity, water solubility capacity and viscosity properties in aqueous medium, depending on the inherent properties of the varieties and types used, pretreatment of the grain or flour before use (5). Hydrothermal process is a significant source of modified rice flours, which offers potential for instant drinks, baby foods, formulated foods and new and traditional baked products (6). The objective of this research was to characterize brown and yellow milled rice and elaborate instant flours by hydrothermal process.

MATERIAL AND METHODS

Rice samples. Paddy and yellow milled rice from humid zones (Campeche State, Spring-Summer 1989), were used in this study. Sinaloa A-80, Campeche and a mixture of commercial varieties were used as control.

Grain classification. Yellow milled rice was classified for grain size, shape and milling quality following the method of Adair et al (7). The grains were classified as long-thin with an average size of 2.13 mm x 6.79 mm. The protein, ash and lipid contents were 7.9, 1.2 and 2.3% for brown rice and 7.7, 6.0, and 7.0% for milled rice, respectively. These values are within the range reported by Juliano and Bechtel (8) to paddy rice and its milling fractions. Yellow milled rice grain was classified as long grain (81.45%), medium grain (6.9%), short grain (11.3%), seeds (0.25%), and dust (0.1%). The yield of milled long grain can be considered satisfactory. However the yellowish color of some grains would be a factor for rejection in bins or rice industries. This type of coloration is considered as damage rice.

Mycological analysis. The analysis were performed as described by Phillips et al (9). Rice samples were surface sterilized in sodium hypochlorite followed by rinsing in sterile distilled water and dried. The following media were used: potato dextrose agar (PDA), yeast extract agar (YXT) and MY40 (10). Chloramphenicol was added to PD and YXT to inhibit the growth of bacteria and rose bengal to restrict the growth of *Mucorales*.

TABLE 1
Cooking quality of rice

Rice samples	Amylose content (%)	Gel consistency mm	Grade	Gelatinization temperature °C
Yellow milled	22.2	soft	79	7 63-68 low
Brown	22.2	soft	102	7 63-68 low
Sinaloa A-80*	22.2	Medium	64	5 69-73 Intermediate
Campeche*	25.6	Medium	50	7 63-68 low

means, n=3
* controls

TABLE 2
Percentage of rice grains infected with fungi

Rice samples	Percentage of grains infected with individual fungi		
	<i>Aspergillus</i> ssp	<i>Helminthosporium oryzae</i>	<i>Penicillium</i> spp
Paddy	5	4	-
Brown	6	7	-
Yellow milled	3	9	-
Instant flours	-	-	-

Means, n=20

TABLE 3
Water Absorption Index (WAI) Water Solubility Index (WSI) and color of rice samples

Rice sample	WSI (g/g of dry sample)	WAI (% of dry sample)	Color		
			L	a	b
Brown rice	3.02c	2.81f	78.90e	0.67e	12.93e
Yellow milled	3.00c	2.76f	86.80a	0.40f	11.90g
Instant flours					
Brown rice (1min)*	8.06ab	4.44c	71.90f	1.43c	16.57b
Brown rice (5 min)	8.85a	4.00d	71.17f	1.47b	16.57b
Brown rice (15 min)*	9.19a	3.64e	78.37e	2.17a	17.60a
Yellow milled rice (1min)	8.64a	4.55c	81.70c	0.30g	14.26d
Yellow milled rice (5 min)	7.26b	6.47a	84.90b	1.03d	15.40c
Yellow milled rice (15 min)	8.17ab	5.02b	79.17d	0.40f	12.30f

N=3

Values with the same letter are not significantly different within each column at P<0.05. *Processing time in autoclave

Plates were incubated at room temperature (28-32°C) for 5-7 days. The mold growth in the rice was observed using a hand lens (x 10) and a high-power microscope (x 400).

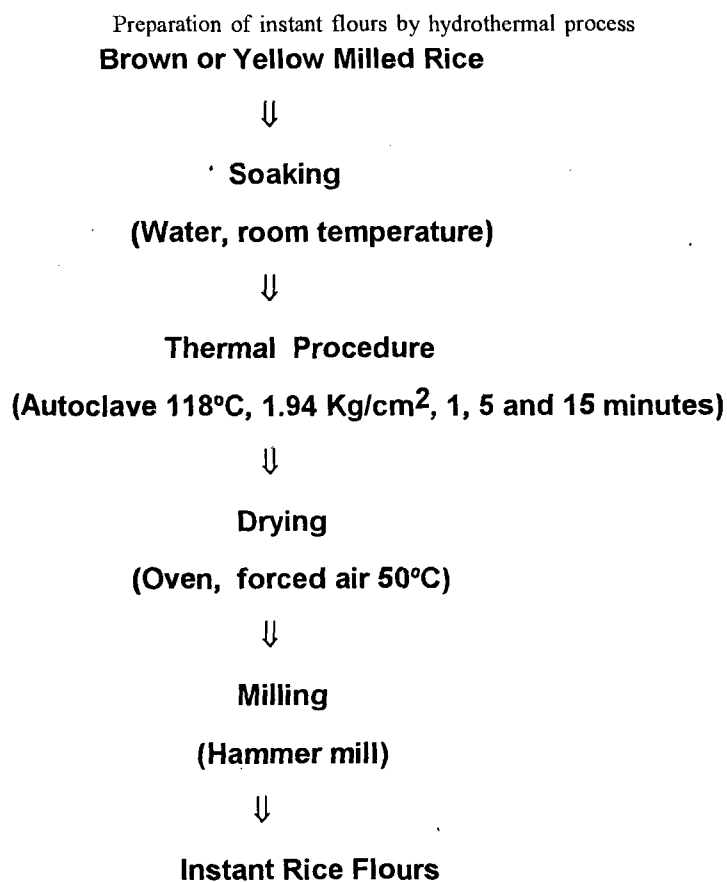
Cooking and processing quality. Gelatinization temperature (GT) was determined with the method of Little et al (11). Six

grains of milled rice were incubated in KOH at room temperature for 23 h and the degree of spreading measured using a seven-point scale as follows: 1, grain not affected; 2, grain swollen; 3, grain swollen, collar incomplete and narrow; 4, grain swollen, collar complete and wide; 5, grain split or segmented, collar complete and wide; 6, grain dispersed, merging with collar; and 7, grain completely dispersed and intermingled. Alkali spreading values correspond to GT as follows; 1-2, high (74.5-80°C); 3, high-intermediate; 4-5, intermediate (70-74°C); and 6-7, low (<70°C).

Amylose content was determined following the iodine colorimetric method of Juliano et al (12). Milled rice flour was dispersed in NaOH overnight at room temperature followed by iodine colorimetry.

Gel consistency was determined as described by Perez et al (13). Milled rice flour was wetted with ethanol containing bromthymol blue in culture tubes in KOH, using a vortex mixer. The tubes were covered with glass marbles and placed for 8 min in a boiling water bath. The tubes were removed for 5 min, mixed again and cooled in an ice-water bath for 20 min. The cooled tubes were laid horizontally over ruled graph paper and the gel length was measured after 1 h. The gel consistency values were classified as soft (61-100 mm) (41-60 mm), or hard (26-40 mm).

FIGURE 1



Water uptake. Two Kg of each sample (brown and yellow milled rice) were placed into a plastic vessel with 12 L of water at room temperature and it was determined moisture content of the samples each five minutes, according to the AACC method No. 44-18, (14).

Hydrothermal process. Instant flours were obtained according to the process developed by Martinez and El Dahs (5) and showed in Figure 1. The samples were lifted manually in baskets into an autoclave and steamed at 118°C, 1.94 Kg/cm², during 1,5 and 15 minutes. After steaming the gelatinizes grains contains around 30% moisture content were oven dried with forced air at 50°C. After rice was gelatinized and air-dried, it was milled using a hammer mill.

Preparation of atoles (instant rice flour drink). Instant rice flour (30 g of each sample) was mixed with 500 ml distilled water, 25 ml milk, 0.2 g cinnamon powder and 25 g of sugar. The mixture was heated during 3 min. and placed into seven thermal cups to be judged by the sensorial panel.

Chemical analysis. Moisture content, protein (N x 5.95), and ash were determined by AACC methods (13); lipids content was determined using the method of Blich and Dyer (15).

Physical analysis. Flour color were measured with a Hunter Lab Color Difference Meter (Hunter Association, Inc, Fairfax, VA) equipped with a signal processor (Model D25-2) and an optical sensor (Model D25) (16). Water absorption (WAI) and water solubility indexes (WSI) of the flour were determined following the method of Anderson et al (17). Paste viscosity characteristics were measured with the Viscoamlograph according with the AACC method (14).

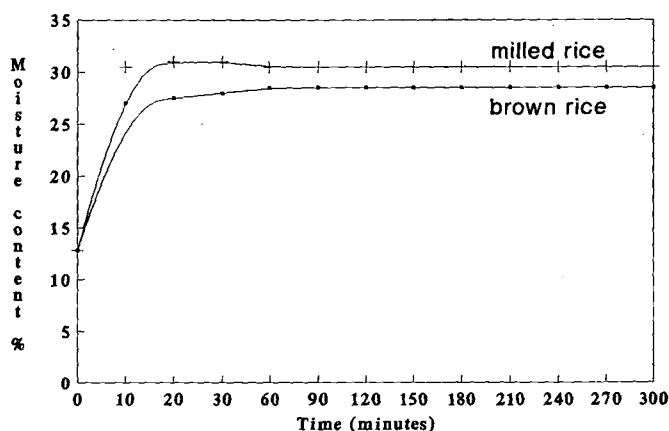
Sensory analysis. The products were evaluated by a trained seven-member panel with seven fittings for each sample. The products evaluated were prepared under six treatments consisting of two factors (brown and milled rice), and three times of hydrothermal treatment (1,5, and 15 minutes). Acceptability, texture, color, consistency, and aroma-flavor were the attributes evaluated in atoles.

Statistical analyses. Analysis of the treatments analysis was carried out using a random design with a factorial arrangement 3 x 2, and the Duncan's test. The attributes evaluated by the panel was subjective and for that reason a comparative (hedonic) scale was used with a modification in the interval scale according to the Larmond method (18), as well as a Duncan's test.

RESULTS AND DISCUSSION

Milling quality. The milling potential of the paddy rice largely determines the performance of a rice mill in terms of milled rice recovery and quality. Milling yields is one of the most

FIGURE 2
Water uptake of rice

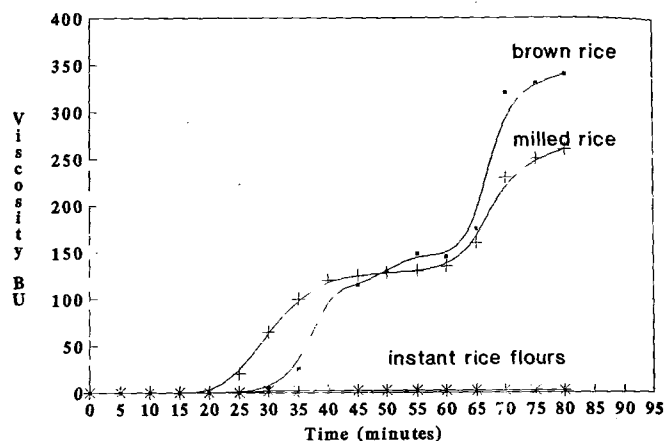


important criteria of rice quality. The milling yields obtained in laboratory from paddy rice were 70% for brown rice and 60.33% for milled rice, considering seeds and empty grain that remained together with hulls in the step of milling, these yields are not acceptable since they were lower than 68%, that recommended by official standards (2).

Cooking quality. The cooking quality values of rice are shown in Table 1. The cooking quality of rice is determined by the uses and costumes of the consumers, its physicochemical properties, and the industrial uses for which it is destined. Amylose content is considered the single most important characteristic for predicting rice cooking and processing behavior (19). Brown and yellow milled rice showed similar amylose contents, and, those contents are within the value range established for the controls Sinaloa A-80 and Campeche varieties with 22.2 and 25.6% respectively. Amylose is a component of starch granule and it is an important factor in rice cooking quality related to cohesively, texture and appearance. Gel consistency values for both samples (brown and yellow milled rice) showed a soft consistency with higher values to brown rice than for the control. These results were similar to those reported by Perez et al (20) for four varieties of long grain, non waxy milled rice. During the gelatinization temperature test, the rice grain starts to absorb water and swells. The value obtained was 7, similar to Campeche variety with grains completely disintegrated in white solution. The gelatinization temperatures of brown and yellow milled rice were low (63-68°C). This means that those samples are cooked in a short time with small quantities of water. Similar values were reported by Biliaderis et al (21).

Molds. In Table 2 are shown the percentages of rice grains infected with fungi. Numerous microbes cause deterioration of grain, provided suitable conditions for their grown. Perhaps the most common of these are various fungi. These are often classified as field fungi and storage fungi. The principal economic damage caused by fungi is discoloration of grains.

FIGURE 3
Viscosity of rice



Field fungi such as *Helminthosporium oryzae*, and storage fungi such as *Aspergillus* spp were present in paddy, milled yellow and commercial rice. These fungi are the causal agents of the disease «brown spot» (22). Field fungi are usually pathogenic organism that cause plant diseases. Recently harvested rice can contain numerous spores of species from this group, but in storage these tend to die out over time (22). Phillips et al (9) reported that fungi isolated from yellow milled grains were similar to those found in normal white grains. The fungus *Helminthosporium oryzae*, *Aspergillus* spp, and *Penicillium* spp were not present in instant flours (Table 2). It is well known that fungi are capable of causing discoloration of rice (23) but it is often difficult to associate a specific discoloration with its causal agent (24). Fungal spores are present in all harvested grain, and there is no method known for removing or excluding them. These spores germinate and grow only in warm, moist environments (22).

Water uptake. The water uptake for both grains brown and yellow milled rice was done by soaking them in water at room temperature until they reached the equilibrium moisture content of approximately 30% (Figure 2). The rice grains initially absorbed water rapidly up to 27% and 30.5% in ten minutes, and the water uptake stabilized at 28.5 and 30.5% respectively after 60 minutes. When the grain is soaked at temperatures of 60°C or less, the equilibrium moisture content under these conditions does not exceed 30% (25). For hydration from 13 to 30% moisture, the increase in grain volume is about 30% for brown rice (26). Brown and yellow milled rice showed similar behavior during water uptake, however, yellow milled rice showed higher water uptake than brown rice. Bhattacharya et al (26) reported similar findings and cited that bran layer presented in brown rice act as a barrier to hydration.

Characteristics of instant flours. Water absorption index depends on the availability of hydrophilic groups that bind water molecules. WAI and WSI were lower for raw rice flours and maximum for instant flours (Table 3). The instant flours

showed no significant differences in WSI except for instant flour elaborated with 5 minutes of thermal treatment. The WSI values were increased as the processing time was increased. The highest values for WAI were obtained with flours from yellow milled rice. Increases in water solubility and reductions in water absorption suggest a progressive degradation of starches. Water suspension of rice meals from instant flours showed good dispersion with a minimum tendency to form agglomerates, indicating that high quantities of molecules were soluble, originated for a high degree of starch gelatinization during the hydrothermal process.

Further evidence of the breakdown of carbohydrates is presented in Figure 3. The viscosity of brown and yellow milled rice showed typical viscosity curve of raw rice. Viscosity yield began at 55 and 60°C, and peak viscosity was reached at 85°C and 90°C and setback was 260 and 340 Brabender Units for yellow milled and brown rice respectively. These values are characteristics of rice with soft gel consistency and intermediate gelatinization temperature (27). Similar findings were reported by Pérez and Juliano (28) and Merca and Juliano (29). The lower viscosity of the instant flours indicates the breakdown of polymers and reveals that undamaged starch granules were not present in the instant flours. The swelling of the starchy endosperm during gelatinization completely heals the preexisting defects. As a result, breakage is not just reduced but virtually eliminated.

Brown and yellow milled rice were characterized by a white color deepening to pale yellow (lesser values of «b») with better values of «L» for yellow milled rice due to bran removal (Table 3). After the hydrothermal process white («L») color values were decreased significantly and yellow («b») color values increased significantly ($P > 0.05$). The processing conditions during hydrothermal process determine the intensity of the color. Mild conditions of soaking and yield a light color, whereas severe conditions lead to deeper discoloration. Rice was slightly discolored by the hydrothermal process, a light yellow or amber. These color changes can be resulted from heat treatment, chemical changes, the pigments of the outer layers and microbiological activities.

Proximate composition of rice flours. Rice provided 20% of the per capita energy and 13% of the protein for human consumption worldwide (30). Management and cultural practices have a major influence on the protein content of rice grain (31). Protein and ash contents of brown or milled rice were unaffected by hydrothermal process and the lipid content showed only little changes (Table 4). The protein content of brown rice was higher than yellow milled rice. Brown rice has a higher nutrient content, based on its higher protein content, higher lysine content of protein, and higher vitamin and mineral content, than milled rice (32). These values for brown rice are within the range reported for 17,587 cultivars in the world collection at the International Rice Research Institute (IRRI) ranged from 4.3 to 18.2% with a mean of 9.5% (33). The lipid content of yellow milled rice was lesser than brown rice, simi-

TABLE 4
Proximate composition of instant flours from brown and yellow milled rice prepared by hydrothermal process

Rice samples	Protein (%)	Ash (%)	Lipids (%)
Yellow milled rice	7.7b	0.61b	0.67c
Brown rice	7.9a	1.21a	2.3a
Instant flours			
Brown rice (1 min)*	7.9a	1.23a	2.2b
Brown rice (5 min)*	7.9a	1.22a	2.3a
Brown rice (15 min)*	7.9a	1.23a	2.3a
Yellow milled rice (1 min)*	7.7b	0.60b	0.65c
Yellow milled rice (5 min)*	7.7b	0.62b	0.66c
Yellow milled rice (15 min)*	7.7b	0.67c	0.65c

At 14% moisture content, n = 3.

Values with the same letter are not significantly different within each column at $P < 0.05$

*Processing time in autoclave

TABLE 5
Sensory evaluation acceptability scores for atoles from instant rice flours

Atoles	General appearance	Texture	Color	Consistency	Aroma-Flavor
Brown rice (1 min)*	0.2884b	0.3312bc	0.2341b	0.1810b	0.0569b
Brown rice (5 min)*	0.2788b	0.3163bc	0.2090b	0.2373b	0.1282b
Brown rice (15 min)*	0.3063b	0.2820c	0.1651b	0.1924b	0.1463b
Yellow milled rice (1 min)*	0.7304a	0.5994a	0.4733a	0.5059a	0.5561a
Yellow milled rice (5 min)*	0.7482a	0.6031a	0.4784a	0.4620a	0.4353a
Yellow milled rice (15 min)*	0.6514a	0.5106ab	0.5043a	0.3484ab	0.5198a

Values with the same letter are not significantly different within each column at $P < 0.05$

*Processing time in autoclave

lar trends were obtained by Taira and Hiraiwa (34) with ranges from 2.3 to 2.9 and from 0.6 to 1.2 for brown and milled rice respectively. Changes in the composition of lipids can be due to degree of milling. Sondi et al (35) showed that the oil content of parboiled brown rice remains virtually unchanged at various degrees of milling irrespective of the conditions of soaking and steaming.

Sensory analysis. The descriptive sensory analysis used in this study provides a basis for determining the sensory characteristics affecting the acceptability and processing va-

riables. Specific ingredient or process variables could be related to specific changes in the sensory characteristics of a product. The results of the descriptive sensory analysis of six samples of atoles prepared with instant flours processed under different conditions are reported in Table 5. The variable type of rice did have a significant effect on the acceptability scores. Atoles prepared with instant flours brown and yellow milled rice showed good acceptance with better acceptance for atoles from yellow milled rice. The instant flours were easily reconstituted with milk, with a minimum lump. The atoles prepared from milled rice with 5 minutes of processing had a better appearance, and color than, the other samples. The consistency and aroma-flavor of atoles from yellow milled rice processed during 1 minute were judged better and did not differ significantly from the other samples of yellow milled rice. Color is also an important quality characteristic of instant flours and food products. Statistical analysis of the sensory data indicated that the higher color values were obtained with atoles from yellow milled rice compared to atoles from brown rice. These results showed that hydrothermal process is an excellent mean of salvaging any rough rice that has been damaged by drying, weathering, or wetting. Also harvesting paddy rice at an optimum time, so important for milling raw is not important if it is desired for cooking.

CONCLUSIONS

The milling, cooking and processing quality of yellow milled rice was considered acceptable for preparation of instant flour to be used in atole elaboration. The hydrothermal process was effective in eliminate *Helminthosporium oryzae*, *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp initially present in paddy, yellow milled and commercial rice. The process evaluated unaffected the protein showed good characteristics of IAA, degree of gelatinization and color. The atoles from instant flours were judged acceptable by the panel members, with better acceptance for atoles from milled rice. The good characteristics of atoles from brown or yellow milled rice suggest that instant flours offers potential for instant drinks and its products not suffer from the presence of fermented grains.

REFERENCES

1. Van Ruiten H.T.L. Rice milling: an overview. En Rice: Chemistry and technology. Bienvenido O Juliano (Ed) American Association of Cereal Chemists, Inc St Paul, Minn, 349-401, 1985
2. INEGI. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Abasto y comercialización de productos básicos. Arroz. Secretaría de Programación y Presupuesto. México, 1-132, 1994.
3. Kelli V.J. Rice in infant foods. En Rice: Chemistry and technology. Bienvenido O Juliano (Ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc St. Paul, Minn, 525-537, 1985.
4. Charm S.E. The fundamentals of food engineering. Avi Publ Co, Westport, CT, 1963.
5. Martínez B.F. & El-Dahs A. Elaboration of instant corn flour by hydrothermal process. I. Arch Latin Nutr, 43:310-315, 1993.
6. Martínez B.F. & El-Dahs A. Effect of addition of instant corn flour in rheological characteristics of wheat flour and breadmaking. III. Arch Latin Nutr, 43:321-326, 1993.
7. Adair C.R., Bollich C.N., Bowman D.H., Jodon N.E., Johnston T. H., Webb B.D. & J.G. Atkins. Rice breeding and testing methods in the United States. En: Rice in the United States: Varieties and production. Handbook 289 (rev.). US Dep Agric, Washington, DC, 22-75, 1973.
8. Juliano B.O. & Bechtel D. B. The rice grain and its gross composition. En: Rice: Chemistry and technology. Bienvenido O Juliano (Ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc St Paul, Minn, 7-57, 1985.
9. Phillips S., Widjaja S., Wallbridge A. & R Cooke. Rice yellowing during post-harvest drying by aeration and during storage. J Stored Prod Res, 24:173, 1988.
10. Pitt J.Y. Xerophilic fungi and spoilage of foods of plant origin. En: Water relations of food, De. Duckworth P. B. Academic Press, London, UK, pp 273-307, 1975.
11. Little R.R., Hilder G.B., & Dawson E.H. Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. Cereal Chem, 35: 111-126, 1958.
12. Juliano B.O., Perez C.M., Blakeney. A. B., Castillo T.D., Kongseree N., Laignelet B. Lapis E.T., Murty V.V.S., Paule C.M. & B.D. Weber. International cooperative testing on the amylose content of milled rice. Staerke, 33:157-162, 1981.
13. Perez C.M., Pascual C.G. & B.O. Juliano. Eating quality indicators for waxy rice's. Food Chem, 4:179-184, 1979.
14. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the AACC, 8th ed. The Association. St Paul, MN, 1983.
15. Bligh E.C. Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Bioch, 37:911-913, 1959.
16. Hunterlab. Manual instruction, model D-25 L-2, Reston, Virginia, USA, 1975.
17. Anderson R.A., Conway H.F., Pfeifer U.F. & Griffin E.L. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion-cooking. Cereal Sci Today, 14:4-7, 11-12, 1969.
18. Larmond E. Laboratory methods for sensory evaluation of food. Research Branch Canada. Department of Agriculture. 1637. Ottawa, Canada, 1982.
19. Juliano B.O. Amylose analysis in rice-A review. En: Proc Workshop on chemical aspects of rice grain quality. Int Rice Res Inst, Los Baños, Laguna, Philippines, 29 pp, 1979.
20. Perez C.M., Villareal C.P., Juliano B.O. & Biliaderis C.G. Amylopectin-staling of cooked non waxy milled rices and starch gels. Cereal Chem, 70:567-571, 1993.
21. Biliaderis C.G., Tonogai J.R., Perez C.M. & Juliano B.O. Thermophysical properties of milled rice starch as influenced by variety and parboiling method. Cereal Chem, 70:512-516, 1993.
22. Cogburn R.R. Rough rice storage. En: Rice: Chemistry and technology. Bienvenido O Juliano (Ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc St Paul, 265-287, 1985.
23. Tullis E.C. Fungi isolated from discolored rice kernels. Tech Bull USDA, No. 540, 12pp, 1936.
24. Ou S.H. Rice Diseases Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, 289-309, 1972
25. Bhattacharya K.R. Parboiling of rice. En: Rice: Chemistry and technology. Bienvenido O Juliano (Ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc St Paul, Minn, 289-348, 1985.
26. Bhattacharya K.R, Sowbhagya CM & Indudham Swamy Y.M. Some physical properties of paddy and rice and their interrelations. J Sci Food Agric, 23:171-186, 1972.
27. Juliano B.O. Properties of rice starch in relation to varietal differences in processing characteristics of rice grain. J Jpn Soc Starch Sci, 29:305-317, 1982;
28. Perez C.M. & Juliano B.O. Indicators of eating quality for non-waxy rices. Food Chem, 4:185-195, 1979.
29. Merca F.E. & Juliano B.O. Physicochemical properties of starch of intermediate-amylose and waxy rices differing in grain quality. Staerke, 33:253-260. 1981.
30. Herdt R.W. & Palacpac A.C. World rice facts and trends. Dept of

- Agric Econ Inst, Los Baños, Laguna, Philippines, 41 pp, 1983.
31. De Datta S.K., Obcemea W.M. & Jana R.K. Protein content of rice grain as affected by nitrogen fertilizer and some triazines and substituted ureas. *Agron J*, 64:785-788.
 32. Bechtel B.D. The rice grain and its composition. En: *Rice: Chemistry and technology*. Bienvenido O Juliano (Ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc St Paul, Minn, 17-57, 1985.
 33. Gomez K.A. Effect of environment on protein and amylose content of rice. En: *Proc Workshop on chemical aspects of rice grain quality*. Int Rice Res Inst, Los Baños, Laguna, Philippines, 59-68, 1979.
 34. Taira H. & Hiraiwa S. Lipid content and fatty acid composition of brown rice and its milled rice of glutinous mutant. *Nippon Sakumotsu Gakkai Kiji* 51: 159-164, 1982.
 35. Sondi A.B., Reddy I.M. & Bhattacharya K.R. Effect of processing conditions on the oil content of parboiled-rice bran. *Food Chem*, 5:227-282, 1980.

Recibo: 01-12-1995

Aceptado: 04-11-1996

Desarrollo y evaluación de una fórmula para niños con diarrea a base de auyama, arroz, pollo y aceites vegetales

Blanca D. Hernández Ramírez y Marisa J. Guerra Modernell.

Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar. Apartado 89.000. Caracas. Venezuela

RESUMEN.- En Venezuela las diarreas continúan siendo una de las principales causas de morbi-mortalidad en niños menores de cinco años. Cuando el niño alcanza grados de deshidratación grave, es hospitalizado y luego de rehidratado, la terapia que ha dado mejores resultados es la realimentación, para lo cual se usan fórmulas importadas que son muy costosas (25-40 \$/Kg), por este motivo se han elaborado fórmulas dietéticas usando materia prima nacional. Tomando en cuenta experiencias anteriores se desarrollaron 4 fórmulas a nivel de laboratorio a base de auyama- arroz (harina cruda, harina precocida, maltodextrina) y auyama-hidrolizado de ocumo como fuente de hidratos de carbono, pollo como fuente de proteínas y aceites vegetales como fuente de lípidos. De estas fórmulas se seleccionó en base a sus características físico-químicas, funcionales, sensoriales y de costo, la fórmula elaborada con auyama y harina precocida de arroz para ser producida a nivel de planta piloto. La fórmula reconstituida al 18% suministra 0.8 Kcal / mL, 3.93g de proteína/100 Kcal, 3.81 g de grasa/100 Kcal y tiene 161 mOsm/Kg de agua. La relación energía/ proteínas es de 134.21. La fórmula resultó de 14 a 68% más económica que productos similares del mercado. El producto reconstituido fue probado y aceptado por niños, menores de 5 años, hospitalizados (10 niños) y a nivel de comunidad (26 niños) recuperándose de la diarrea en ambos casos. Se concluye que la fórmula desarrollada tiene todos los nutrientes necesarios para utilizarse en la recuperación de niños con diarrea.

SUMMARY.- Development and evaluation of a dietetic formula made of pumpkin-rice-chicken and vegetable oils for children with diarrhea.- In Venezuela diarrhea continues to be one of the main cause of morbidity and mortality in children who are less than 5 years old. When the child reaches severe levels of dehydration, is hospitalized, and then rehydrated. The therapy that has had the most success is the re-feeding, for which imported formulas are used that are very costly (\$38.00/Kg). For this reason, formulas utilizing local resources have been developed. Taking into account past experiences, 4 formulas were developed in the laboratory made of pumpkin-rice (raw flour, pre-cooked flour, maltodextrin) and pumpkin hydrolysed tannia as a source of carbohydrates, chicken as a protein source and vegetable oils as a source of lipids of these formulas and based on its physical-chemical functionality and organoleptic characteristic and on cost the formula with pumpkin-precooked rice flour was selected to be produced as a pilot plant. The formula reconstituted at 18% yields 0.8 Kcal/mL, 3.93 g of protein/100 Kcal, 3.81g of fat/100 Kcal and 161 mOsm/Kg of water. The relation of energy /protein is 134.21. The formula was 14 to 68% more economic than similar products on the market. The reconstituted product was tried and accepted by children 5 years old or younger, who were hospitalized (10 children) and in children from the community (26 children) who were recuperating from diarrhea. It was concluded that the formula has all the nutrients necessary to be used in the recuperation of children affected with diarrhea.

INTRODUCCION

Las enfermedades diarreicas agudas, continúan siendo en los niños la principal causa de morbi-mortalidad en los países en vías de desarrollo y en Venezuela han representado una de las primeras causas de mortalidad en menores de 5 años en la última década (1).

La alimentación durante el episodio diarreico es fundamental para evitar el deterioro nutricional en el niño y una alimentación adecuada mejora el estado de salud del mismo, por esta razón, la OMS recomienda no interrumpir la alimentación durante la diarrea y la Academia Americana de Pediatría sugiere no retrasar la reintroducción de alimentos más allá de 24 horas. Se ha recomendado además utilizar alimentos autóctonos que puedan ser preparados a nivel del hogar tanto para preparar soluciones hidratantes como para alimentar al niño después de la rehidratación. Con base en las recomendaciones de la OMS y conscientes de lo importante que sería

para Venezuela la producción de fórmulas que utilicen materia prima nacional, se han realizado estudios para desarrollar dichas fórmulas las cuales además de presentar buen valor nutritivo, alta digestibilidad, tolerancia, y osmolalidad, y propiedades funcionales adecuadas, sean de fácil adquisición y a costos razonables. Como materias primas se han utilizado auyama (*Cucurbita maxima*), ocumo (*Xanthosoma sagittifolium*), plátano verde (*Musa paradisiaca*), batata (*Ipomea batatas*) o arroz (*Oryza sativa*) como fuente de hidratos carbono, pollo como fuente de proteína, aceite de coco girasol y/o maíz como fuente de lípidos.(2)

Como parte de los estudios realizados, en el presente trabajo, se planteó desarrollar fórmulas a nivel de laboratorio y planta piloto a base de auyama-ocumo y auyama-arroz

1. Asistente de Investigación. Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar.
2. Profesor Titular. Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar.

(maltodextrina, harina precocida y harina cruda) pollo y aceites vegetales. Una vez desarrolladas las fórmulas a nivel de laboratorio, serían evaluadas sus características físico-químicas, sensoriales, funcionales, microbiológicas y se realizaría un análisis preliminar de costos, con el fin de seleccionar la más adecuada para producirla a escala de planta piloto. Se planteó además, obtener y evaluar las harinas de ocumo y/o auyama para preparar la fórmula a nivel de planta piloto. A esta se le evaluaron las características físico-químicas, microbiológicas, nutricionales y análisis preliminar de costo, y de aceptabilidad del producto a nivel de comunidad (3).

MATERIALES Y METODOS

Las materias primas (auyama y ocumo) se adquirieron en mercados locales y las mismas además de las otras materias primas procesadas industrialmente (pollo, harina de arroz, aceites y enzimas) fueron donadas por distintas industrias. Las fórmulas preliminares se obtuvieron en los laboratorios y planta piloto de alimentos de la Universidad Simón Bolívar.

Previo a la obtención de las fórmulas fue necesario procesar la auyama fresca (selección, lavado, pelado químico, cortado, escaldado, secado) para obtener la harina de auyama, de acuerdo al procedimiento esquematizado en la Figura 1. esto se hizo a nivel industrial en una planta procesadora de vegetales.

Para la obtención del hidrolizado deshidratado de ocumo se siguió metodología similar al de la auyama pero incluyendo una hidrólisis enzimática del almidón antes del secado, para la hidrólisis se utilizó la enzima Termamyl 120L de la firma Novo. En la figura 2 se presenta el procedimiento usado.

Desarrollo de las fórmulas a nivel de laboratorio. Se desarrollaron cuatro fórmulas utilizando pollo deshidratado como fuente de proteínas, aceite de coco y mezclas de aceites vegetales como fuente de lípidos y en todas las fórmulas se utilizó como fuente de hidratos de carbono una combinación de harina de auyama con harina de arroz cruda cuando se recomienda su preparación con cocción en el hogar, para hacer la fórmula más económica y con harina de arroz precocida, para hacer la fórmula de preparación rápida y principalmente para utilizarla a nivel institucional, con maltodextrina de arroz de 18 equivalente de dextrosa (DE) o con harina de ocumo hidrolizada de 20 DE, estas dos últimas para facilitar la absorción.

Para desarrollar las fórmulas se consideraron las recomendaciones energéticas para niños de corta edad (4), se estableció un aporte energético total de la fórmula de aproximadamente 500 Kcal/100g (2.09 Kj/100g) de producto, donde la composición de energía fue distribuida como 14% aportada por las proteínas, 35 -40% por las grasas y 46-51% por los hidratos de carbono. En relación al ácido linoleico la cantidad aportada por la fórmula no debía ser menor del 2% de la energía total (5)

Las fórmulas reconstituidas debían suministrar una densidad energética de 67 a 100 Kcal/100mL (0.28 a 0.42 Kj/100 mL

TABLA 1
Ingredientes empleados en las fórmulas desarrolladas nivel de laboratorio

Ingredientes	Fórmulas (g/100g de producto)			
	1	2	3	4
Harina de auyama	17,5	17,5	19	17,5
Harina cruda de arroz	54,5	-	-	-
Harina precocida de arroz	-	54,5	-	-
Maltodextrina de arroz ^a	-	-	41,5	-
Harina hidrolizada de ocumo ^b	-	-	-	52,5
Pollo deshidratado	16,0	16,0	25,0	18,0
Mezcla aceite vegetal	5,0	5,0	4,5	5,0
Aceite de coco	7,0	7,0	10,0	7,0

a. Equivalente dextrosa = 18

b. Equivalente dextrosa = 20

TABLA 2
Composición proximal de las fórmulas desarrolladas a nivel de laboratorio

	Fórmula 1 Fórmula 2 Fórmula 3 Fórmula 4			
	(g por 100g de fórmula) ^a			
Húmedad	6,04±0,02	5,51±0,07	3,26±0,08	2,82±0,04
Proteína bruta	16,46±0,03	16,81±0,05	17,56±0,07	15,57±0,80
Lípidos	16,30±0,11	16,42±0,13	20,89±0,04	16,77±0,10
Cenizas	2,91±1,04	2,99±0,09	3,59±0,02	4,31±0,13
Fibras	1,32±0,08	1,25±0,02	1,22±0,10	1,26±0,07
H. de Carbono ^b	56,97±0,22	57,02±0,36	53,46±0,22	59,28±0,32

^a. Expresados como promedio y desviación estándar

^b. Calculados por diferencia

TABLA 3
Solubilidad, viscosidad, osmolaridad y densidad energética de las fórmulas desarrolladas a nivel de laboratorio.

Fórmula N°	Índice de Solubilidad	Viscosidad ^a	Osmolalidad	Densidad Energética
1	9,67±0,38	28.300	157	79,27
2	15,90±0,14	2.000	161	79,76
3	35,04±0,14	1.915	256	84,99
4	46,16±0,33	1.500	342	81,06

^a Reconstituida al 18%

TABLA 4
Prueba de escala hedónica para evaluar las características de sabor, color y consistencia de las fórmulas seleccionadas

Fórmula	Sabor ^a	Color ^a	Consistencia ^a
1 ^d	5,14 ^b	5,86 ^c	5,64 ^b
2 ^e	5,00 ^b	4,86 ^b	5,43 ^b
3 ^f	5,07 ^b	4,71 ^b	5,79 ^b

^a Los valores señalados son el puntaje promedio obtenido con 14 panelistas. La escala usada fue del 1 al 7 (1=me disgusta mucho 7=me gusta mucho) ^{b,c} Los valores con letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre ellas ($\alpha=0.05$) ^dFórmula a base de harina precocida de arroz ^e Fórmula a base de maltodextrina de arroz

^f Fórmula a base de hidrolizado de ocumo.

TABLA 5
Composición química y contenido de minerales de la fórmula preparada a nivel de planta piloto

	Contenido g/100g)
Humedad	5,69 ± 0,02
Proteína	17,46 ± 0,03
Lípidos	16,94 ± 0,06
Cenizas	3,07 ± 0,03
Fibra Cruda	1,23 ± 0,03
Hidratos de carbono ^a	55,61 ± 0,17
Minerales^b	
Calcio	986,54 ± 47,98
Cobre	583,10 ± 26,71
Cloruro	248,28 ± 0,49
Fósforo	465,67 ± 39,26
Hierro	4,05 ± 0,02
Magnesio	27,94 ± 1,61
Manganeso (mcg)	526,30 ± 0,16
Potasio	448,66 ± 8,78
Sodio	117,74 ± 10,83
Zinc	2,85 ± 0,07
Vitamina A (UI)	2.218 ± 37,21

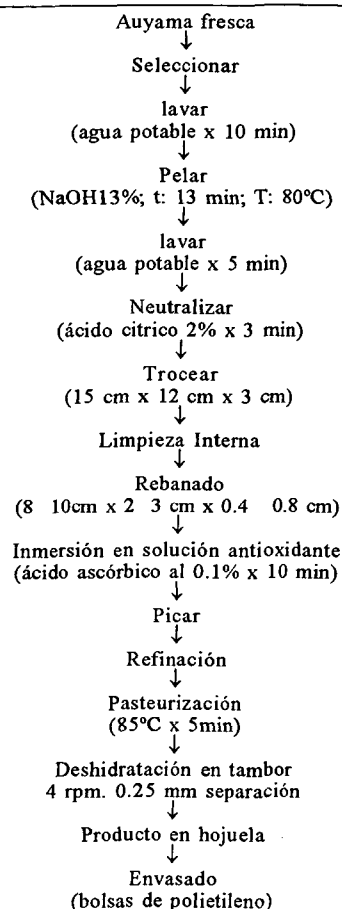
^a Calculados por diferencia

^b En miligramos /100 g salvo cuando se indique otras unidades

(6), se consideró la relación de Energía- Proteínas (E/P) recomendada como ideal para niños, 150±25. La osmolalidad de las formulaciones se ubicó alrededor de 150 a 350 mOsmol/Kg agua (7).

Una vez que se determinaron los ingredientes y las proporciones que se emplearían en cada fórmula, así como también el análisis proximal de los mismos, se prepararon las 4 fórmulas mezclando todos los ingredientes en seco durante 30 minutos a nivel de laboratorio. Estas se evaluaron en cuanto a su calidad físico-química, siguiendo los métodos de AOAC (8), índice de solubilidad en agua (9), osmolalidad (se utilizó un osmómetro Advanced Digimatic Model 3DII), viscosidad (las medidas se hicieron a 45° C con un viscosímetro de torsión Brookfield Synchroelectric), microbiológica (aerobios mesófilos, coliformes totales y fecales, hongos y levaduras, *S. aureus*, *B. cereus* y *Salmonella*) según métodos de la ICMSF (10) y sensorial. Para seleccionar sensorialmente cual de las cuatro fórmulas desarrolladas a nivel de laboratorio era la preferida, se utilizó un panel no entrenado integrado por 14 madres con niños menores de 5 años a quienes se les consultó previamente si estaban dispuestas a dar el alimento a sus hijos. La prueba se hizo previamente con madres y no con niños por que culturalmente la madre suele dar a sus hijos el tipo de alimento que ella consume o que ella considera agradable o apto para su hijo. Se aplicaron 2 pruebas, la primera consistió en aplicar la prueba de ordenamiento (11) con el fin de seleccionar la (s) fórmula (s) de mayor preferencia. La segunda prueba aplicada fue la de escala hedónica (11) para evaluar el grado de gusto o disgusto de las fórmulas previamente seleccionadas en la prueba de rango en cuanto a color, sabor y consistencia. Se usó una escala numérica de 7 puntos (1= me disgusta mucho 7= me gusta mucho). Las fórmulas

FIGURA 1
Procedimiento de obtención de auyama deshidratada

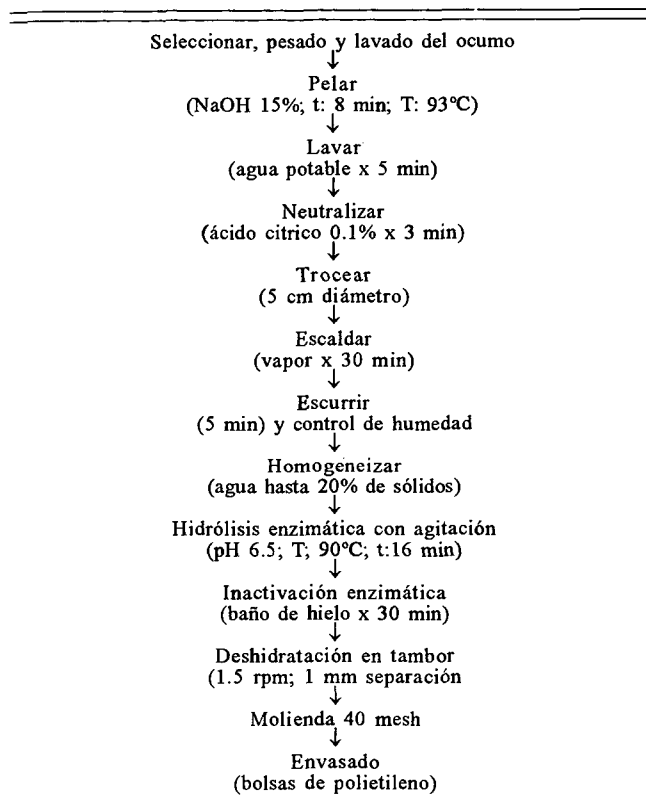


fueron preparadas reconstituyendo el polvo en agua al 18% y servidas a 50° C. Para la prueba de ordenamiento los datos se analizaron por el método no paramétrico de Kramer y para la prueba de escala hedónica los datos fueron evaluados mediante análisis de varianza con posterior comparación de medias por el método de Duncan (11).

Para evaluar las fórmulas reconstituidas se hicieron cuatro diluciones (16, 17, 18 y 20%) a partir de las fórmulas en polvo, con el fin de obtener una densidad energética que cumpliera con el límite recomendado.

Selección de la fórmula definitiva. La selección de la fórmula definitiva se hizo en base a las propiedades físico-químicas, sensoriales y de costo (análisis preliminar) Para determinar el costo preliminar de las cuatro fórmulas desarrolladas a nivel de laboratorio y seleccionar la (s) más económicas (s) se hizo un análisis tomando como base la fórmula que fue preferida por las madres en la prueba de evaluación sensorial, donde además de los costos de materia prima, material de empaque y eficiencia del proceso se consideraron los costos de mano de obra directa, gastos de fabricación, gastos de administración y ventas, costos de recolección, almacén y despacho y un porcentaje de ganancia de 20%.

FIGURA 2
Procedimiento de obtención de hidrolizado deshidratado de ocumo



Para la selección de la fórmula definitiva también se tomaron en cuenta los niveles de minerales recomendados para las fórmulas infantiles (12) para esto se analizó por absorción atómica según AOAC (8) el aporte de calcio, cobre, zinc, manganeso, magnesio, hierro, sodio y potasio. Para la determinación de fósforo se empleó la técnica de espectrofotometría de absorción en el rango visible del espectro (13). La determinación de cloruro se hizo según la norma COVENIN 1193-81 (14).

Se prepararon 100 Kg de la fórmula definitiva a nivel de planta piloto mezclando los ingredientes (primero las harinas y luego los aceites) el producto se empaco al vacío en una máquina empaquetadora marca Holler-Robert Bosch SMBH en sobre laminados (polietileno, aluminio, papel) de 80 a 95g de capacidad y empacados en cajas de cartón corrugado de 24 unidades. Se escogieron sobres para el empacado por la facilidad en el manejo a nivel del hogar e institucional. El producto empacado y evaluado microbiológicamente, funcional y nutricionalmente se liberó para las pruebas de aceptabilidad.

Para evaluar la calidad de la proteína se consideraron los parámetros digestibilidad (in vitro) y el computo aminoacídico. La digestibilidad proteica "in vitro" se determinó por el método de Mc Donough y col (15). En cuanto al cómputo aminoacídico, este método se fundamentó en comparar teóricamente la concentración de cada aminoácido presente en la fórmula con el valor de un patrón aminoacídico de referencia (4).

A la fórmula definitiva también se le determinó el contenido de vitamina A (calculado como caroteno) siguiendo el método de la Asociación de Químicos de Vitaminas (16) modificado por el Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela.

En cuanto a la estabilidad del producto se hicieron pruebas almacenando en estufa de estabilidad (Lam-Line Instruments, Inc.) durante 6 meses a temperatura ambiente. Promedio de Venezuela ($28 \pm 0.5^\circ\text{C}$) midiendo los cambios sensoriales (color y sabor) y microbiológicos durante el tiempo de almacenamiento (17).

Pruebas de aceptabilidad. El producto reconstituido se probó en niños menores de 5 años seleccionados previamente por médicos del comité de salud y con el consentimiento de su representante, a nivel de hospital (con 10 niños) y de comunidad con 26 niños (3) cuando presentaron diarrea, evaluándose la aceptabilidad y tolerancia del producto. Para lo cual se midió el alimento consumido y la presencia de vómitos, así como la disminución de la diarrea y la consistencia de las heces.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se indica la composición porcentual de los ingredientes empleados en las fórmulas preparadas a nivel de laboratorio. La auyama se incluye en un máximo de 19% ya que ésta tiene un alto contenido de azúcares y de potasio los cuales aumentan la osmolaridad limitando su inclusión como ingrediente. Se utilizó el arroz por ser económico, de alta digestibilidad y muy usado por las madres cuando los niños presentan diarrea. En la Tabla 2 se presenta la composición química de las cuatro fórmulas; los niveles de proteínas de las fórmulas varían entre 16,30 a 20,89%. Los resultados de las propiedades funcionales solubilidad, viscosidad y osmolalidad se indican en la Tabla 3. Los resultados de las fórmulas a base de hidrolizado de ocumo (DE 20) y maltodextrina de arroz (DE 18) presentaron los mayores valores de solubilidad en agua y los menores valores de viscosidad, el valor mayor de solubilidad correspondió al hidrolizado de ocumo (46,16%), esto era de esperarse ya que la solubilidad en agua aumenta con el mayor grado de hidrólisis del almidón. Esta fórmula presentó el valor más bajo de viscosidad (1.500 cp) que se debe igualmente a la modificación del almidón.

La ventaja de adicionar almidón modificado a las fórmulas para niños como fuente de energía es que se ve aumentada la densidad energética de la fórmula sin aumentar sustancialmente la osmolalidad y la consistencia. En la Tabla 3 también se observa que las fórmulas que contienen maltodextrina de arroz e hidrolizado de ocumo presentan mayores valores de osmolalidad (256 y 342 mOsm/Kg de agua respectivamente) en comparación a la fórmula que tiene harina precocida de arroz (161 mOsm/Kg de agua), esto se explica por el hecho de que las dextrinas están constituidas por moléculas más pequeñas lo que influye aumentando la osmolalidad.

En cuanto a la densidad energética los valores obtenidos

79.76 a 84.99 Kcal/100mL (0.33 a 0.36 Kj/100mL) (Tabla 3), se encuentran dentro de los límites recomendados para las fórmulas infantiles (12).

Al evaluar el costo de las 4 fórmulas, se encontró como más económica la fórmula a base de harina cruda de arroz (14\$/Kg), sin embargo, ésta fórmula fue descartada por ser la menos preferida por las madres en las pruebas de evaluación sensorial, debido a su alta viscosidad. Las fórmulas a base de maltodextrina de arroz y ocumo hidrolizado fueron 27% y 37% más costosas respectivamente que la fórmula con harina cruda. La fórmula con harina precocida de arroz (2 en la Tabla 1) fue seleccionada a nivel de planta piloto, no sólo porque fue una de las más económicas, sino porque fue la de mayor preferencia por las madres en las pruebas de evaluación sensorial. En estas pruebas, al evaluar el sabor y la consistencia, no se detectó preferencia significativa ($\alpha=0.05$) en las fórmulas, pero sí, en cuanto al color prefiriendo la fórmula a base de harina precocidad de arroz (Tabla 4).

En la Tabla 5 se muestra la composición química de la fórmula. El nivel de proteína fue 17.46%. Con respecto a la calidad de la proteína de la fórmula se evaluó la digestibilidad (in vitro) y el cómputo aminoacídico cuyos valores: 90% para la digestibilidad proteica y 80% y 100% para el cómputo aminoacídico para niños menores de un año y para niños entre 1 y 5 años respectivamente, se consideraron como buenos.

El aporte energético y la densidad calórica de la fórmula reconstituida al 18% fue de 445 Kcal /100 g (1.86Kj/100g) y 80 Kcal/100 mL (0.36 Kj/100mL) respectivamente, la osmolalidad fue de 161 mOsm/Kg agua. El contenido de vitamina A fue de 2.219 UI /100 g. Los valores obtenidos cumplen con lo recomendado para fórmulas infantiles (12).

La fórmula presentó además buena calidad microbiológica y estabilidad a temperatura ambiente (28,5°C) durante 18 meses envasada en sobres laminados. En cuanto al costo, resultó del 14 a 68% más económica que fórmulas comerciales usadas con los mismos fines; a pesar de esto sigue siendo costosa (15 \$/Kg) para el poder adquisitivo de las madres de bajos recursos, razón por la cual se seguirá estudiando la posibilidad de obtener fórmulas más económicas.

La aceptabilidad de la fórmula por los niños resultó ser de 78 a 86% y no hubo diferencia significativa entre los niños hospitalizados y los que recibieron la fórmula en el hogar. En todos los niños se observó que después de ingerir el alimento 3 a 4 veces durante el primer día, dejaban de evacuar o disminuían el volumen de las heces y la frecuencia de las evacuaciones. Resultados similares pero después de 2 días fueron obtenidos en un estudio donde se utilizó una fórmula con hidrolizado de plátano y pollo comparada con una base de leche (18). La fórmula aquí estudiada tiene la ventaja de aportar vitamina A y se puede preparar en el hogar, resultando una alternativa de bajo costo, que también se puede preparar en el hospital.

AGRADECIMIENTO

A las industrias INDUAVICOLA, C.A., Arroceras Las Mercede-

des, FAVEPRO, MAVESA, Montana Gráfica, Suministros DANIMEX y Laboratorios RELAB la donación de las materias primas.

A la empresa ALIVEN C.A. por permitir realizar el proceso de envasado en sus instalaciones. A CONICIT (Proyecto S1-1775) y al Decanato de Investigaciones de la Universidad Simón Bolívar por financiar el proyecto.

Al personal directivo del Centro *Materno Infantil de Caricuao* (Caracas) y a la Comunidad del Barrio el Tostao (Barquisimeto-Edo Lara) por su colaboración para realizar las pruebas clínicas a nivel de Hospital y Comunidad respectivamente.

REFERENCIAS

1. Arandia. J. Epidemiología de las diarreas. I. Simposium Nacional sobre Diarreas Tropicales. Mérida, Venezuela. 1993.
2. Guerra M. Desarrollo y evaluación de fórmulas semielementales utilizando materia prima nacional. Efecto de la aplicación de las fórmulas en la recuperación de niños con diarrea. Proyecto Conicit N° S1-1775. Caracas. Venezuela. 1985
3. Hernández, B. y Guerra, M. Evaluación de la aceptabilidad de una fórmula para niños con diarrea en una comunidad marginal. GEN: Revista de la Sociedad Venezolana de Gastroenterología. 49 (2): 123-131. 1995.
4. World Health Organization. WHO. Energy and Protein Requirements. Report of a Joint FAO/WHO/ONU. Expert Consultation. Technical. Report Series 724. Geneve. 1985.
5. Instituto Nacional de Nutrición -Fundacavendes. Metas alimentación para Venezuela. Caracas- Venezuela. 1991
6. U.S. National Research Council. Nutrition management of acute diarrhea in infants and children. National Academy Press. Washington. D.C. 1985
7. Martín S.B. and Acosta P.B. Osmolalities of selected enteral products and carbohydrate modules used to treat inherited metabolic disorders. J. Am Diet Ass. 57 (1): 49, 1987.
8. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th. Virginia USA 1990.
9. Anderson, R. Conway, H. Pfeifer. V. and Griffing E. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion-cooking. Cereal Sci. Today. 14(1):4. 1970
10. ICMSF. Microorganismos de los Alimentos 2: Métodos de Muestreo para Análisis Microbiológicos, Principios y Aplicaciones Específicas. Vol 2. Editorial Acribia. Zaragoza. 1981
11. Witting E. Evaluación sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos. Talleres Gráficos USACH. Chile p.p 61-62. 1986
12. Fomon S.J. Reflections on infant feeding in the 1970s and 1980s. Am J Clin Nutr. 46:171, 1987
13. Lowr, O. and López, J. Phosphates. J. Biol. Chem. 162-241.1946
14. COVENIN 1193-81 Alimentos. Determinación de cloruros. Comisión Venezolana de Normas Industriales Edit. por FONDONORMA. Caracas. 1981
15. Mc Donough. F. Sarwar, G. Steinke, F.H. Slump. P. García, S and Boisen, S. In vitro assay for protein digestibility: interlaboratory study J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73(4): 622. 1990.
16. A.V.C Association of Vitamin Chemists Methods of Vitamin Assay. 3th Interscience Publishers. USA 1996
17. Torres, A. y Guerra M Efectos de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la pérdida de color de una formulación. Arch Latinoam Nutri. 46(1):54-57.1996
18. Romer, H; Guerra, ; Piña, J; Urrestarazu, D y Blanco. M. Realimentación de deshidratados de niños con diarrea aguda. Comparación de leche de vaca con bases formuladas. J. Pediatric Gastroenter. Nutr. Vol 13 (1); 1991.

Recibido: 20-12-1994

Aceptado: 30-01-1997

Effect of calcium addition and acidification on the quality characteristics of canned okra (*Hibiscus esculentus* L.)

J.N. Nogueira, P.R. Cantarelli, C.R. Gallo, I.A.M. Moreno, F.C.A.U. Matsuura y M.A. Tiba,

Department of Food Science, College of Agriculture, University of S. Paulo, P.O. Box 9, Piracicaba 13418-900, SP, Brazil.

SUMMARY: A study was conducted on calcium chloride treatments of canned okra acidified by adding either acetic, citric, lactic, malic or tartaric acids or by lactic fermentation. The quality of the processed okra was determined by physical, chemical, microbiological and sensory analyses after a two month storage period at room temperature. The results indicated the possibility of processing high quality canned okra by small canneries, with low cost equipment and low energy requirements. The acidification procedures ensure minimal risk of botulism.

RESUMEN: Efecto de la adición de calcio y acidificación sobre la calidad de la ocrá o quimbombó (*Hibiscus esculentus* L.) procesados por calor. Fue conducido un estudio con la adición de cloruro de calcio a ocras acidificados con uno de los cinco ácidos orgánicos siguientes: acético, cítrico, láctico, málico tartárico o por fermentación láctica. La calidad de los productos procesados fue determinada por análisis físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales, después de transcurrido dos meses de almacenamiento a temperatura ambiente. Los resultados indicaron la posibilidad de procesar ocras de mejor calidad en pequeñas industrias con reducción de costos en equipo y energía. Los procedimientos de acidificación aseguran un riesgo mínimo de ocasionar botulismo.

INTRODUCTION

Most of vegetables are considered as low acid food (1) and should therefore be processed at high temperatures to avoid development of *Clostridium botulinum* (2, 3). In the United States the occurrence of botulism is frequently associated with the ingestion of home made preserves having a pH value above 4.6 (4, 5). In Brazil, Graner (6) called attention to the risk represented by the canning of home preserves using recipes that do not take into consideration the final pH of such products.

Vegetables have been generally processed by high energy using methods of freezing or conventional canning. Considering the expensive cost of energy and equipment, alternative methods must be sought to reduce cost and to maintain high safety standards from the microbiological point of view, significant nutritional quality and good texture, flavor and palatability (7).

The use of direct acidification or lactic fermentation to lower the pH value of vegetables below 4.6 seems to be an alternative technique to economize energy during processing and to furnish a product of adequate quality (8, 9).

Many vegetables cannot be canned because of their poor

texture after heat sterilization. Calcium has long been considered as an important agent to maintain the texture of fruits and vegetables, apparently though its interaction with cell wall pectic materials (10). For this reason, calcium has been used by several researchers on a variety of commodities to achieve firming or maintain firmness (9, 11, 12).

The purpose of this work was to evaluate the effect of calcium, direct acidification and fermentation and provide information, currently required, on the quality of canned okra processed in this ways at atmospheric pressure.

MATERIAL AND METHODS

Raw material. Samples of okra (*Hibiscus esculentus* L., cultivar Santa Cruz) used in this study were commercially grown in Piracicaba county, State of S. Paulo, Brazil.

Analyses of raw and/ or processed material. a) Titrable acidity, drained weight and PH were performed by standard methods (13).

b) Total soluble solids were determined by direct reading with a hand refractometer,

c) Texture. Objective measurements were obtained on 100

TABLE 1
Effect of acidification and calcium addition on the sensory characteristics of canned okra

Treatments	Average of evaluations (16 replications)				
	Color	Texture	Flavor	Overall Quality	
Control	8.00a	3.25d	3.31d	4.85e	
Citric acid	I	6.56abcd	5.68bc	6.62abc	6.20abcd
	II	6.50abcde	6.56abc	7.37ab	6.81abc
Tartaric acid	I	5.93cde	5.12c	5.06de	5.37de
	II	6.93abcd	5.25c	5.68bc	5.95bcde
Lactic acid	I	7.31abc	6.12abc	7.06ab	6.83abc
	II	6.12bcde	6.12abc	6.68abc	6.18abcd
Acetic acid	I	5.68de	7.50a	8.00a	7.06ab
	II	6.43abcde	7.25ab	8.12a	7.27a
Malic acid	I	4.93e	5.37c	6.43abc	5.58cde
	II	5.43de	5.87abc	6.62abc	5.97bcde
Fermentation	I	6.18bcde	6.75abc	5.68bc	6.20abcd
	II	7.56ab	6.81abc	5.81bc	6.72abc

I=Without calcium; II=With calcium. Number followed by the same letters are not significantly different at the 5% level.

grams of drained processed okra using a Food Technology Corporation shearpress model TP-2, with register TR-1 fitted with a TG-1A-3000 electronic texture gauge and a CS standard cell. Ram descending rate was 20 cm/min. The same procedure was used for the unprocessed okra.

d) Sensory evaluations. Color, texture, and flavor were evaluated by eight trained panelists on a 1 to 9 points hedonic scale, according to Larmond (14). The panels were conducted in a room equipped with individual booths, water and indoor red and fluorescent lighting. The red lighting was utilized for evaluation of texture and flavor. Each panelist was presented with an individual sample (50 g) portioned into white cups coded with random numbers. Objective texture and sensory attributes were evaluated in comparison with a no acidified control with no calcium added prepared at the same time as the samples were evaluated, following the procedures

described before for processing the acidified products. The overall quality attribute was obtained by taking the average of the sum of color, texture and flavor given to each sample.

e) Microbiological analyses were performed using two cans of each treatment and tested for commercial sterility according to Corlett and Denny (15). Results were reported in terms of presence (+) or absence (-) of biological activity.

f) Vacuum was determined, as inches Hg, by piercing the cans with a Marshalltown vacuum gauge.

g) Statistical analyses. The experiment was designed as a factorial with six treatments (five organic acids and fermentation), two levels of firmness (with and without calcium) and two replications. All analyses were conducted in duplicate and data analyzed by the analysis of variance using a randomized complete block design (16).

Processing. The okra was washed, the ends trimmed, sliced in two parts and blanched in boiling water (97°C) for 5 minutes and immediately cooled in tap water. After cooling the material was divided in two lots.

The first lot was acidified by adding the correct amount of either acetic, citric, lactic, malic or tartaric acid to the canning brine to reach a 4.3 equilibrium pH in the final products, as determined by acidification curves (17), previously obtained for each acid. Before filling, half of this lot was treated by immersing into a 0.5% calcium chloride solution at 50°C for ten minutes.

Okra was filled to a weight of 200 g of pieces into 74.6 x 95.2 mm epoxy lacquered cans and 156 ml of 1.5% NaCl solution were added.

The other lot was fermented at 35°C by adding 1g of a commercial starter (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* and *Lactococcus lactis*, 1:1) to 10 L of a 1.5% NaCl solution, until a 4.3 pH was reached. The vegetable was filled into cans as described before, using the fermented brine solution. Half of this lot was also treated with calcium by adding 0.2% (w/v) of calcium chloride to the fermented canning solution.

All the filled cans were exhausted at 85°C (can center temperature), sealed and processed for 30 minutes in boiling water and cooled in cold water bath.

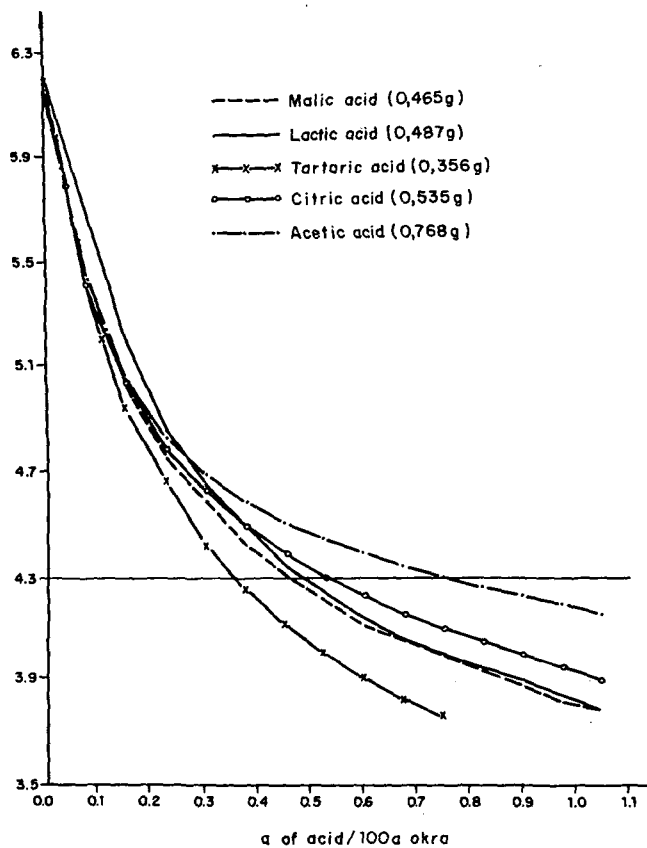
TABLE 2
Chemical and physical analyses of canned okra

Analyses	Treatments												
	Control	Citric		Tartaric		Lactic		Acetic		Malic		Fermentation	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Drained weight(g)	220,0	239,8	236,7	227,8	237,7	223,8	233,0	227,3	214,6	227,8	239,7	220,0	231,6
Vacuum (in.Hg)	16,5	16,0	14,0	15,5	16,0	16,0	15,0	12,0	14,5	15,0	14,0	18,5	20,0
Soluble solids (% w/w)	3,8	4,0	4,0	3,7	4,0	4,2	4,3	4,1	4,0	3,7	3,8	3,2	3,0
Equilibrium pH	5,8	4,0	4,1	4,0	4,2	4,0	4,1	4,3	4,2	4,0	4,1	4,1	4,3
Total acidity (% w/w)	0,05	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2

I=Without calcium; II=With calcium. All values not exceeding a \pm 5% deviation according to the technique used.

FIGURE 1

Acidification curves of okra with five organic acids to pH 4.3



After a two month storage at room temperature of 25 to 31° C, the final products were completely evaluated.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical and physical characterization of the unprocessed okra presented the following data: Total soluble solids $8.6 \pm 0.2\%$ pH 6.2 ± 0.2 and texture 11.6 ± 0.3 Lbf/g, as a average of six samples.

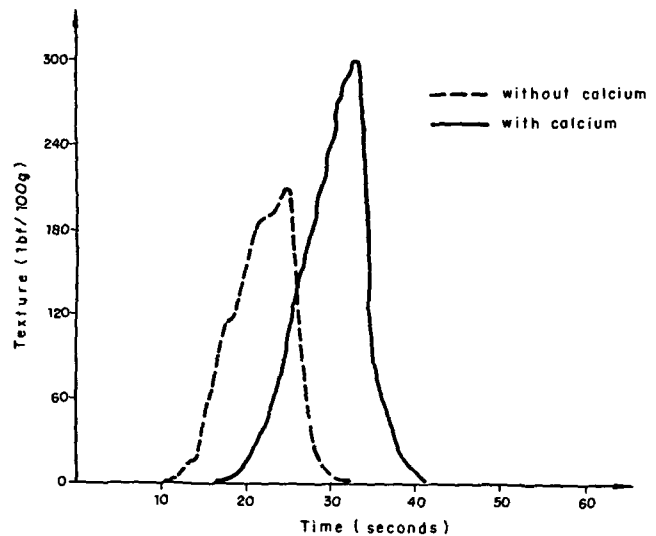
The acidification curves used to determine the amounts of acid needed to acidify okra, from a pH of 6.2 to pH 4.3 indicated that this varied according to the acid used, following the decreasing order: acetic, citric, lactic, malic and tartaric acid (Figura. 1). Such variation was probably due to the buffering capacity of okra and the acid dissociation constant (18).

In general, the acidification procedures impaired color of processed okra. The best treatments for said sensory attribute were lactic fermentation with calcium added and direct lactic acidification with no calcium added (Table 1). This fact suggests that the lactate ion could attenuate the overall negative effect of acidification. The better color acceptability presented by the fermented product is in accordance with the findings of Kotzekidou and Roukas (8).

Texture was greatly improved either by direct acidification or by fermentation, specially for okra treated with acetic acid.

FIGURE 2

Typical shearpress curves of acidified (acetic acid) canned okra



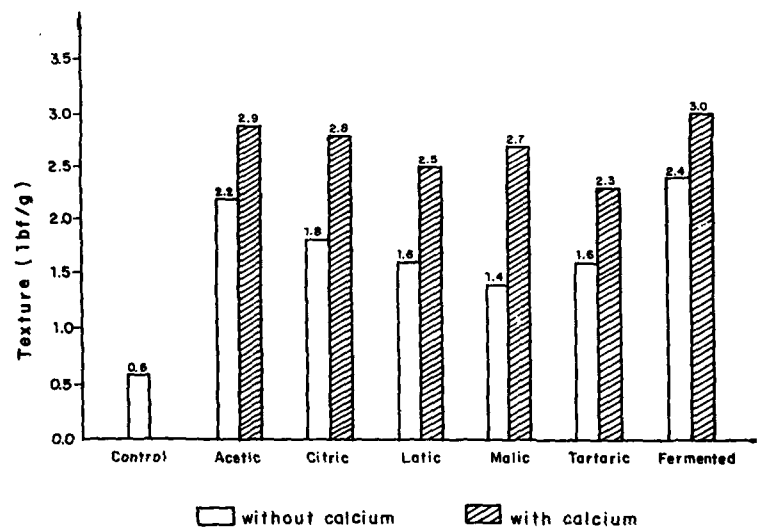
There were no great differences between okra treated with or without calcium (Table 1). However, according to shear force values (Figura 2) okra treated with calcium presented firmer texture. The most efficient acid-calcium interaction was found to be that with malic acid, presenting a 92.8% increase of shear force value, as previously reported for acidified canned carrots (19).

It was also noted a change in the shape of shearpress curves of acetic acid treated products when the compression force was reduced by calcium addition (Figura 3), resulting into a possible increase of firmness sensation in the mouth of the panelists.

Flavor was significantly enhanced by all of the acidification treatments (Table 1). The sensory analyses indicated that

FIGURE 3

Effect of acidification and addition of calcium on texture of canned okra (Shearress values)



panelists preferred acetic acid, followed by lactic, citric, malic, fermentation, tartaric and control. Calcium seemed not to effect this sensory attribute at all. However, since it was beneficial to color and texture, such addition is recommended, specially, in association with acetic acid.

The sensory panel found acetic acid treated okra the most acceptable in terms of overall quality (Table 1). This fact could be better understood if the wide spread brazilian habit of seasoning with vinegar many foods (salads, sauces, barbecues, etc.) is to be taken into consideration.

In general, the chemical and physical analyses revealed some minor influences of the treatments (Table 2). Drained weight presented an average increase of 15%. This fact is probably accounted to less leaching of solids during the thermal treatment which permitted okra to absorb more water. Soluble solids decreased in the processed okra, possibly due to the higher absorption of water by relative increasing of okra solids, as pointed before.

Total acidity was higher for okra treated with acetic acid, followed by lactic, citric, malic, tartaric and fermentation. This increasing is in opposition to the findings of Kotsekidou and Roukas (8) that reported a decreasing as a result of slight detinning of cans originating free ions and production of salts. Detinning of cans was not detected in the present work.

The equilibrium pH slightly decreased in the final products. This fact could have resulted from a variation of okra buffering capacity caused by heating and storage. Vacuum values were considered as adequate and no paneling of cans was observed.

Microbial analyses showed no biological activities in any of final products after a two month storage.

In conclusion, acidification yielded desirable organoleptic qualities besides requiring less energy input and lower cost compared with conventional retorting procedure for low-acid foods. The procedures resulted in a non-favorable environment for the occurrence of botulism.

REFERENCES

1. Food and Drug Administration. Pickled, fermented, acidified and low-acid foods. Federal Register, Washington, DC, 43:30441-30461, 1976
2. Rivero, J.P. Microorganismos patógenos em alimentos. In: Anales del Seminario Avanzado de Tecnología de Alimentos. Bogotá, Colciencias, 261-274, 1973
3. Ito, K.A. & Chen, J.K. Effects of pH on growth of *Clostridium botulinum* in foods. J. Food Science, 32:71-71, 1978.
4. Frazier, W.C. Food Microbiology. 2nd ed. New York, McGraw-Hill, 1967.
5. Ayres, J.C. Processed meats. In; Meat Industries Research Conference. Arlington, 103-113, 1975.
6. Graner, M.; Nogueira, J.N. & Carneiro, J.B. Determinação de conservas caseiras pelo calor. O. Solo, 70:61-65, 1978
7. Kosup, P. & Sistrunk, W.A. Quality attributes of fermented and acidified green beans. Journal of Food Science, 47:1001-1005, 1982.
8. Kotzekidou, P. & Roukas, T. Quality characteristics of fermented and acidified canned okra. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 20: 300-304, 1987.
9. Meurer, p. & Gierschener, K. Occurrence and effect of indigenous and eventual microbial enzymes in lactic acid fermented vegetables. Acta Alimentaria, 21:171-188, 1992.
10. Van Buren, J.P. The chemistry of texture in fruits and vegetables. Journal of Food Texture, 10:1. 1979.
11. Van Buren, J.P. Adding calcium to snap beans at different stages in processing: calcium up take and texture of the canned product. Food Technology, 22:790, 1968.
12. Fenjin He Purcell, C.C. & Hess, W.M. Effects of calcium, sucrose and aging on the texture of canned Great Northern beans (*Phaseolus vulgaris*) Journal of Food Science. 54:315-318, 1989.
13. Association of Official Analytical Chemists. 13th. ed. Association of Official Analytical Chemists.
14. Larmond, E. Laboratory methods for sensory evaluation of food. Canadian Department of Agriculture. Publication 1637. 77p., 1977.
15. Corlett, D.A. Jr Denny, C.B. Canned foods -Test for cause of spoilage. In: Speck, M.L. (Ed) Compendium of Methods for the Microbial Examination of Foods. American Public Health Association p. 737-777, 1984.
16. Pimentel Gomes, F. Curso de Estadística Experimental. 11ed. Nobel 96-125, 1990.
17. Zaparta, M.M. & Quast, D.G. Curvas de titulação do palito doce (Euterpe edulis Mart.) Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, 6:167-187, 1975
18. Berhardt, L.W. Enlatamiento de hortalizas acidificadas. In: Paschoalino, J.E. Procesamento de Hortalizas. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos. Manual Técnico nº4, p. 34-47, 1989.
19. Nogueira, J.N.; Cantarelli, P.R.; Gallo, C.R. & Matsuura, F. C.A.U. Effect of calcium addition, acidification and fermentation on the quality characteristics of canned carrots (*Daucus carota* L). Acta Alimentaria, 23 (2): 145-153, 1994.

Recibido: 03-07-1996

Aceptado: 21-02-1997

Effects of temperature, moisture and residence time in the properties of full fat soybean flour produced in a twin extruder

S.O. Serna-Saldivar¹ and L.C. Cabral²

CTAA -EMBRAPA, Guaratiba, Río de Janeiro, Brasil.

SUMMARY. Soybeans were dehulled, roll-milled into grits, conditioned to 18 or 21% moisture and continuously cooked in a twin extruder at three temperature programs and two residence times. The resulting extrudates were further dried and roll-milled into flour and characterized for their physical, chemical and functional properties. The urease activity and nitrogen solubility index (NSI) decreased with increased extrusion temperature, residence time and soybean grits moisture content. The best pre-cooked full fat flours had a urease activity lower than 0.2 and a NSI higher than 15%.

RESUMEN: Efectos de temperatura, humedad, y tiempos de residencia en las propiedades de harinas de soya integral producidas en un extrusor gemelo. Granos de soya fueron decorticados y molidos a través de un molino de rodillos para la obtención de grits los cuales fueron posteriormente acondicionados a 18 ó 21% de humedad y cocidos continuamente en un extrusor gemelo bajo tres programas de temperatura y dos tiempos de residencia. Los extruidos resultantes fueron secados y molidos para la obtención de una harina, la cual fue caracterizada en sus propiedades físicas, químicas y funcionales. La actividad de ureasa e índice de solubilidad del nitrógeno (NSI) decreció con incrementos en temperatura de extrusión, tiempo de residencia y humedad de acondicionamiento de los grits. La mejor harina integral precocida presentó una actividad de ureasa menor a 0.2 y un NSI mayor de 15%.

INTRODUCTION

Brazil is the second largest world producer of soybeans (*Glycine max L.*) with 22.7 million metric tons of production in 1993 (1). Consequently, soybeans are a realistic option to upgrade the nutritional status of many people who cannot afford the high prices of animal foods. Factors limiting the direct use of the crop for human food may include prolonged cooking time, beany flavor and lack of familiarity with processed products. Furthermore, soybeans ought to be cooked to inactivate important antinutritional factors and to enhance their nutritional value. Full-fat soybean flour has a high caloric value and protein quantity and quality. More importantly, its amino acid composition complements the proteins of cereal products. Soybean protein quality is limited due to presence of antitryptic inhibitors and S-containing amino acids.

Soybean products are currently used in a limited basis by bakeries, meat processing plants, confectionary industries and creameries. The industrial process to manufacture pre-cooked soybean is energy inefficient and prolonged. An alternative process to produce full-fat soybean flour using a single screw extruder has been reported elsewhere (2-4). Extrusion cooking

offers the advantage of reduced labor, less energy input per Kg of finished product and production in a continuous basis. Cooking time, moisture and temperature are the major processing variables affecting the inactivation of antinutritional factors and functional properties of the finished product. Important properties such as water absorption, nitrogen solubility index and protein solubility index are highly dependent on processing conditions. Overcooking generally develops off-flavors, darkens the color, lowers nutritional value and significantly reduces nitrogen solubility.

The purpose of this research work was to study the effects of temperature, residence time and soybean meal moisture content in the physical and chemical properties of full-fat soybeans subjected to thermoplastic extrusion in a twin extruder.

1 Professor, Food Science and Technology Department, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Nuevo León, México and Consultant for EMBRAPA-CTAA, Río de Janeiro, Brasil.

Mailing address: Dr. S. O. Serna Saldivar, Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Sucursal de Correos "J" CP' 64849 Monterrey, N.L., México. Telephone (52)(8) 3284262 or 3582000 Ext. 4821/ FAX(52)(8) 3284187.- EMAIL sserna@campus.mty.itesm.mx.

FIGURE 1

Flowchart of the process to obtain dehulled, full-fat soybean grits

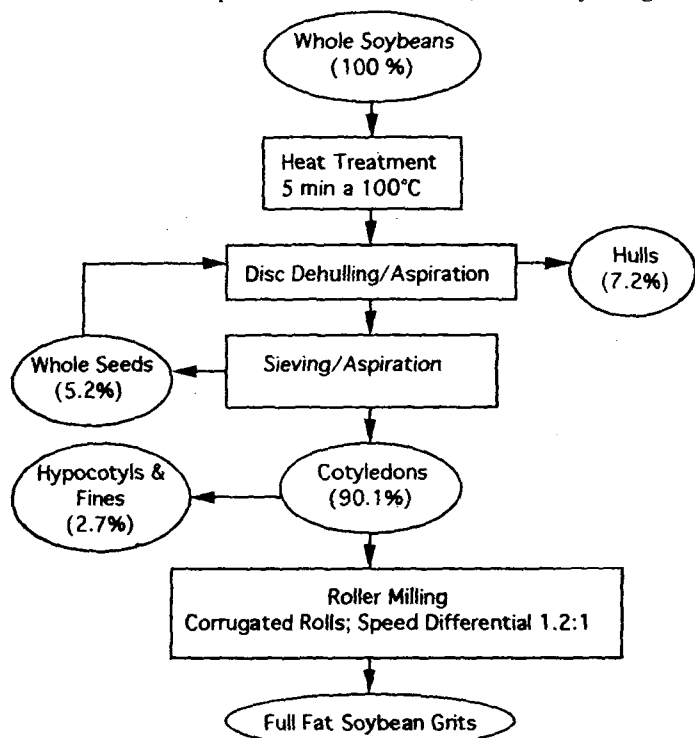
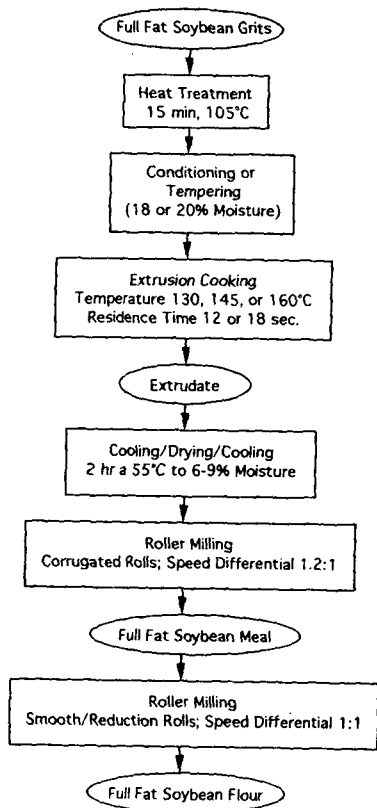


FIGURE 2

Flowchart of the experimental process to obtain pre-cooked, full-fat soybean flour via extrusion cooking



MATERIALS AND METHODS

Grain source. Soybean variety BR-16 with a beige colored hilum was procured from Serviço da Sementes Básicas da EMBRAPA, Ponta Grossa, Parana, Brasil. Seeds had an average 1,000 kernel weight of 182.2 g.

Production of dehulled grits. Whole soybeans were subjected to 5 min heating in a convection oven set at 100° C to loosen hulls. Upon cooling, the pre-heated seeds were continuously decorticated in a disk dehuller (Descascador Mecânico para Graós; Brazilian patent # 9-100-825) equipped with a fixed and rotating concave discs and an aspiration system. The dehuller had an efficiency of 94-95%. Hypocotyls, fines and whole seeds were separated from cotyledons (splits) in a clipper sieve cleaner equipped with cylindrical (2.0 X 0.5 cm) and round (0.4 cm diameter) sieves # 11 and 10, respectively and

TABLE 1

Chemical composition of whole soybeans, dehulled grits and extruded flour^a

Product	Crude protein ^b %	Crude fat %	Crude fiber %	Ash %	NFE ^c %
Whole soybeans	36.18	22.23	6.67	5.15	29.67
Dehulled grits	38.39	24.43	3.51	5.54	28.13
Extruded flours	38.09	23.55	3.06	5.25	30.04

^a Values are expressed on dry matter basis.^b Nitrogen x 6.25.^c NFE=Nitrogen free extract. Calculated by difference

TABLE 2

Effect of extrusion temperature, residence time and moisture content in nitrogen solubility index and inactivation of urease activity^a

Temperature °C	Moisture %	Residence time (sec)	Protein %	Urease activity	NSI ^b
130	18	12	38.7	2.04	46.8
130	18	18	38.6	1.75	33.4
130	21	12	38.6	1.50	28.5
130	21	18	38.6	0.45	22.2
145	18	12	38.1	1.49	30.7
145	18	18	38.1	0.18	18.9
145	21	12	38.5	0.42	21.7
145	21	18	38.4	0.11	12.6
160	18	12	38.6	1.19	24.7
160	18	18	38.3	0.14	17.5
160	21	12	38.6	0.27	20.4
160	21	18	38.5	0.15	13.7

^a Each value is the average of three extruded flours processed in three different runs.^b Nitrogen Solubility Index

an aspiration system operating at full blast. A yield of about 90 % cotyledons was obtained (Figure 1).

The resulting cleaned cotyledons were ground into coarse grits with a commercial wheat flour mill (Tecomlin São Paulo, Brasil) furnished with corrugated rolls, Grits were then exposed to 15 min heating in a convection oven set at 100°C with the objective of inactivating lipoxygenase activity.

Extrusion cooking. Soybean grits were conditioned to 18 or 21% moisture in lots of 18 kg in a mixer (Werner & Pfleiderer do Brasil DK 65 N) for 12 min. The resulting conditioned material was continuously processed in a twin extruder (Brabender DSE 45, Duisburg, Germany). The extruder was equipped with 65 cm long counter-rotating screws with a length to diameter ratio of 13:1, two feeding systems capable of delivering up to 1.5 kg/min and a barrel subdivided into 4 zones with individual temperature controls. Materials were

extruded through a die plate containing two round 1 cm diameter holes.

Experimental protocol. Extruded flour were produced using the procedure described in Figure 2. Full-fat soybean grits were first conditioned to 18 or 21% moisture and then subjected to extrusion cooking at 130, 145 and 160°C and two residence times (12 or 18 sec). Therefore, the trifactorial experiment consisted of 12 treatments. The zone # 1 of the extruder operated at 130°C, whereas the other three zones at the predetermined cooking temperature. The material feed rate when extruding for 12 and 18 sec was 1160 and 710 g/min, respectively. Extrudates with about 13-15% moisture were allowed to equilibrate to room temperature for 30 min and then dried for 2 hr in a commercial air-forced oven set at 50-55°C. Then, extrudates were ground into flours by first passing the material through a pair of corrugated rolls to obtain coarse particles and then through a pair of smooth rolls adjusted to produce a fine flour. The materials were immediately packaged in plastic bags and kept in the refrigerator (5°C).

TABLE 3
Particle size distribution of dehulled full fat
soybean grits and extruded flour

Product	US mesh N°	Fraction %
Dehulled full-fat soybean grits	+14	30.9
	+20	30.8
	+28	14.1
	+35	10.9
	-35	12.6
Extruded full-fat soybean flour	+60	66.1
	+80	26.9
	+100	3.0
	+115	1.5
	-115	0.4

TABLE 4
Effect of extrusion temperature, residence time and
moisture content in color scores of full fat soybean flour.

Temperature °C	Moisture content	Residende time	L	--- Color ---		E ^a
				a	b	
130	18	12	79.1	0.62	22.1	82.1
130	18	18	79.4	0.29	21.6	82.3
130	21	12	79.4	0.68	24.3	83.0
130	21	18	79.4	0.29	21.2	82.2
145	18	12	77.5	0.40	21.2	80.3
145	18	18	79.1	0.36	22.1	82.1
145	21	12	78.4	0.68	22.3	81.5
145	21	18	78.3	0.49	21.4	81.2
160	18	12	77.2	0.52	22.4	80.4
160	18	18	79.6	0.17	21.8	82.5
160	21	12	76.4	0.54	21.9	79.5
160	21	18	77.8	0.17	20.6	80.5

^a Color index E= (L2 + a2 + b2)^{1/2}

Physical properties. Color of, the extruded-ground products were analyzed with a Suga Colorimeter (Suga Test Instruments Co, Ltd; Model SM-4-CH; Japon). Values obtained included L, a, b and E.

Particle size distribution of dehulled soybean meal and extruded flours were determined by sieving for 10 min in a rotap. The yield of each fraction was expressed as percentage of the original sample weight.

Chemical analysis. Raw whole soybeans and dehulled-extruded products were analyzed for protein (5); urease activity (6, method Ba 9-58) and nitrogen solubility index (NSI) (6, method Ba 11-65). In addition, whole seeds, dehulled cotyledons and the optimized extruded product were characterized for proximate composition (5).

Statistical analysis. Data was statistically analyzed with ANOVA procedures using a trifactorial experimental design (7). Individual effects and interactions between extrusion temperature (3 levels), residence time (2 levels) and soybean grits moisture content (2 levels) were analyzed.

RESULTS AND DISCUSSION

As expected, whole soybeans seeds had a higher fiber and ash contents than dehulled grits and dehulled-extruded flours (Table 1). Cabral et al (8) also found decreased levels of these components after dehulling. Extrusion of dehulled grits did not affect proximate composition except for a slightly higher fat content in the extruded product. This was likely due to the release of the heat liable lipids during extrusion. Soybean will analyze approximately 1% higher oil content if the AOAC method Ac 3-44 is followed (pre-dry in 130° oven for one hour). This heat release is accomplished in the extruder.

The three extrusion factors studied (temperature,

residence time and soybean grits moisture content) significantly affected inactivation of urease activity and the index of nitrogen solubility. Results showed that urea activity decreased with higher grits moisture content, increased extrusion temperature and prolonged residence time. Interestingly, the inactivation of urease inhibitors was heat dependent indicating that it was heat labile as it has been previously reported by Mustakas et al (2,4). A 3% increase in grit moisture content significantly affected the degree of inhibition indicating that water acts synergistically with heat and exposure time (Table 2). Nitrogen solubility indexes followed the same trend as urease inhibitor activity. Increased temperature and moisture content and prolonged residence time favored protein denaturation and lowered NSI. Soybean products with a high NSI are more functional than counterparts with lower values. Important functional factors such as solubility, water absorption dispersibility and foaming are closely related to NSI (9-12).

Within the constraints of this experiment, results showed that extrusion at 130°C did not inactivate enough urease inhibitors. The maximum inactivation level (approximately 75%) was achieved at 21% moisture and 18 sec residence time. Extrusion at 145° C and 18 sec residence time yielded flours with at least 85% of urease inhibitor inactivated. Extrusion at 160°C yielded only one flour with a high urease activity resulting from the low moisture content and residence time. Roller milling of dried extrudates produced flours with a fine particle size distribution (Table 3) A fine particulate was obtained by first passing the dried extrudates through corrugated rolls to obtain a coarse meal. The meal was further reduced by two passes through a pair of smooth rolls. The milling technique proved to be suitable for producing fine flours required in many processes such as for production of bakery and meat products.

Extrusion conditions did not significantly affect the color of the flours (Table 4). This could be attributed to the small extrusion residence time that never exceeded 18 sec.

CONCLUSIONS

It was possible to produce full-fat soybean flours with trace quantities of urease activity in a twin extruder operating at temperatures above 140°C. The higher the temperature, residence or processing time and raw meal moisture content the lower the activity of urease inhibitors and nitrogen solubility index. Extrusion offers the advantage of producing an array of flours with different functionalities and residual inhibitors in a continuous basis and with small heat-processing times.

REFERENCES

1. FAO. 1993. FAO Production Yearbook. Vol. 47. Rome, Italy.
2. Mustakas, O.C., Albrecht, W.J., Bookwalter, G.N., McGhee, W.F., Kwolek, W.F., & Griffin, E.L. Extruder-processing to improve nutritional quality, flavor and keeping quality of full-fat soy flours. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 46:623, 1970.
3. Mustakas, G.C., Griffin, Jr., E.L., & Sohns, V.E. Full-fat soybean flours by continuous extrusion cooking. *Adv. Chem. Ser.* 57: 101, 1966.
4. Mustakas, G.C. & Griffin, E.L. Production and nutritional evaluation of extrusion cooked full fat soybean flour. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 41:607, 1964.
5. AOAC. 1980. "Official Methods of Analysis" 13th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
6. AOCS. 1983. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemist's Society. Third Edition, Champaign, IL.
7. SAS Users Guide. Statistical Analysis System. Raleigh, NC., 1979.
8. Cabral, L.C., Serna-Saldivar, S.O., & Tinsley, A.M. Effects of dehulling and storage conditions on cooking requirements and chemical composition of soybeans. *Arch Latinoamer Nutr* 48 (1):36-40, 1995.
9. Greuell, E.H.M. Some aspects of research in the application of soy proteins in foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 51:98A. 1974.
10. Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J., Wada, T., & Ishii, K. Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agric. Biol. Chem.* 36:719, 1972.
11. Wolf, W.J. Soybean proteins: their functional, chemical and physical properties. *J. Agric. Food Chem* 18:969, 1970.
12. Kinsella, J.E. Functional properties of soy proteins. *J. Am Oil Chem. Soc.* 56:242, 1979.

Recibido: 21-06-1996

Aceptado: 04-12-1996

Caracterização físico-química da acerola *Malpighia glabra* L. produzida na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil

Jesui Vergilio Visentainer¹, Otávio Attie Vieira², Makoto Matsushita³ and Nilson Evelázio de Souza⁴

Departamento de Química - Universidade Estadual de Maringá. Av. Colombo, 5 790 - CEP 87 020-900 - Maringá - Paraná - Brasil

RESUMO.- A acerola *Malpighia glabra* L., fruto originário do mar das Antilhas e norte da América do Sul, conhecido popularmente como cereja-das-antilhas ou cereja-do-pará, destaca-se pelo seu elevado teor de vitamina C. Os frutos de acerola, maduros e frescos, utilizados nos experimentos, foram obtidos de agricultores da região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil, ano agrícola 1995. Os frutos foram despolpados em peneira de aço inoxidável com 25 mesh de malhagem, sendo o bagaço (sementes e casca) descartado. Na polpa foram realizadas análises físico-químicas que incluem: vitamina C, umidade, proteína, carboidrato, fibra, matéria graxa e sua composição em ácidos graxos, cinza e os minerais cádmio, cálcio, chumbo, cobre, cromo, ferro, magnésio, manganês, potássio, sódio e zinco. O nível médio de vitamina C foi de 1,79g/100g de polpa, valor este superior a de outros frutos tais como abacaxi, araçá, caju, goiaba, kiwi, laranja, limão e morango e inferior ao camu-camu, um fruto silvestre da Amazônia. Diferenças não significantes quanto aos teores de umidade, carboidrato, fibra, matéria graxa e minerais foram observadas com relação a outros frutos.

SUMMARY.- Physico-chemical characterization of acerola (*Malpighia glabra* L.) produced in Maringá, Paraná. State. Brazil.- The acerola *Malpighia glabra* L., originally from the Antillas and North of South America, known by the people as cereja-das-antilhas or cereja-do-pará distinguish itself by its high content of vitamin C. The ripe and fresh acerola fruits utilized in experiments, were obtained from farmers of Maringá region, Paraná State, Brazil. The fruits were hulled in steel sieve with 25 mesh and the bagasse (seeds and hull) discarded. These physico-chemical analysis were realized in the pulp: vitamin C, moisture, protein, carbohydrate, fiber, lipids and fatty acids composition. We also determined the content of ash and cadmium, calcium, lead, copper, chrome, iron, magnesium, manganese, potassium, sodium and zinc minerals. The average content of vitamin C was 1.79g/100g of pulp, it was higher than the one for other fruits, like pineapple, araçá, cashew, guava, kiwi, orange, lemon, and strawberry and lower than the camu-camu sylvestral fruit of Amazônia. The contents of moisture, carbohydrate, fiber, lipids and minerals in the acerola were not significantly different when compared to other fruits.

INTRODUÇÃO

A planta aceroleira *Malpighia glabra* L. é originária do Mar das Antilhas e norte da América do Sul, cujo fruto é conhecido popularmente como cereja-das-antilhas ou cereja-do-pará, destacando-se dos demais frutos pelo seu teor elevado em vitamina C (1,2). Sabe-se que os nativos dessas regiões utilizavam-se amplamente desta cereja como fonte alimentar, e em suas viagens costumavam transportá-las de uma ilha para outra, disseminando assim esse fruto. A difusão da acerola contou também com o auxílio de pássaros migradouros e demais animais frutívoros. Quando os primeiros europeus entraram em contato com os indígenas, ficaram impressionados com a coloração atrativa deste fruto e por acharem parecido com a cereja-da-europa, passaram a chamá-la de cereja-das-índias-ocidentais, sendo posteriormente denominada cereja-das-antilhas (3).

A acerola foi introduzida no Brasil pela Universidade Federal Rural de Pernambuco na década de 50 e até hoje campanhas são desenvolvidas para disseminá-la em todo o país (4). Hoje, a acerola vem sendo produzida em vários estados brasileiro, como o do Pará, Bahia, Amazonas, São Paulo, Paraná, dentre outros. Entre os estados produtores de

acerola, o do Paraná apresenta a maior área plantada do país, com cerca de 1000 hectares em plena produção, seguido pelo Estado de São Paulo com 350 hectares e, nos demais estados do Nordeste, o plantio varia de 300 a 600 hectares. Em vários estados brasileiro, o plantio de acerola vem recebendo incentivo de empresários interessados em implantar unidades despolpadoras fruta e a cultura esta sendo oferecida como alternativa de renda ao pequeno e médio produtor, disputando áreas hoje ocupadas com produtos típicos dos estados brasileiro (5).

A plantação de acerola na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil, embora pequena, vem recebendo incentivo de empresários, Universidades, Institutos de Pesquisa (6), e como resultado houve o surgimento de viveiros na região os quais

1. Professor Adjunto TIDE Nível 2. da Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de Atuação: Ciência e Tecnologia de Alimentos
2. Bolsista do CNPq de Iniciação Científica. Acadêmico do curso de Engenharia Química
3. Professor Adjunto TIDE Nível 4. Doutor em Ciências Ambientais. Áreas de Atuação: Ciências Ambientais. Química de Alimentos
4. Professor Titular TIDE Nível 1. Mestre em Ciência de Alimentos. Doutor em Química Analítica. Áreas de Atuação: Ciência e Tecnologia de Alimentos. Química Analítica. Ciências Ambientais

estão fornecendo mudas para o seu cultivo e conseqüentemente a implantação de pequenas indústrias que estão processando a acerola na forma de polpa integral a qual tem sido utilizada na elaboração de sucos, geléias, balas, sorvetes, dentre outros.

Este trabalho tem por objetivo apresentar dados sobre a composição química da acerola produzida na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil, ano agrícola 1995.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostragem. As amostras dos frutos de acerola utilizadas no estudo, foram obtidas de agricultores da região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil, ano agrícola 1995. Os frutos maduros e frescos foram triturados com o uso de liquidificador e despolpados em peneira de aço inoxidável com 25 mesh de malhagem, sendo o bagaço (semente e casca) descartado. As determinações de umidade e vitamina C foram realizadas na polpa imediatamente após a sua obtenção. A polpa remanescente foi acondicionada em saquinhos de polietileno hermeticamente fechados e congelados em freezer (-180C), para as determinações posteriores.

Métodos. Para determinação de umidade, cinza, matéria graxa e vitamina C, utilizou-se as técnicas descritas em Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (7).

Os teores de proteína total e fibra bruta, foram efetuadas conforme método descrito por Silva (8).

O teor de carboidrato total foi estimado por diferença dos demais componentes.

As pesagens foram efetuadas em balança analítica marca Mettler, modelo H35AR, precisão de 0,1mg.

As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados são expressos em base úmida.

Os teores dos minerais foram determinados segundo as técnicas da Association of Official Analytical Chemists (9).

A metilação dos ácidos graxos da matéria graxa foi realizada de acordo com a técnica descrita por Jham e colaboradores (10). A análise cromatográfica foi realizada em cromatógrafo a gás CGS-14A Shimadzu, equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida com 25m x 0,25mm e 0,20mm de Carbowax 20M. A temperatura de operação da coluna foi programada, com temperatura inicial isotérmica de 190oC por 12 minutos, seguido de um aumento gradual de 12oC por minuto, até temperatura final de 240oC, com tempo total de análise de 30 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram de 220oC e 245oC, respectivamente. Os fluxos dos gases nitrogênio, hidrogênio e ar sintético foram de 30, 30 e 300ml por minuto, respectivamente. As análises qualitativa e quantitativa foram efetuadas através do Integrador-Processador CG-300 e utilizou-se ésteres metílicos da Sigma (EUA) como padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados médios de análises em triplicatas obtidos

TABELA 1

Composição físico química da polpa de acerola *Malpighia glabra* L. produzidas na região de Maringá, estado do Paraná, Brasil.

Composição	Valores ¹
Umidade	89,09±0,27
Vitamina C	1,79±0,03
Proteína total	0,98±0,05
Matéria graxa	0,20±0,02
Fibra	0,17±0,00
Cinza	0,42±0,03
Carboidrato ²	7,35

1. Valores expressos em g/100g de polpa, com seus respectivos desvios, de determinações em triplicata. 2. Valor estimado por diferença entre os demais componentes.

TABELA 2

Teor de alguns minerais em caju, abacaxi, laranja, limão e acerola

Minerais	Caju ¹	Abacaxi ¹	Laranja ¹	Limão ¹	Acerola ²
Cálcio	50,0	45,00	45,0	41,0	13.22±0,59
Ferro	1,0	0,20	0,2	0,7	0.55±0,05
Magnésio	36,0	15,00	26,0	16,0	14.57±0,98
Manganês	NT ³	NT	NT	0,03	0.75±0,02
Potássio	620,0	82,90	29,4	102,2	28.04±0,08
Sódio	86,3	10,60	156,6	29,4	6.98±0,14
Zinco	NT	0,25	NT	0,17	0.19±0,01
Cobre	NT	0,11	0,07	0,19	0.02±0,00
Chumbo	NT	NT	NT	NT	0.04±0,02
Cádmio	NT	NT	NT	NT	0.02±0,02
Cromo	NT	NT	NT	NT	ND ⁴

¹Conforme Franco (17), em mg/100g de fruto. ²Valores expressos em mg/100g de polpa, com seus respectivos desvios, de determinações em triplicata. 3. Valores não tabelados. 4. Não detectado.

para umidade, vitamina C, proteína total, matéria graxa, fibra, cinza e carboidrato da polpa de acerola *Malpighia glabra* L. são apresentados na Tabela 1.

O teor de umidade da acerola, foi de 89,09%, colocando-a no grupo de frutos de elevado teor de água, como a pitanga com 89% (11), laranja (88,30%), abacaxi (85,30%), goiaba (83,00%), dentre outros (12).

Os frutos comumente produzidos no Brasil que destacam-se pelo elevado teor de vitamina C, incluem araçá (0,33%), kiwi (0,24%), caju e goiaba (0,22%), morango (0,07%), abacaxi e laranja (0,06%), limão com 0,05% (2) e o camu-camu, uma fruta silvestre produzida na Amazônia, com aproximadamente 5 gramas de vitamina C por 100 gramas de polpa (11). O teor de vitamina C da acerola encontrado neste trabalho foi de 1,79%, mostrando ser entre estes frutos, com exceção do camu-camu, o melhor fruto para a obtenção de vitamina C. Observou-se também valor inferior no teor de vitamina C quando comparado com frutos de acerola produzidos no Estado do Ceará, Brasil, que apresentaram níveis médios de vitamina C de aproximadamente 2,13% (13,14), e superior ao encontrado no Estado de São Paulo, Brasil (15).

A acerola apresentou um teor de proteína total de 0,98%,

TABELA 3
Composição em ácidos graxos na matéria graxa da acerola

Ácidos graxos	% em ácidos graxos na matéria graxa ¹
Palmitico	23,38±0,97
Estearico	11,59±0,14
Oléico	25,96±0,40
Linoléico	24,45±0,60
Linolênico	14,60±0,52

¹ Valores percentuais em ácidos graxos, com seus respectivos desvios, de determinações em triplicata.

considerado baixo quando comparado com leguminosa (16) e cereais (17), porém apresentou teor protéico superior ao do caju (0,80%), da goiaba (0,75%), do abacaxi, laranja e limão com 0,60% e apresentou diferenças não significativas quando comparados com o araçá e morango com 1,0% (17).

A acerola apresentou um teor de matéria graxa de 0,20%, não apresentando entretanto, maior significado como fonte lipídica, porém, este valor é superior ao do abacaxi (0,10%) (17) e pitanga (0,06%) (11) semelhante ao araçá e caju, e inferior com relação a goiaba (0,50%), morango (0,60%), laranja (0,40%) e limão (0,60%) (17).

Analisando comparativamente os resultados obtidos pela composição química da polpa de acerola com os de outros frutos tropicais, fundamentamos ainda mais a afirmação de Potter (18), relativo à existência de alta umidade e pequeno percentual de proteínas e lipídios (matéria graxa) na maioria dos frutos tropicais.

O teor de fibra da acerola foi de 0,17%, valor este inferior ao abacaxi (0,95%) e a laranja (4,30%) (15), pitanga (0,43%) (11).

A acerola apresentou um teor de cinza de 0,42%, aproximadamente igual a da pitanga (0,32%) (11).

O valor estimado de carboidrato da acerola foi de 7,35%, valor este inferior ao abacaxi (9,50%), laranja (9,80%) e limão (8,10%) (17).

Na Tabela 2 são apresentados os teores de alguns minerais encontrados no caju, abacaxi, laranja e limão, valores obtidos da tabela de composição química dos alimentos segundo Franco (17), e dos teores dos minerais da acerola analisados neste experimento.

Os teores de cálcio, magnésio, potássio e sódio encontrados na acerola, foram inferiores quando comparados com o caju, abacaxi, laranja e limão, e o nível de ferro também inferior quando comparado com o caju e limão e superior ao abacaxi e laranja (17). Os teores de manganês e zinco da acerola foram superiores quando comparados com o limão, enquanto que o teor de cobre foi inferior (17).

Os teores de cádmio e chumbo foram de 0,02 e 0,04mg/100g de polpa, respectivamente, enquanto que o cromo não foi detectado

A Tabela 3 apresenta os valores dos principais ácido graxos

presentes na matéria graxa da acerola. Os valores são expressos em percentagem relativa ao total em ácidos graxos. Os teores dos ácidos graxos saturados (palmitico e esteárico) encontrados na acerola foram de aproximadamente 35% do total dos ácidos graxos, enquanto que o monoinsaturado oléico corresponde a aproximadamente 26% e os ácidos graxos poliinsaturados (linoléico e linolênico) a 39,05% do total dos ácidos graxos.

REFERÊNCIAS

1. Novaes, V. Plante acerola e colha saúde. *Manchete Rural*, 25:10-11, 1989.
2. Petti, I. & Medina, S. Frutas campeãs em vitamina C. *Revista Saúde*, 9:16-27, 1989.
3. Alzugaray, D. & Alzugaray, C. Vida, um guia de autosuficiência. É fácil cultivar acerola. Rio de Janeiro, Editora Três, 1975.
4. Universidade Federal Rural de Pernambuco. *Acerola - Malpighia glabra L.*, família da Malpighiaceas. Já introduzida no Brasil esta planta que dá frutos riquíssimos em ácido ascórbico. *Revista Química Industrial*. 122-124, maio, 1985.
5. Casado, V. Vitamina C em forma de fruta. Plantio de acerola aumenta no PR para abastecer indústria de suco. *Jornal Multirural. Out.*, 1994.
6. Pupim, P. Com mercado garantido, acerola ganha o campo. *Jornal da UEM*. 3:11, abr.-maio, 1991.
7. Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 3. ed., São Paulo, IAL, 1985. 533p.
8. Silva, D. J. *Análises de Alimentos. Métodos Químicos e Biológicos*. Viçosa, Imprensa Universitária da UFV, 1981. 166p.
9. Horwitz, W. (ed). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 13 ed., Washington, D. C., AOAC, 1980. 1018p.
10. Jham, G. N.; Teles, F.F.F. & Campos, L.G. Use of aqueous HCl/MeOH as esterification reagent for analysis of fatty acids derived from soybean lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 59:132-133, 1982.
11. Guimarães, F. A.; Molanda, L. F. F.; Maia, G. A. & Moura, J. A. Estudos analíticos e físicos em polpa e semente de pitanga (*Eugenia uniflora L.*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2(2):208-215, 1995.
12. Sgarbiere, V. C. *Alimentação e Nutrição. Fator de Saúde e Desenvolvimento*. Campinas; Editora da Unicamp, 1987.
13. Adeodato, S., Beccari, A. Vitamina C dá em árvore. Brasil desenvolve tecnologia para produzir, em larga escala, a vitamina C extraída da acerola. *Globo Ciência*, 41:39-42, dez., 1994.
14. Nogueira, C. M. D.; Maia, G. A.; Figueiredo, R. W.; Oria, H. F. & Oliveira, G. S. F. Caracterização química e físico-química de três diferentes clones de acerola. In: *Resumos dos trabalhos do VII ENAAL*, Instituto Adolfo Lutz., São Paulo, 1991.
15. Cruz, V. D.; D'Arce, L. P. G.; Castilho, V. M.; Lima, V. A.; Cruz, R. & Godinho, P. M. Variações no teor de ácido ascórbico de acerolas (*Malpighia glabra L.*) em função do estágio de maturação e temperatura de estocagem. *Arq. Biol. Tecnol.*, 38(2):331-337, jun., 1995.
16. Visentainer, J. V.; Laguila, J. E. & Souza, N. E. Teor de proteína e matéria graxa em diversas variedades de soja recomendadas para o cultivo no Brasil. *Arq. Biol. Tecnol.*, 32(4):661-664, 1989.
17. Franco, G. *Tabela de Composição de Alimentos*. 9. ed., Rio de Janeiro, Atheneu, 1992. 307 p.
18. Potter, N. N. *Food Science*. New York, AVI Publishing, 1968.

Recibido: 30-05-1996

Acceptedo: 26-11-1996

Omega-3 fatty acids in baked freshwater fish from south of Brazil

Airton Delfino Andrade¹, Jesuí Vergílio Visentainer², Makoto Matsushita³ and Nilson Evelázio de Souza⁴

Departamento de Química - Universidade Estadual de Maringá. Av. Colombo, 5 790 - CEP 87 020-900 - Maringá - Paraná - Brasil

SUMMARY. - Lipid and fatty acid levels in the edible flesh of 17 baked freshwater fish from Brazil's southern region were determined. Analyses of fatty acids methyl esters were performed by gas chromatography. Palmitic acid (C16:0) was the predominant saturated fatty acid, accounting for 50-70% of total saturated acids. Linoleic acid (C18:2 ω 6), linolenic acid (C18:3 ω 3), and docosahexaenoic acid (C22:6 ω 3) were the predominant polyunsaturated fatty acids (PUFA). The data revealed that species such as barbado, corvina, pintado, and truta were good sources of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), and that most freshwater fish examined were good sources of PUFA- ω 3.

RESUMEN. **Ácidos grasos omega-3 en peces de agua dulce asados del sur de Brasil.**- Se determinaron los niveles de ácidos grasos y lípidos en 17 peces comestibles de la región sur de Brasil. Los análisis de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se realizaron por cromatografía gaseosa. Se encontró que el ácido graso saturado predominante, aproximadamente 50 a 70% de los ácidos saturados totales, fue el ácido palmítico (C16:0). Los ácidos grasos insaturados mas abundantes encontrados fueron el ácido linoléico (C18:2 ω 6), ácido linolénico (C18:3 ω 3) y ácido docosahexenoico (C22:6 ω 3). Los datos mostraron que las especies como barbado, corvina, pintado y trucha son buenas fuentes de ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexenoico (DHA) y que la mayoría de los peces de agua dulce examinados fueron buenas fuentes de ácidos grasos poliinsaturados ω -3.

INTRODUCTION

Fish lipids are known for the complexity of their fatty acid composition. The lipids of marine and freshwater fish have certain characteristic differences in the fatty acid composition (1,2). These distinctions are based mainly on the chain lengths rather than any other fundamental properties (3). Epidemiological studies have linked the dietary intake of ω 3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) in Greenland Eskimos to their low incidence of coronary heart disease (4,5). The most important of the ω 3-PUFA seems to be eicosapentaenoic acid (EPA) which has an anti-aggregatory potency that results from competitive inhibition of the synthesis of thrombotic eicosanoid thromboxane (6) or alternatively from increased production of prostacyclins which are anti-aggregatory agents (7).

Several studies concerning to the composition of fatty acids in marine and freshwater fish have been reported (8-12). Wang *et al.* (10) observed that Lake Superior fish were excellent sources of PUFA.

This study presents data on the investigation of the fatty acid composition and amount of total lipids in several commonly consumed South Brazilian tropical freshwater fish.

MATERIALS AND METHODS

Seventeen freshwater fish were studied. The fish studied were purchased fresh from fish markets in Maringá, Paraná,

Brazil and included barbado (*Pinirampus pinirampu*), carpa (*Cyprinus carpio*), cascudo abacaxi (*Megaloancistrus aculeatus*), cascudo cachorro (*Pterodoras granulosus*), corvina (*Plagioscion squamosissimus*), curimba (*Prochilodus lineatus*), dourado (*Salminus maxillosus*), jurupoca (*Hemisorubim platyrhinchos*), mandi (*Pimelodus maculatus*), pacu (*Colossoma mitrei*), piapara (*Leporinus elongatus*), piau (*Leporinus friderici*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), piranha (*Serrasalmus marginatus*), tilápia (*Oreochromis niloticus*), traíra (*Hoplias malabaricus*) and truta (*Salmo sp.*). Skinned deboned fillets were taken from the intact fish. The fillets were oven baked at 190°C for 30-50 minutes. After baking, the fillets were cutted into small pieces and minced. Aliquots (30g), in triplicate, of the minced samples were individually homogeneized in 90mL chloroform/methanol (2:1 v/v) according to the method of Bligh and Dyer as modified by Kinsella *et al.* (13). The resulting lipid fraction was weighed.

The preparation of fatty acid methyl esters was performed

1. Químico de Nível Superior (Nível I-11). Mestre em Química. Área de Atuação: Ciência e Tecnologia de Alimentos
2. Professor Adjunto TIDE Nível 2. Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de Atuação: Ciência e Tecnologia de Alimentos
3. Professor Adjunto TIDE Nível 4. Doutor em Ciências Ambientais. Áreas de Atuação: Ciências Ambientais Química de Alimentos
4. Professor Titular TIDE Nível 1. Mestre em Ciência de Alimentos. Doutor em Química Analítica. Áreas de Atuação: Ciência e Tecnologia de Alimentos Química Analítica, Ciências Ambientais

TABLE I
Fatty acid composition of baked freshwater fish fillets^a

Fatty Acids	Barbado	Carpa	Cascudo Abacaxi	Cascudo Cachorro	Corvina	Curimba	Dourado	Jurupoca	Mandi
14:0	2.21±0.01	ND	1.10±0.03	2.75±0.22	2.92(±0.12	4.22±0.09	2.44±0.36	ND1.	35±0.01
16:0	30.81±0.17	18.45±0.31	17.94±0.17	27.66±0.91	21.72±0.35	27.64±1.31	26.70±0.33	21.83±0.61	26.80±0.06
16:a	ND	ND	4.11±0.06	1.17±0.03	1.73±0.02	2.61±0.09	1.46±0.10	ND	1.66±0.04
16:b	ND	ND	1.40±0.04	ND	ND	5.33±0.76	ND	ND	1.38±0.02
16:1ω7	10.53±0.26	6.24±0.15	5.41±0.06	7.71±0.37	8.41±0.15	17.21±0.81	8.92±0.17	ND	7.22±0.08
16:c	ND	ND	ND	ND	ND	2.94±0.08	ND	ND	ND
18:0	10.89±1.80	6.37±0.07	10.26±0.09	11.91±0.49	10.36±0.14	8.21±0.06	9.52±0.63	9.45±0.29	9.65±0.29
18:a	1.93±0.06	ND	ND	ND	ND	6.34±0.15	ND	ND	ND
18:1ω9	27.60±2.10	42.28±0.71	25.37±0.55	30.40±1.99	9.36±0.21	7.19±0.09	26.48±0.12	23.58±1.31	37.15±0.94
18:1a	ND	ND	ND	ND	5.02±0.08	ND	ND	ND	ND
18:2ω6	2.74±0.03	16.97±0.37	1.69±0.58	8.85±0.19	ND	5.18±0.09	5.06±0.31	26.60±0.75	4.25±0.09
18:3ω6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	9.09±0.07	ND	ND
18:3ω3	2.51±0.03	2.24±0.01	ND	1.28±0.11	ND	4.22±0.09	ND	ND	2.86±0.05
18:4ω3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.57±0.18	ND	ND
20:0	ND	2.61±0.03	3.00±0.14	2.18±0.13	ND	2.48±0.16	ND	6.83±1.16	1.90±0.14
20:a	ND	ND	3.10±0.18	ND	3.94±0.11	ND	ND	ND	ND
20:2ω6	ND	2.31±0.25	9.56±0.99	ND	5.54±0.08	ND	ND	ND	ND
20:3ω3	2.77±0.05	ND	2.60±0.10	2.63±0.51	ND	3.37±0.19	2.93±0.43	6.00±0.97	2.79±0.49
20:5ω3	1.62±0.03	ND	ND	ND	12.13±0.25	1.79±0.20	ND	ND	ND
22:a	1.96±0.04	1.49±0.10	2.19±0.18	1.45±0.27	4.41±0.08	ND	1.65±0.19	ND	ND
22:b	ND	ND	2.98±0.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22:c	ND	ND	6.06±0.12	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22:6ω3	3.92±0.12	2.02±0.27	2.91±0.22	4.04±0.31	12.80±1.43	2.94±1.00	3.92±0.41	7.01±1.22	1.82±0.14
Fatty Acids	Pacu	Piapara	Piau	Pintado	Piranha	Tilapia	Traira	Truta	
14:0	15.47±0.42	1.93±0.05	ND	ND	3.55±0.28	3.66±0.17	2.48±0.34	1.75±0.01	
16:0	22.12±0.77	23.35±0.40	25.12±1.09	33.50±1.57	22.99±1.9466	27.10±1.06	22.38±0.90	22.05±0.37	
16:a	ND	ND	ND	ND	1.46±0.07	ND	1.60±0.10	ND	
16:b	ND	ND	ND	ND	1.21±0.01	ND	1.02±0.23	ND	
16:1ω7	4.75±0.19	11.17±0.16	5.91±0.28	7.81±0.57	7.91±0.47	6.69±0.22	6.98±0.57	7.20±0.17	
16:c	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.75±0.35	ND	
18:0	7.35±0.22	5.78±0.35	5.70±0.31	9.99±0.10	7.93±0.07	6.58±0.08	8.59±0.31	5.62±0.16	
18:a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
18:1ω9	39.69±2.49	44.34±0.50	30.85±2.07	26.78±1.08	28.22±1.92	34.50±0.54	28.31±0.70	27.16±0.98	
18:1a	ND	ND	ND	4.57±0.12	ND	ND	ND	3.54±0.07	
18:2ω6	5.20±0.03	1.88±0.19	8.46±0.59	10.06±0.62	7.52±0.34	10.40±0.97	13.49±0.71	ND	
18:3ω6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
18:3ω3	2.21±0.07	1.65±0.12	12.82±0.57	ND	4.14±0.22	1.00±0.01	4.84±0.28	12.61±0.15	
18:4 ω3	ND	ND	ND	ND	1.76±0.10	ND	ND	ND	
20:0	2.28±0.09	2.47±0.07	1.58±0.05	ND	1.24±0.15	1.63±0.11	2.80±0.10	2.24±0.09	
20:a	ND	ND	ND	ND	ND	2.48±0.75	ND	ND	
20:2ω6	ND	2.56±0.06	ND	ND	ND	2.09±0.71	ND	1.04±0.04	
20:3ω3	ND	ND	ND	ND	2.93±0.07	1.56±0.44	1.97±0.06	1.25±0.04	
20:5ω3	0.98±0.09	0.58±0.05	1.59±0.03	2.97±0.29	ND	1.12±0.10	1.75±0.20	1.69±0.05	
22:a	0.33±0.03	1.60±0.61	4.63±0.19	ND	2.11±0.24	0.80±0.01	1.55±0.24	1.21±0.08	
22:b	ND	1.30±0.59	2.55±0.10	ND	1.51±0.01	1.37±0.01	ND	ND	
22:c	ND	0.55±0.05	ND	ND	1.33±0.02	ND	ND	ND	
22:6ω3	ND	0.72±0.07	2.96±0.12	4.29±0.13	2.76±0.21	0.79±0.02	2.34±0.35	11.89±0.52	

^aCalculated as wt% of fatty acid methyl esters as percentage of total lipids; all results are means of three determinations;

ND = not detected; a, b, c = not identified fatty acids.

TABLE 2
Total lipids, PUFA, SFA, PUFA/SFA and ω 3/ ω 6-PUFA in baked freshwater fish

Fish	Total Lipids (%)	PUFA (%)	SFA (%)	PUFA/SFA	ω 3/ ω 6-PUFA
Barbado	22.27±0.89	13.56±0.03	41.70±0.90	0.32±0.01	3.95±0.12
Carpa	6.01±0.09	23.54±0.13	27.43±0.11	0.86±0.01	0.22±0.01
Cascudo Abacaxi	1.61±0.01	16.76±0.29	32.30±0.06	0.52±0.01	0.49±0.03
Cascudo Cachorro	0.72±0.01	16.80±0.16	44.50±0.27	0.38±0.01	0.90±0.03
Corvina	1.90±0.01	30.47±0.48	35.00±0.13	0.87±0.01	4.50±0.15
Curima	2.02±0.02	17.50±0.21	42.55±0.33	0.41±0.01	2.38±0.07
Dourado	3.58±0.01	23.57±0.14	38.66±0.27	0.61±0.01	0.67±0.04
Jurupoca	2.15±0.01	39.61±0.58	38.11±0.45	1.04±0.02	0.49±0.03
Mandi	4.84±0.01	11.72±0.13	39.70±0.08	0.30±0.01	1.76±0.05
Pacu	21.50±0.15	8.39±0.04	47.22±0.23	0.18±0.01	0.61±0.12
Piapara	21.07±0.09	7.39±0.05	33.53±0.13	0.22±0.01	0.66±0.02
Piau	2.30±0.01	25.83±0.21	32.40±0.38	0.80±0.01	2.05±0.15
Pintado	3.39±0.09	17.32±0.23	43.49±0.79	0.40±0.01	0.72±0.05
Piranha	2.05±0.03	19.11±0.09	35.71±0.49	0.54±0.01	1.54±0.07
Tilapia	6.14±0.06	16.96±0.21	38.97±0.27	0.44±0.01	0.36±0.02
Traira	2.42±0.01	24.39±0.17	36.25±0.25	0.67±0.01	0.81±0.04
Truta	8.97±0.07	28.48±0.11	31.66±0.10	0.90±0.01	26.38±1.02

All results are means of three determinations, calculated as % w/w.

as one described by Jham *et al.* (14). Analysis of methyl esters was performed by capillary gas chromatography on a Shimadzu CGS-14A (Shimadzu, Tokyo, Japan) with a Carbowax 20M (CG Instrumentos Científicos, São Paulo, Brazil) and quantitated by a flame-ionization detector. Chromatographic conditions were as follows: injection port temperature, 220°C; flame-ionization detector temperature, 245°C; initial oven temperature, 190°C, for 4 minutes, rising to 240°C at 10°C/min. The carrier gas was nitrogen (30mL/min). Retention times and peak areas were processed by a computing integrator CG-300 (CG Instrumentos Científicos). Compounds were identified and quantitated by comparison with the retention times and peak areas, respectively, of known standards from Sigma (St. Louis, MO, USA). All reagents were ACS grade.

RESULTS AND DISCUSSION

The Table 1 summarizes our finding of fatty acid composition on baked freshwater fish of commercial importance in Brazil's southern region. The fatty acids are ordered according to their chromatographic retention time, and the values are given as weight percent of total fatty acid methyl esters. In general, C16:0 and C18:0 are the most predominant saturated acids, observed in all fish lipids studied. Ackman & Eaton (15) have pointed out that C16:0 is a key metabolite in fish and its level is not influenced by the diet. In the present study the level of this acid accounted for almost 60% of the total saturated acids.

Regardless of the origin of the lipids, the monoethylenic fatty acids, C16:1 ω 7 and C18:1 ω 9 are the major constituents. Also, C18:1 ω 9 level was higher than C16:1 ω 7, with only exception (curimba).

Ackman (3) reported that high values of C16:1 ω 7 is one characteristic of freshwater fish. This value matches well with the results presented here.

The total lipids contents of fish are summarized in Table 2. The lipid concentration in some species, such as barbado, pacu, and piapara, was much higher (>20%) than in all other species analysed. Values around 9% are found for truta and 6% for carpa and tilapia. The values for all other species were smaller than 4%, and in the case of cascudo cachorro, the content was very low, 0.72%.

The sum of saturated fatty acid (SFA) values were in the range of 27.43-47.22%, and values between 7.39-39.61% were obtained for PUFA. The PUFA/SFA ratio summarized in Table 2 was high, 1.04; 0.90; 0.87 and 0.90 for jurupoca, truta, corvina, and carpa, respectively.

With regard to PUFA- ω 3 fatty acids, species such as truta,

TABLE 3
Percentage of PUFA- ω 3, EPA, and DHA in baked freshwater fish

Fish	PUFA- ω 3	EPA	DHA
Barbado	10.82±0.06	1.62±0.03	3.92±0.12
Carpa	4.26±0.14	ND	2.02±0.27
Cascudo Abacaxi	5.51±0.12	ND	2.91±0.22
Cascudo Cachorro	7.95±0.20	ND	4.04±0.31
Corvina	24.93±0.72	12.13±0.25	12.80±1.43
Curimba	12.32±0.26	1.79±0.20	2.94±1.00
Dourado	9.42±0.21	ND	3.92±0.41
Jurupoca	13.01±0.78	ND	7.01±1.22
Mandi	7.47±0.17	ND	1.82±0.14
Pacu	3.19±0.06	0.98±0.09	ND
Piapara	2.95±0.05	0.58±0.05	0.72±0.07
Piau	17.37±0.19	1.59±0.03	2.96±0.12
Pintado	7.26±0.16	2.97±0.29	4.29±0.13
Piranha	11.59±0.08	ND	2.76±0.21
Tilapia	4.47±0.11	1.12±0.10	0.79±0.02
Traira	10.90±0.12	1.75±0.20	2.34±0.35
Truta	27.44±0.14	1.69±0.05	11.89±0.52

All results are means of three determinations. ND = not detected.

contained more than 27% of total fatty acids and values around 24% and 17% were obtained for corvina and piau (Table 3). The values of PUFA- ω 3 for truta, corvina and piau correspond to 96%; 81%; and 67% of the total PUFA, respectively. Values around 70% of PUFA- ω 3 are found for piau, barbado, and curimba.

The contents of ω 3 and ω 6, and the ω 3/ ω 6 ratio obtained for the seventeen species are included in Table 2. The values of 26.38 obtained for truta was noteworthy, where basically all PUFA was PUFA- ω 3. It has been reported (6,16) that EPA (C20:5 ω 3) and DHA (C22:6 ω 3) are most important ω 3 fatty acids, and the specific effect of each are has also been reported (6,16). Table 3 summarizes the total content of ω 3 fatty acids as well as the percentages of EPA and DHA. The EPA and DHA contents of the various species revealed many interspecies differences, as we pointed out previously for the total PUFA- ω 3 content (Table 1). The DHA values, in all species except in pacu and tilapia, are higher than EPA values, which are not detected in species such as carpa, cascudo abacaxi, cascudo cachorro, dourado, jurupoca, mandi, and piranha.

Regarding the total lipid contents and the percentage of DHA and EPA, we can postulate that barbado, corvina, pintado, and truta are good sources of DHA and EPA.

It is expected that the present study, along with others of similar nature, may provide valuable information in selecting freshwater fish for nutritional studies.

REFERENCES

1. Lovern, J. A. *Biochemistry of Fish*. Biochemical Symposia No 6. Cambridge, Cambridge University Press. 1951, p. 49.
2. Hilditch, T. P. & P. N. Williams. *The Chemical Constitution of Natural Fats*. 4th ed. London, Chapman & Hall. 1964, p. 62.
3. Ackman, R. G. Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some freshwater fish oils and lipids in comparison with marine oils and lipids. *Comp. Biochem. Physiol.* 22:907, 1967.
4. Dyerberg, J. & H. O. Bang. Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet*, 2:433, 1979.
5. Dyerberg, J., H. O. Bang, E. Stoffersen, S. Moncada & J. R. Vane. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet*, 2:117, 1978.
6. Budowski, P. Nutritional effects of n3-polyunsaturated fatty acids. *Israel J. Med. Sci.*, 17:223, 1981.
7. Goodnight Jr., S. H., S. W. Harris, W. E. Connor & R. D. Illingworth. The effect of dietary n-3 fatty acids on platelet composition and function in man: a prospective controlled study. *Blood*, 58:880, 1981.
8. Hearn, T.L., S.A. Sgoutas, J.A. Hearn & D.S. Sgoutas. Polyunsaturated fatty acids and fat in fish flesh for selecting species for health benefits. *J. Food Sci.*, 52:1209, 1987.
9. Vlieg, P. & D. R. Body. Lipid contents and fatty acid composition of some New Zealand freshwater finfish and marine finfish, shellfish, and roes. *New Zeal. J. of Mar. and Fresh. Res.*, 22:151-162, 1988.
10. Wang, Y. J., L. A. Miller, M. Perren & P. B. Addis. Omega-3 fatty acids in Lake Superior fish. *J. Food Sci.*, 55(1):71-76, 1990.
11. Andrade, A. D., A. F. Ribira, M. Matsushita & N. E. Souza. ω 3 fatty acids in freshwater fish from South Brazil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72(10):1207-1210, 1995.
12. Andrade, A. D., J. V. Visentainer, M. Matsushita & N. E. Souza. Omega-3 fatty acids in baked marine fish from South of Brazil. *Arq. Biol. Tecnol.*, 39(1):187-192, 1996.
13. Kinsella, J. E., J. L. Shimp, J. MAE & J. Weihrauch. Fatty acid composition of freshwater finfish. *J. Am. Chem. Soc.*, 54:424-429, 1977.
14. Jham, G. N., F. F. F. Teles & L. G. Campos. Use of aqueous HCl/MeOH as esterification reagent for analysis of fatty acids derived from soybean lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 59:132-133, 1982.
15. Ackman, R. G. & C. A. Eaton. Some commercial Atlantic herring oils: fatty acid composition. *J. Fish Res. Bol. Canada*. 23:991, 1966.
16. Leaf, A. & P. C. Weber. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *New Eng. J. Med.*, 318:549-557, 1988.

Aceptado: 10-09-1996

Recibido: 14-10-1996

Minerals content of Paraguayan yerba mate (*Ilex paraguariensis*, S.H.)

Rafael Vera García¹, Isabel Basualdo², Inocencia Peralta³, Mercedes de Herebia⁴ and Silvia Caballero⁵.

Dirección de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

SUMMARY.- Minerals content (Fe, Ca, Mn, Mg, Na, K, Zn and Cu) of the leaves of Paraguayan yerba mate (*Ilex paraguariensis*, S.H.) as well as of commercial products has been determined by atomic absorption spectrophotometry. Considerable amounts of iron and calcium and remarkably high content of magnesium and potassium have been found both in the leaves and in the commercial products. Highly significant difference between the Fe content of the leaves and that of the commercial products has been found. Also, highly significant difference has been found between the Fe and Ca content of the higher quality-greater sale reputed commercial products and that of the lower quality-smaller sale reputed ones. Seasonal and soil linked variations are also presented. The nutritional and quality control significance of these findings for the MERCOSUR (Southern South America Economical Community) are discussed.

KEY WORDS: Nutrition, minerals, yerba mate, Paraguayan tea, MERCOSUR.

RESUMEN.- Contenido de minerales en yerba mate paraguaya (*Ilex paraguariensis* S. H.). Se ha determinado el contenido de minerales en hojas de yerba mate (*Ilex paraguariensis*, S.H.) cultivadas en el Paraguay, así como de ocho marcas de yerba comercial paraguaya, por espectrofotometría de absorción atómica. Se ha encontrado un alto contenido de Fe, Ca, K y Mg, tanto en las hojas como en las muestras de yerba comercial. Se ha encontrado una concentración de Fe significativamente más alta en el polvo de yerba comercial con relación al polvo de hojas, lo cual sugiere fuerte contaminación durante el procesamiento. Se expone el posible impacto nutricional del consumo de la yerba en la región. Se presentan además las variaciones relacionadas con las estaciones y el tipo de suelo. Se discute la importancia de estos hallazgos con relación a las propiedades nutricionales y el control de calidad para el Mercado Común del Sur (MERCOSUR).

PALABRAS CLAVES: Nutrición, minerales, yerba mate, mate, MERCOSUR.

INTRODUCTION

Early in this century, the apparently extraordinary stimulating and physical endurance enhancement properties of a herb consumed as cold (maceration) and hot (infusion) water preparations by country workmen in Paraguay and neighboring regions of Argentina, Brasil and Uruguay, raised the interest and curiosity of European scientists. The herb was named *Ca a* (currently, yerba mate or Paraguayan tea) by the natives of the country. The undernourished workers showed an incredible labor and physical work capacity in the plantations and farms where they began work at sunrise and ended at sunset. The active constituent of the herb, initially named *mateina* (1,2), was proved to be identical to caffeine (1,3,4,5,6,7). Later, in more recent times (4,5,7), traces of theophylline and theobromine were also found (0.002 and 0.05 % respectively). However, the stimulant caffeine was not sufficient to explain the workers extraordinary muscular efficiency. Consequently, a considerable amount of scientific work has been done searching for the yerba mate chemical composition which has thus far, identified several organic compounds (3). Nevertheless, there are no updated information on the mineral content of the Paraguayan yerba mate except for the preliminary results reported at the Primera Jornada de Investigación Científica y Tecnológica de la Universidad Nacional de Asunción, Paraguay (7), which showed a remarkable high Ca and Fe content. A study on commercial yerba mate samples of unidentified sources was carried on at

the Universidad Complutense de Madrid, Spain that also shows high Ca and Fe content as well as of other minerals (8). The confirmation of the high Ca, Fe, Mg and K concentrations and of its ready water extraction would turn yerba mate from a simple stimulant into minerals rich food. This would allow us to recommend its consumption even as a coffee substitute with the obvious nutritional, economical and, possibly, health advantages (9,10,11,12) for the countries that produce it such as Paraguay. In addition, these findings would support the hypothesis (R. Vera García) which holds that the massive consumption of the infusion and maceration of this product would explain the anthropometric measures of the Paraguayan population which, apparently, do not agree with the traditional Ca deficiency in the Paraguayan diet. The determination of minerals content could also permit establishing more effective

1. Head of the Research División, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, P.O.Box 1055, San Lorenzo, Paraguay.
2. Head of the Botany Department, Research División, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción.
3. Research Assistant, Department of Food Biochemistry and Nutrition, Research División, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción.
4. Laboratory Assistant, Department of Food Biochemistry and Nutrition, Universidad Nacional de Asunción.
5. Research Assistant, Department of Food Biochemistry and Nutrition, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción.

quality control regulations for commercial yerba mate. For all of these reasons this work has been undertaken.

MATERIALS AND METHODS

Equipment: Shimadzu AA-630-12 atomic absorption spectrophotometer with individual cathode lamps specific for each mineral, air-acetylene flame system, air compressor with air filter, water deionizer-distillator and a Moulinex grinder were used.

Chemicals: They, were all from Merck or Riedel-de Haen (Germany).

Sampling: The work was carried on in two stages: First Stage (1991) and Second Stage (1992). In the First Stage (1991), two samplings of yerba mate leaves were done (August 13, 1991 and October 12, 1991), three samples each of different sites, being taken, in duplicates (2 bags) in each sampling. The samples were collected from yerba mate plantations in the area of Bella Vista, Itapua, southern part of Paraguay, close to the Argentinian border. There are about 20 cm level difference between sample collection sites which were identified as A, B and C (height of A > B > C). In the Second Stage (1992), other two samplings of yerba mate leaves were done (May 25, 1992 and August 28, 1992) at the same sites of the First Stage, three samples being taken with the same identification A, B and C based on the same criteria. Samples of the plant were also collected for its botanical identification. As to the commercial yerba mate, in the First Stage two 1 kg packages of four different brands reputed as of higher quality and greater sale were collected (November 29, 1991) on the selling spots in Asunción and neighboring towns. In the Second Stage, samples of commercial yerba mate were collected (April 10, 1992) within the same area and the same amounts as the First Stage but, this time four brands reputed as of lower quality and smaller sale.

Sample processing: Yerba mate leaves washed clean with distilled-deionized water and wiped dry with absorbent tissue were put to dry at about 22°C in a controlled atmosphere (air conditioner and deshumidifier) once aliquots of fresh leaves had been separated for water content determination. Dry leaves were ground in a Moulinex grinder and, aliquots of the powder were taken for minerals and moisture determinations. As to the commercial yerba mate, of every one kilogram pack, two aliquots were taken of the powder obtained after passing it through a N° 16 sieve for minerals and moisture determinations. Contents of sticks (large and small) were determined by a two sieve system (N°8 and 16) separation which was completed manually.

Minerals determination: The methods of A.O.A.C. and Osborne (13,14), modified, were followed. For yerba mate leaves samples, duplicate aliquots of the dried leaves were ashed in a muffle furnace at 500° C for 2 hours plus another

TABLE 1
Minerals content in yerba mate leaves in mg/100g
(dry basis) First stage (1991) First sampling

Sample	Fe	Ca	Na	K	Mg	Mn	Zn	Cu
A1a	11.2	2,608	43.6	2,050	422	72.8	4.07	1.25
A1b	8.13	632	39.3	1,800	426	76.1	4.22	1.36
A2a	9.75	583	44.9	1,830	408	70.0	3.52	1.07
A2b	9.76	609	33.9	2,030	426	71.6	3.96	1.01
B1a	10.8	592	57.5	1,800	430	49.1	3.36	1.07
B1b	8.93	536	53.5	2,110	382	44.7	2.11	1.18
B2a	8.37	493	32.3	2,150	346	41.6	1.67	1.14
B2b	7.83	528	48.7	2,150	369	43.1	1.89	1.13
C1a	8.41	503	34.5	1,800	382	43.3	1.46	1.29
C2c	7.91	534	45.7	1,740	388	51.0	1.47	1.36
C2a	8.43	527	58.7	2,010	383	48.6	1.57	1.18
C2b	9.73	539	49.6	1,800	395	49.2	1.68	1.13
Mean	9.11	557	45.2	1,940	396	55.1	2.58	1.18
SD	1.08	157.3	8.56	151	25.2	12.8	1.09	0.11

TABLE 2
Minerals content in yerba mate leaves in mg/100g
(dry basis) First stage (1991) Second sampling

Sample	Fe	Ca	Na	K	Mg	Mn	Zn	Cu
A1a	8.69	550	62.0	2,130	340	60.4	3.89	1.17
A1b	8.64	568	49.1	2,280	346	63.3	3.89	1.23
A2a	7.65	627	41.9	2,120	360	70.1	4.66	0.93
A2b	8.23	642	72.6	2,070	360	68.9	4.57	0.99
B1a	12.7	752	35.8	1,930	412	93.7	4.83	1.00
B1b	13.7	794	58.2	1,830	419	72.5	4.68	1.12
B2a	12.9	562	36.5	1,950	369	71.2	2.96	1.06
B2b	11.8	575	51.1	1,850	359	96.8	3.19	1.17
C1a	12.5	817	33.0	2,240	461	99.6	7.04	1.00
C2c	12.5	804	61.4	1,990	477	119	6.87	1.00
C2a	13.0	1,961	42.7	2,030	499	121	6.44	0.94
C2b	12.1	1,014	55.3	2,020	514	119	5.47	0.94
Mean	11.4	806	50.0	2,040	410	88.0	4.87	1.05
SD	1.93	153	11.8	134.2	60.7	22.0	1.29	0.09

Moisture content of the two samplings (Mean):59.8%

TABLE 3
Minerals content in yerba mate leaves in mg/100g
(dry basis) Second stage (1991) First sampling

Sample	Fe	Ca	Na	K	Mg	Mn	Zn	Cu
A1a	13.0	748	84.6	2,630	620	32.8	8.31	2.46
A1b	13.5	751	77.8	2,830	631	34.3	8.60	1.97
A2a	11.3	745	643	2,590	650	107.0	9.62	2.21
A2b	11.8	740	65.6	2,650	644	107.0	9.62	2.05
B1a	13.3	785	74.8	2,240	607	35.3	15.2	2.22
B1b	13.8	800	68.4	2,500	571	35.7	14.8	1.93
B2a	10.5	864	56.8	2,520	690	94.4	11.6	2.24
B2b	12.3	887	54.0	2,600	690	98.7	11.8	2.53
C1a	13.5	782	89.1	2,220	756	77.7	6.93	2.76
C2c	13.8	848	75.3	2,360	712	78.3	6.93	3.01
C2a	14.6	760	87.3	2,340	704	79.2	10.3	2.51
C2b	12.8	762	72.7	2,430	720	84.3	10.3	2.31
Mean	12.8	789	72.6	2,490	666	72.0	10.3	2.35
SD	1.13	48.8	10.8	174	51.9	28.2	2.56	0.30

hour after nitric acid treatment. The ash was treated with 10 ml of hydrochloric acid (1+ 1), filtered into a 100 ml volumetric flask and taken to volume with deionized-distilled water after addition of La to a final concentration of 1%. The mineral concentrations were determined by means of an atomic absorption spectrophotometer with calibration curves prepared for every mineral. For commercial yerba mate the procedure was the same as with the leaves, two aliquots in duplicates being taken of the powder as such.

Moisture determination: Two 5 g aliquots of either fresh yerba leaves cleaned of dust, and of commercial yerba, in duplicates, were taken to the oven at 105° C, during 4 h.

DISCUSSION

The data statistical analysis was done by the Analysis of Variance, the Student's t test and the Standard Error where applicable. Regarding the main objective of this work, the most remarkable point observed in the results is the high content of Fe, Ca, K and Mg in the leaves of yerba mate (12.1, 739, 2, 500 and 531 mg per 100 g, on the dry basis, respectively) as well as in the commercial preparations (48.9, 858, 1,750 and 499 mg per 100 g, on the dry basis, respectively). Although the content of all the minerals in the leaves of natural yerba mate plants matches that of the commercial ones, it is surprising the, apparently illogical, highly significant ($P < 0.001$) higher Fe content of the commercial products. This suggests an Fe contamination during processing, particularly, in the toasting step, when the leaves are in contact with this metal at high temperature. A highly significant ($P < 0.01$) difference between the mean values of the Fe and Ca of the yerba leaves of the two harvesting periods (1991-1992) has been found, which may be due to environmental factors. No significant difference has been found between the mean values of Fe and Ca of the leaves of yerba mate of sites A, B and C (analysis of variance). However, significant difference ($P < 0.05$) has been found between the Fe mean values of samples of sites A and C which could be attributed to the lower ground level of site C. Highly significant differences ($P < 0.001$ and $P < 0.01$ respectively) have been found between the mean values of Fe and Ca of the higher quality-greater sale products and those of lower quality-smaller sale ones. Should this proved to be a constant, it could constitute one more parameter for quality control, principally of Fe which, again, appears with a significant difference even higher than Ca.

CONCLUSIONS

The yerba mate, widely consumed in the MERCOSUR area (Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay) owing to its extraordinary content of Fe, Ca, K and Mg, appears, very likely, as an important source of these minerals in the diet of the urban and rural populations of Paraguay and, mainly in the rural population of the other cited countries considering

TABLE 4
Minerals content in yerba mate leaves in mg/100g
(dry basis) Second stage (1992) Second sampling

Sample	Fe	Ca	Na	K	Mg	Mn	Zn	Cu
A1a	11.2	866	37.1	3,420	623	62.2	5.85	1.43
A1b	12.1	855	32.8	3,390	586	57.3	6.5	1.39
A2a	14.4	854	34.6	3,360	606	89.0	11.7	1.26
A2b	14.5	852	36.5	3,440	587	85.2	11.6	1.50
B1a	16.5	694	43.3	3,370	532	98.0	6.67	1.38
B1b	16.4	716	41.7	3,600	548	101.0	5.72	1.49
B2a	11.9	747	63.2	3,820	620	91.2	11.1	1.10
B2b	11.9	755	58.8	3,620	639	91.3	10.3	1.20
C1a	21.9	1,110	33.5	3,520	782	85.2	12.3	1.38
C2c	21.3	1,110	36.3	3,230	792	85.3	12.7	1.38
C2a	13.7	1,070	57.5	4,030	745	92.8	16.9	1.45
C2b	13.8	1,030	61.5	3,720	757	91.1	16.9	1.54
Mean	15.0	888	44.8	3,540	651	85.8	10.7	1.38
SD	3.38	147	11.4	217	88.6	12.6	3.74	0.12

Moisture content of the two samplings (Mean):64.0%

TABLE 5
Minerals content in commercial yerba mate leaves
in mg/100g (dry basis) First stage (1991)

Sample	Fe	Ca	Na	K	Mg	Mn	Zn	Cu
A1a	32.7	748	60.1	2,560	426	101	3.85	1.59
A1b	27.7	739	46.2	2,310	433	98.6	3.51	1.72
A2a	30.2	759	49.7	2,060	429	98.6	3.62	1.18
A2b	23.2	835	41.2	2,050	40	95.6	3.51	1.14
B1a	36.9	736	47.5	1,510	406	119.0	2.03	1.22
B1b	42.9	829	46.7	1,400	429	124	2.04	1.65
B2a	32.9	785	42.8	1,490	409	124	1.85	1.53
B2b	40.6	724	55.6	2,160	413	116	2.00	1.46
C1a	20.6	817	40.1	1,800	441	70.8	3.81	1.39
C2c	19.0	849	49.8	1,760	425	68.5	3.56	1.32
C2a	17.9	844	52.6	1,770	464	73.4	3.96	1.21
C2b	20.6	818	55.7	1,680	423	73.2	3.79	1.41
D1a	18.8	751	45.6	155	456	71.3	3.13	1.25
D2b	22.4	810	44.0	1,500	438	70.4	3.34	1.32
D2a	23.4	772	48.6	1,580	413	71.6	3.26	1.21
D2b	18.5	765	52.8	1,680	439	69.8	3.02	1.28
Mean	26.8	786	48.7	1,800	431	90.4	3.14	1.37
SD	18.5	40.9	5.42	323	16.2	20.9	0.71	0.17

Sticks content: one determination for every 1 kg sample. Mean of every brand
A1 y A2:14.2% B1 y B2:20.8% C1 y C2:17.6% D1 y D2:19.2% / Mean of all brands:
17.9 / Moisture content (Mean of all brands) 7.37%

TABLE 6
Minerals content in commercial yerba mate leaves
in mg/100g (dry basis) Second stage (1992)

Sample	Fe	Ca	Na	K	Mg	Mn	Zn	Cu
A1a	52.4	1,240	25.8	1,740	597	101.0	11.5	1.80
A1b	50.0	1,150	24.9	1,520	604	101.0	11.5	1.96
A2a	58.0	1,070	24.1	1,940	594	85.6	12.4	1.65
A2b	57.1	1,270	23.4	1,860	592	91.8	12.6	1.80
B1a	79.0	1,020	34.1	1,510	488	12.0	7.52	1.62
B1b	71.2	1,000	30.9	1,600	494	113	7.57	1.67
B2a	70.1	946	22.8	1,650	509	110	7.55	1.51
B2b	70.3	803	22.6	1,770	543	121	7.57	1.45
C1a	48.6	931	27.8	1,740	614	91.2	15.1	1.47
C2c	47.5	924	28.6	2,030	640	92.0	15.0	1.29
C2a	39.8	942	28.4	1,120	620	89.0	15.0	1.10
C2b	40.0	933	34.7	1,980	634	90.1	15.6	1.14
D1a	101.0	651	26.1	1,690	548	111	4.77	1.43
D2b	103.0	618	32.5	1,610	540	105	4.48	1.45
D2a	104.0	662	30.0	1,770	547	113	4.99	1.97
D2b	112.0	704	33.8	1,600	519	109	4.96	1.50
Mean	69.0	929	28.2	1,700	568	103	9.88	1.55
SD	23.5	195	4.02	212	48.6	11.3	4.00	0.24

Sticks content: one determination for every 1 kg sample. Mean of every brand
A1 + A2:20.4% B1 + B2:18% C1+C2:22.7% D1 + D2:17.8% / Mean of all brands:
19.7% Moisture content (Mean of all brands) 8.89%

the massive consumption either as a maceration (tereré) or as an infusion or tea. The bioavailability of the minerals remains to be determined. It should be remembered, here, the high of caffeine and tannic acid in this herb.(3,5,6,7). It has been reported (8) maceration and infusion extractions of 12 and 14 %, respectively; for Fe and Ca. Should these values proved to be true, the amount of these minerals ingested would still be considerable on account of the large volume consumed per day either as a maceration (a sort of cold tea) or as an infusion (a sort of hot tea), mainly in Paraguay and Uruguay. Moreover, this would be supporting the hypothesis (R. Vera Garcia) that the consumption of yerba mate, due to its high Ca content, would be explaining the anthropometric measurements of the Paraguayan population which do not seem to match the traditional Ca deficiency in the diet of those people. These findings could also explain the extraordinary capacity for physical work of the undemourished plantation workmen in the rural areas of Paraguay observed by European and regional scientists which was attributed by the former to the consumption of a «mysterious» herb called «Ca á» (yerba mate), phenomenon not explainable sufficiently by its caffeine content (1,5). The difference encountered between the two groups of commercial yerba mate in terms of their Fe and Ca content reinforces the possibility of taking the minerals content as another parameter for quality control of this product.

REFERENCES

1. Samaniego, C C. *Ilex paraguariensis*, Yerba mate.» Ca á». Paraguay, 1927, 126 p.
2. Grondona, E.M.2 Historia de la yerba mate. Revista Argentina de Agronomía Tomo 21:9-24-1954.
3. Alikaridis, F. Natural Constituents of *ilex* species. J. of Ethnopharmacology, 20:121-144, 1987.
4. Descartes de García Paula. Alkaloids of Mate. Rev. Brasil Quim (Sao Paulo) 54: 492-4, 1962.
5. Vázquez, A. and P. Moyna. Studies on Mate Drinking. J. of Ethnopharmacology 18:267-272, 1986.
6. Vera García, R y col. Composición y Calidad de la Yerba Mate Paraguaya (*Ilex paraguariensis*, S.H.). Informe Técnico del INTN, Paraguay, 1989.
7. Vera García, R Características Químicas de la Yerba Mate Paraguaya (*Ilex paraguariensis*, S.H.). Resultados Preliminares. Primera Jornada Universitaria de investigación Científica y Tecnológica, Paraguay. Septiembre. 1988.
8. Tenorio Saenz, M.D and Torija, M.E. Elementos Minerales en la Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*, S.H.). Arch Latinoamer de Nutr 41(3): 441-454, 1991
9. Ames, B N Genetic Toxicology of the Diet In: Proceedings of a Satellite Symposium of the Fourth International Conference on Environmental Mutagens held in Copenhagen, Denmark, June 19-22, 1985. Ib Knadsen Ed. Alan R Liss Inc, 1986.
10. Fujita, Y., Wakabayashi, K et al. Implication of hydrogen peroxide in the mutagenicity of coffee. Mutation Research, 144:227-230, 1985.
11. Giberti, G.C. Las especies Argentinas del genero *Ilex*.L. (Aquifoliaceae). Darwiniana 22(1-3):217-240-1979.
12. Nagao, M., Wakabayashi, K. et al. Mutagenic compounds in soy sauce, chinese cabbage, coffee and herbal teas. In: Genetic Toxicology of the Diet. Alan R. Liss, Inc. pp 55-62 1986
13. Association of the Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of the A.O.A.C.14 Ed. Washington, D.C. 1984.
14. Osborne, D.R. and P. Voogt. The Analysis Nutrients in Food. Academic Press. 1978. 251 p.

Recibido: 03-01-1996

Aceptado: 25-11-1996

Contenido de colesterol en carne de pollo y sus productos manufacturados

Alicia Mariela Rincón¹, Fanny Carrillo de Padilla², Consuelo Araujo de Vizcarrondo³ y Eduardo Martín⁴

Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Apartado 40109. Caracas 1041-A, Venezuela

RESUMEN.- Se estudiaron muestras de carne y vísceras de pollo, así como productos manufacturados con este tipo de tejido desde el punto de vista de composición de esteroides, principalmente el colesterol, con el fin de determinar su calidad nutricional, además de contribuir con la tabla de composición de alimentos venezolanos. Se eligió la cromatografía gas-líquido para la separación y cuantificación del colesterol y los fitoesteroides eventualmente presentes. El método involucra la extracción de lípidos totales, saponificación, separación del insaponificable y determinación directa del colesterol y fitoesteroides. Los valores promedio de colesterol encontrados (mg/100 g de muestra húmeda), son entre otros: 31,13 (embutido de pechuga de pollo), 57,35 (producto tipo «jamón» de pollo); 69,02 (salchichas de pollo); 60,46 (bologna de pollo).

SUMMARY.-Cholesterol content in chicken meat and chicken products.- High cholesterol saturated lipids ingestion has been linked to the increment of coronary diseases, particularly atherosclerosis. In this study, samples of viscera and chicken meat, as well as manufactured chicken products are characterized from the point of view of their sterol content, specially cholesterol, with the purpose to determine their nutritional quality and to contribute with the development of Venezuelan food composition tables. Gas-liquid chromatography was the method chosen for the separation and quantification of cholesterol and fitosterols eventually present. The method involves lipids extraction, direct saponification, extraction of the unsaponifiable matter and its injection in the gas chromatograph. The average cholesterol values in mg/100 g. wet sample were: 31,13 (manufactured chicken breast); 57,35 (ham like type of product made with chicken); 69,02 (chicken sausages); 60,46 (chicken «bologna»).

INTRODUCCION

El incremento de las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares hacen que estas se consideren un problema de salud pública debido a la alta tasa de mortalidad que ellas generan. Aun cuando en los últimos años esas tasas de mortalidad tienden a estabilizarse, estadísticas recientes de la Organización Mundial de la Salud muestran que las enfermedades cardiovasculares fueron responsables de unos 5,8 millones de muertes en 1990 en el mundo industrializado occidental mientras que en países menos desarrollados causaron un 70% más muertes (1). De allí que se hace necesario desarrollar estrategias preventivas con el fin de disminuir o minimizar uno de los factores de alto riesgo, como es el colesterol ingerido con los alimentos, el cual está relacionado con el incremento de la incidencia de estas enfermedades ya que producen una elevación del colesterol sérico. El conocimiento de la composición en cuanto a los esteroides, particularmente el colesterol, en los alimentos venezolanos permitirá desarrollar tales estrategias, por lo que es de gran importancia para el campo de la salud y de los consumidores en general.

En países como los Estados Unidos, en el que existe una alta incidencia de las enfermedades cardiovasculares, a través de la Nutrition Labeling and Education Act (NLEA) de 1990, y organismos como la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) y el Departamento de Agricultura (USDA) se han establecido regulaciones en cuanto a la obligación que tienen los fabricantes de declarar en la etiqueta de los productos alimenticios, el contenido de colesterol.(2) .Esos mismos

organismos también han recomendado un máximo de ingesta de colesterol de 300 mg/día, con el fin de disminuir el colesterol sanguíneo y reducir así el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

En Venezuela no existen tales regulaciones, sin embargo, se hace necesario cuantificar el colesterol presente en los alimentos de amplio consumo en el país con el fin de tener nuestras propias cifras en las tablas de composición de alimentos venezolanos, lo que permitiría, a los profesionales del área de la salud, elaborar regímenes alimenticios más sanos y establecer las acciones preventivas, especialmente dirigida en la población más susceptible al padecimiento de la elevación de los lípidos en el plasma, individuos entre los 20 y 35 años de edad.(1)

Pocos estudios han sido publicados en Venezuela sobre la determinación de colesterol en carne de pollo y sus productos manufacturados Labrador et al (3) establecieron el colesterol total en algunos alimentos venezolanos mediante métodos colorimétricos que a decir de los mismos autores, no es específico para el colesterol, razón por la cual reportaron esteroides totales.

1. Profesor Instructor adscrita al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas. Programa Investigador Novel, Convenio UCV/ CONICIT. Facultad de Farmacia. UCV.
2. Profesor Asociado. Directora de la Facultad de Farmacia. Facultad de Farmacia. UCV.
3. Profesor Agregado. Facultad de Farmacia. UCV.
4. Profesor Asociado. Facultad de Farmacia. UCV.

En la revisión de la literatura sobre las técnicas de cuantificación de colesterol en productos alimenticios, se encuentra que los métodos cromatográficos son los más ampliamente utilizados, especialmente la cromatografía gas/líquido (4-7) y la cromatografía líquida de alta eficiencia (5,8-10). La cromatografía de gases es la técnica oficial del AOAC(11), sin embargo, requiere gran cantidad de reactivos y algunos de ellos tóxicos, así como de materiales más costosos, por lo que en este estudio, se decidió utilizar la metodología de Halsani et al.(4) debido a que es una metodología rápida, sencilla, relativamente más económica y se pueden detectar y cuantificar esteroides de origen animal (principalmente el colesterol) y esteroides de origen vegetal (fitoesteroides), además de la reproducibilidad de los resultados obtenidos, minimizando el uso de reactivos dañinos.

MATERIALES Y METODOS

Equipos. Cromatógrafo de gases, provisto de un detector de hidrógeno con ionización a la llama. (Varian, modelo 3700). Columna de acero inoxidable (1,8 m x 4 mm), empacada con SE-30 al 5% en Gas-Chrom Q 100-120 mesh. Las condiciones de operación fueron: gas nitrógeno, 50 ml/min; hidrógeno, 30 ml/min; aire, 300 ml/min. Temperatura de la columna, 248 °C; Inyector, 280 °C y Detector, 290 °C. Integrador Hewlett Packard,

modelo 3395. Parámetros: Zero: 0,815.511; Atenuación: 5; Velocidad del papel: 0,2; Ar Rej: 0; Thrsh: 3; PK WQ: 0,04.

Materia prima. Las muestras de carne de pollo y sus productos derivados fueron obtenidas en el mercado local, durante los meses de marzo a noviembre del año 1995. Se escogieron al azar de diferentes puntos de venta (mercados libres, supermercados y abastos). Se compraron tres muestras de un mismo tipo de corte de carne y de producto. Se redujo el tamaño de la muestra y se sometió a molienda y homogeneización en un molino marca «Oster», modelo 979-16 V 120 voltios. Los análisis se realizaron por triplicado para cada muestra.

Reactivos. Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico.

Metodología. La preparación de las muestras para su inyección en el equipo cromatográfico se realizó según la metodología descrita por Al Hasani et al(4)

El método se fundamenta en una saponificación vigorosa de la muestra con solución de hidróxido de potasio en medio alcohólico, seguida del aislamiento de la fracción insaponificable de la grasa con hexano. En la fracción insaponificable se encuentran los esteroides a la cual se le adiciona 1 ml de a-

FIGURA 1

Separación cromatográfica de los patrones colestano (A); 2µg; colesterol (B) 5µg y estigmasterol (C) 10µg

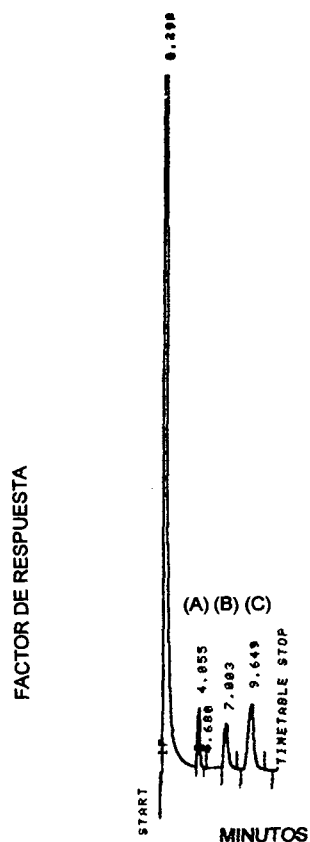


FIGURA 2

Separación cromatográfica de una muestra de carne de pollo manufacturada

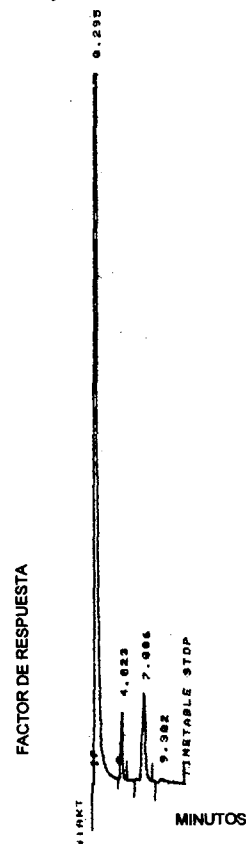


TABLA 1

Contenido de colesterol y fitoesteroles en muestras de carne de pollo crudo, vísceras de pollo crudo y productos manufacturados con carne de pollo

Muestra	Promedio de colesterol (mg/100 g)	C.V (%) Colesterol	Promedio de fitoesterol (mg/100 g)
Muslo sin piel	73,70 ± 2,77	3,76	N.D.
Pechuga	28,81 ± 1,87	6,47	N.D.
Ala de pollo	69,15 ± 2,34	3,38	N.D.
Hígado	293,55 ± 6,23	2,12	N.D.
Corazón	44,89 ± 2,37	5,20	N.D.
Molleja	195,60 ± 5,50	2,81	N.D.
Piel	89,21 ± 0,79	2,25	N.D.
Salchicha de pollo	69,02 ± 0,87	1,20	N.D.
Jamón de pollo	57,35 ± 4,18	7,29	N.D.
Bologna de pollo	60,46 ± 0,50	0,83	N.D.
Pechuga de pollo (Embutido)	31,13 ± 1,26	4,04	N.D.
Carne de pollo entera enlatada	84,94 ± 0,08	0,09	N.D.
Carne de pollo picada enlatada	16,58 ± 0,52	3,14	0,87 ± 0,04

1. n=9

2. Expresado como estigmasterol

N.D. No detectable por el método

colestano (patrón interno) a la concentración de 0,2 mg /ml y se inyectan 10ml en el Cromatógrafo. La señal es recogida en un equipo integrador para identificar y cuantificar los esteroides presentes en la muestra.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se muestran los resultados del contenido promedio de colesterol en muestras de carne de pollo crudo, vísceras de pollo crudo y productos manufacturados con carne de pollo. Los valores promedio de colesterol para los cortes de carne y vísceras de pollo van desde 28,81 ± 1,87 hasta 293,55 ± 6,23 mg/100 g de muestra húmeda. Debe notarse que los cortes de pechuga presentan el más bajo contenido de colesterol y las muestras de carne de hígado el más alto. Estos resultados se pueden relacionar con el contenido de lípidos totales presentes en estas muestras, así Araujo(12) encontró que la pechuga de pollo presenta el menor contenido de lípidos (1,0 g/100 g de muestra), mientras que en el hígado, donde se sintetiza y se almacena el colesterol, hay mayor cantidad de lípidos totales (4,77 g/100 g de muestra). En general, los valores obtenidos siguen la tendencia de lo reportado por otros (3,13). Sin embargo, las cifras encontradas en este trabajo son inferiores a las obtenidas por Labrador et al (3) correspondiéndose más con las obtenidas por Hirata et al (13) por lo que se infiere que los resultados encontrados en este estudio son menores debido a que cuando se utilizan métodos colorimétricos, como es el caso de Labrador et al (3), se sobrestima el colesterol presente en la muestra, por la presencia de otros cromógenos que absorben a la misma longitud de onda.(14)

Un aspecto interesante en este estudio es que el contenido promedio de colesterol en alas de pollo (69,15 ± 2,34 mg/100 g de muestra), es comparable al contenido promedio de colesterol en la carne proveniente del muslo de pollo (73,70 ± 2,77 mg/100 g de muestra). Tales resultados hacen pensar que en el muslo de pollo existe grasa no visible, pero con un elevado contenido de colesterol.

En relación a los valores promedio de colesterol en productos manufacturados en Venezuela, a base de carne de pollo, puede observarse en la Tabla 1 que en los mismos, las cifras de colesterol van desde 16,58 ± 0,52 hasta 84,94 ± 0,08 mg/g muestra húmeda. El bajo contenido de colesterol en las muestras de carne de pollo picado posiblemente se debe a que éste es un producto manufacturado al que se le han adicionado otros ingredientes (guisantes, salsas, especias, aceite vegetal, entre otros). Por otra parte, en el producto «carne de pollo entero enlatado», los ingredientes de la etiqueta señalan que es elaborado con carne de pollo y grasa de cerdo, razón por la cual el nivel de colesterol es relativamente elevado. (84,94 mg/100 g de muestra).

Los coeficientes de variación van desde 0,09 hasta 7,29% para los diferentes productos en estudio (Tabla 1). Los coeficientes de variación más elevados podrían ser atribuidos, en el caso de las muestras sin manufacturar, a las diferentes procedencias de los cortes, entrando a jugar posiblemente otros factores tales como el tipo de alimentación del animal y edad, entre otros. En el caso de los productos manufacturados, el producto tipo «jamón» de pollo tiene el coeficiente de variación más elevado, por lo que se supone que esto puede deberse a la posible influencia de otros ingredientes en la elaboración del producto, necesiándose quizás otros ensayos para dilucidar el por qué de este comportamiento.

En las Figuras 1 y 2 se muestran los cromatogramas de los estándares utilizados y de una muestra manufacturada de carne de pollo, respectivamente. Puede notarse que las líneas base se mantienen en ambos cromatogramas. En la Figura 2 se observa que además del pico del colesterol detectado, aparece otro pico a un tiempo de retención de 9,30 minutos, estableciéndose que este último corresponde a un fitoesterol (estigmasterol), por el tiempo de retención obtenido en el cromatograma patrón.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por el Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, y el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, a través de una ayuda menor.

REFERENCIAS

1. Bosch, V. Enfermedades por excesos. En: V Simposio de Nutrición. Venezuela entre el Exceso y el Déficit. Fundación CAVENDES. Edic. Cavendes. Caracas, 1995
2. Sullivan, D.M. Cholesterol. En: Analysing Food for Nutrition Labeling and Hazardous Contaminant. I.J. Jeon and W.G. Ikins.(Ed). USA. 1995. p. 77-86.

3. Labrador, O.L.; E. Sangronis & O. Brito. Determinación del contenido de colesterol de algunos alimentos de amplio consumo en Venezuela. *Acta Científica Venezolana*. 38: 262-265. 1987
4. Al-Hasany, S.M.; J. Hlavac & M.W. Carpenter. Rapid determination of cholesterol in single and multicomponent prepared food. *J. AOAC International*. 76(4):902. 1993
5. Jiang, Z.; M. Fenton & J.S. Sim. Comparison of four different methods for eggs cholesterol determination. *Poultry Sci.* 70 (4): 1015-1019. 1991
6. Zubillaga, M.P. & G. Maerker. Quantification of three cholesterol oxidation products in raw meat and chicken. *J. Food Sci.* 56 (5):1194-1196. 1991
7. Engeseth, N.J. & J.I. Gray. Total cholesterol determination-evaluation of analytical methods and survey of meat products. In *Proceeding 35th International Congress of Meat Science and Technology*. Vol. II, 568-572. 1989
8. Karkelas, J.; A.E. Donald & K.M. Clegg. Cholesterol content of poultry meat and cheese determined by enzymic and Gas-Liquid Chromatography Methods. *J. Food Techn.* 17(2): 281-283. 1982
9. Perrin, J.L. & R. Raoux. Separation of sterols by reverse phase HPLC in non-aqueous medium. *Revue-Francaise-des-Corps-Gras*. 35 (8/9): 329-333. 1988 [In *Food Sci. Technol Abstr.* (1980) 12-NO034]
10. Csiky, I. Trace enrichment and separation of cholesterol oxidation products by absorption high-performance liquid chromatography. *J. Chrom.* 241(2):381-389. 1982
11. *Official Methods of Analysis*. 15th Ed., AOAC, Arlington, VA. Secs. 970,51, e,f,g,h, and 976,26. 1990
12. Araujo de V. C. *Acidos grasas en productos cárnicos venezolanos*. Trabajo de Ascenso. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. 1995
13. Hirata, A.; M. Nishino; T. Kimura & Y. Ohtake. Effects of dietary fats of laying hens on the fatty acid composition and cholesterol contents of chicken skin and muscles. *J. Jap Soc. Sci. Techn.* 33 (7): 480-486. 1986 [In *Food Sci. Technol Abstr.* (1987)11-SO105]
14. Stewart, G.; G. Gosselin & S. Pandian, S. Selected on monitoring of tert-butyldimethylsilyl cholesterol ethers for determination of total cholesterol content in foods. *Food Chem.* 44: 377-380. 1992

Recibido: 14-10-1996

Aceptado: 14-02-1997

Notas

XI Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición "Dr Abraham Horwitz" y XI Congreso Centroamericano de Nutricionistas y Dietistas. Guatemala, noviembre 9-15,1997

Invitación

El Comité Organizador del XI Congreso Latinoamericano de Nutrición y del XI Congreso de Nutricionistas Dietistas de Centroamérica, que se celebrará en la Ciudad de Guatemala del 9 al 15 de noviembre del presente año, invita a participar en este evento a todos los Miembros de SLAN y a la comunidad científica latinoamericana que labora en área afines a la alimentación y nutrición.

El propósito del Congreso es intercambiar información científico-técnica actualizada y válida sobre temas de alimentación y nutrición, relacionada con los esfuerzos realizados hacia el logro de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en América Latina.

El Congreso se centra en los siguientes temas: Seguridad Alimentaria y Nutricional a nivel local, Economía Alimentaria, Protección de Alimentos, Alimentos Nutricionados, Educación Alimentaria y Nutricional, Desarrollo y Formación de Recursos Humanos, Micronutrientes, Nutrición de la Mujer y de la Niñez, Dieta y Salud de Adultos, Composición de Alimentos y Vigilancia, Monitoreo y Evaluación.

El programa considera conferencias, simposios, mesas redondas, trabajos libres y exhibiciones. Así mismo, se llevarán a cabo varias actividades precongreso, inclusive Cursillos y Talleres.

El idioma oficial del Congreso es el español, sin embargo podrán hacerse presentaciones en inglés y portugués. En algunas sesiones se contará con traducción simultánea del inglés al español.

La temperatura promedio anual de la Ciudad de Guatemala es de 20° C (68°F). En la época del Congreso el clima es ligeramente fresco en la mañana y noche, y cálido a mediodía.

Información sobre la presentación de trabajos libres

Los trabajos libres deben basarse en resultados de investigaciones originales o experiencias prácticas, dentro de la gama de aspectos biológicos, técnicos, metodológicos, epidemiológicos y de salud pública relacionados a la alimentación y nutrición humanas.

Los trabajos serán aceptados siempre que sean de alta calidad científica y realizados con ética profesional, principalmente respecto al manejo de sujetos humanos o animales experimentales. Un resumen del trabajo debe enviarse a una de las direcciones indicadas, antes del 30 de junio de 1997, en forma electrónica a través de un disquete o por vía e-mail, sea en Word Perfect o Microsoft Word, con un límite de 250 palabras.

El resumen debe contener: a) Título del trabajo (mayúsculas), b) Nombre completo de los autores, c) Nombre de su institución, y d) Texto. Para que sea aceptado para la selec-

ción, el resumen debe ir acompañado de la boleta de inscripción debidamente llenada. El Congreso publicará los resúmenes y el Comité Técnico Científico se reserva el derecho de publicar el límite de palabras indicado.

El Comité Científico Técnico del Congreso decidirá si los trabajos libres pueden ser presentados en forma oral o como carteles. El Comité avisará oportunamente a los autores.

Los resúmenes pueden ser enviados en español, portugués o inglés, idiomas en que deberán ser presentados en las exposiciones orales o por medio de carteles.

Presentaciones orales

Las presentaciones orales de los trabajos libres se harán en sesiones programadas de 14:00 a 16:00 horas los días lunes, martes y jueves de la semana del Congreso.

Se contará con facilidades de proyección de diapositivas de 35mm y transparencias. La duración de la exposición será de 10 minutos estrictos, por lo que se recomienda un máximo de 12 diapositivas o transparencias.

Carteles

La exhibición de carteles de los Trabajos Libres se hará de 12:30 a 14:00, los días lunes, martes, jueves y viernes en el Área de Exhibiciones del Congreso.

Los lugares para la colocación de los carteles serán asignados por número. La exhibición debe estar comprendida en un espacio de 1.0 x 1.5 metros.

Envío de resúmenes

Los resúmenes pueden enviarse a través de:

Correo electrónico:

hdelgado@incap.org.gt / rflores@incap.org.gt /

mnenchu@incap.org.gt

Correo postal: INCAP, Calzada Roosevelt zona 11, Apartado Postal 1188 Guatemala, C.A.

o INCAP P.O. Box 02-5289 Sección 0951 Miami, Florida 33102-5289 USA

Cualquier aclaración hacerla a las direcciones anteriores o a los teléfonos: PBX (502) 4723762 ó (502) 4715655 Fax:(502) 4736529

Información general

Cuotas de inscripción

Los participantes extranjeros deben pagar los gastos de inscripción con cheque o giro bancario en dólares de Estados Unidos de Norte América, a nombre de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Los participantes guatemaltecos pueden hacerlo en Quetzales en el equivalente al cambio oficial.

El costo de la inscripción para los cursillos precongreso se informará en futuras comunicaciones.

Hoteles

Las tarifas corporativas de los hoteles en la Ciudad de Guatemala, por habitación para una o dos personas, oscilan entre los siguientes precios:

Hotel categoría ***** entre US\$75 y US\$95

Hotel categoría **** entre US\$50 y US\$75

Sociales:

Se contará con un programa especial para participantes y acompañantes, que se informará a su arribo al evento.

Aviso importante:

Entre los primeros 50 resúmenes de Trabajos Libres recibidos, se sortearán 5 bolsas viajeras completas (boleto, hotel e inscripción) y 5 financiamientos parciales (hotel e inscripción). Además, W.K. Kellogg Institute otorgará un premio al mejor trabajo de investigación enviado antes del 30 de junio. Se tendrán dos categorías: Estudiantes y Profesionales, los premios serán de US\$ 2,000 y US\$3,000, respectivamente.

Boleta de inscripción:

Nombres: _____

Apellidos: _____

Título: _____

Institución: _____

Dirección postal: _____

Estado/Provincia: _____

País: _____

Teléfono: _____ Fax: _____

Dirección electrónica: _____

Envío cheque () o giro () por: US\$ correspondientes a:

	Antes del 30/6/97	Antes del 30/9/97	A partir del 30/9/97
() Socios de SLAN	US\$75	US\$100	US\$125
() No Socios de SLAN	US\$100	US\$125	US\$150
() Estudiantes*	US\$25	US\$35	US\$50
() Acompañante	US\$25		

*Anexo copia de indentificación como estudiante

SI () NO ()

Deseo presentar un Trabajo Libre en el área de:

Envío resumen para consideración SI () NO ()

Deseo concursar para el Premio de W.K. Kellogg

SI () NO ()

CONGRESO DE LA SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICIÓN
SLAN 97
 Noviembre 9-15, 1997

Promoviendo la Seguridad Alimentaria y Nutricional en América Latina.
 Guatemala, Guatemala

Información sobre cursos pre-congreso serán proporcionados próximamente

Temas centrales:

- SAN a Nivel Local
- Economía Alimentaria
- Protección de Alimentos
- Alimentos Nutricionados
- Educación Alimentaria y Nutricional
- Formación de Recursos Humanos
- Micronutrientes
- Nutrición de la Mujer y la Niñez
- Dieta y Salud en Adultos
- Vigilancia, Monitoreo y Evaluación

Fecha límite para recibir resúmenes: 30 de junio de 1997

SLAN 97
 CONGRESO DE LA SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICIÓN
 Noviembre 9-15, 1997
 Guatemala, Guatemala

Ante en su agenda: Congreso SLAN-97

Para mayor información dirigirse a:

Dr. Hernán L. Delgado
 Calle SLAN 97
 Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá
 20600
 Apartado Postal 1188
 Ciudad de Guatemala
 Guatemala, C.A.
 Teléfono PAX (502) 473762 ó 475655
 Fax (502) 4736529
 o
 INCAP
 P.O. Box 02-5289 San José 0951
 Miami, Florida 33002-5289
 USA

Para mayor información dirigirse a:
 Dr. Hernán L. Delgado
 Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá
 (INCAP)
 Apartado Postal 1188
 Ciudad de Guatemala
 Guatemala, C.A.
 Teléfono PAX (502) 473762 ó 475655
 Fax (502) 4736529
 o
 INCAP
 P.O. Box 02-5289 San José 0951
 Miami, Florida 33002-5289
 USA

E-Mail: slan97@incap.org.gt
 Web: http://www.incap.org.gt/slan97.htm

SLAN 97
 XI CONGRESO SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICIÓN
"Dr. Abraham Horwitz"
 XI CONGRESO CENTROAMERICANO DE NUTRICIONISTAS Y DIETISTAS
 Noviembre 9-15, 1997
 Guatemala, Guatemala C.A.

Cursos pre-congreso
 2-9 de noviembre, 1997

Se informará próximamente

CONGRESO

Temas centrales:

- Seguridad Alimentaria y Nutricional a nivel local
- Economía Alimentaria
- Protección de Alimentos
- Alimentos Nutricionados
- Educación Alimentaria y Nutricional
- Formación de Recursos Humanos
- Micronutrientes
- Nutrición de la Mujer y la Niñez
- Dieta y Salud en Adolescentes y Adultos
- Vigilancia, Monitoreo y Evaluación
- Composición de Alimentos

Programa

Hora	Temas	América	América	Jóvenes	Mujeres
08:30 - 09:30	inauguración	Conferencia Regional	Conferencia Regional	Conferencia Regional	Conferencia Regional
09:30 - 10:30	Programa Especial	Debates/Panelos	Debates/Panelos	Debates/Panelos	Debates/Panelos
10:30 - 12:30		Simposios	Simposios	Simposios	Simposios
12:30 - 14:00	Carreles/ Homajes	Carreles/ Homajes	Músicas	Carreles/ Homajes	Carreles/ Homajes
14:00 - 16:00	Presentaciones Orales	Debates	Artículos	Presentaciones Orales	Sesión de SLAN
16:00 - 18:00	Sesión de trabajo	Sesión de trabajo	Guatemala	Sesión de trabajo	Sesión de trabajo
18:00 en adelante	Ceril de Bienvenida	Evento Cultural	Libre	Evento Cultural	Fiesta de despedida

Información para los autores

Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas ¹

Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas ²

En enero de 1978, un pequeño grupo de directores de revistas médicas generales se reunieron en Vancouver, Canadá, para fijar pautas con respecto a la presentación de los manuscritos enviados a ellas. El grupo, que se ha ampliado y actualmente es conocido como el Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (o también como el Grupo de Vancouver), se ha venido reuniendo cada año desde entonces y sus inquietudes se han hecho más generales. El comité ha elaborado cuatro ediciones de los *Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas*; la presente edición, que es la cuarta, fue ligeramente enmendada en enero de 1993³.

RESUMEN DE LOS REQUISITOS

El manuscrito se mecanografiará a doble espacio, incluidos la página del título (página inicial, portada), el resumen, el texto, los agradecimientos, las referencias, los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones.

Cada componente del manuscrito empezará en página aparte,

siguiendo esta secuencia: página del título; resumen y palabras clave; texto; agradecimientos; referencias; cuadros (cada uno, junto con el título y las notas al pie, en página aparte); y pies o epígrafes de las ilustraciones.

Las ilustraciones se presentarán en forma de impresiones fotográficas de buena calidad, en papel satinado, sin montar y generalmente de 127 x 173 mm, sin exceder de 203 x 254 mm.

Las copias del manuscrito y de las ilustraciones en el número requerido (véanse las instrucciones de la revista) se remitirán en un sobre de papel resistente. El manuscrito irá acompañado de una carta explicatoria, según se describe más adelante en "Presentación del manuscrito a la revista", y de los permisos necesarios para reproducir material ya publicado o para usar ilustraciones en las que se pueda identificar a alguna persona.

Síganse las instrucciones de la revista con respecto a la cesión de los derechos de autor. Los autores conservarán copia de todo lo enviado.

PUBLICACION PREVIA Y DUPLICADA

La mayoría de los directores de revista no desean considerar para publicación un manuscrito acerca de un trabajo que ya se ha dado a conocer en un artículo publicado o que se ha descrito en un artículo propuesto o aceptado para publicación en otra parte, ya sea un medio impreso o electrónico. Por lo general, esta norma no impide considerar un artículo rechazado por otra revista o una comunicación completa que sigue a la publicación, por lo común bajo la forma de un resumen, de un informe preliminar. Tampoco impide considerar un artículo presentado en una reunión científica si éste no aparece íntegramente en las actas de la reunión o una publicación semejante. Las informaciones periodísticas acerca de la reunión no se considerarán en general como infracciones de esta regla, pero no habrán de ampliarse mediante datos suplementarios o copias de los cuadros o las ilustraciones. Cuando se propone un artículo para publicación, el autor está obligado a informar plenamente al director de la revista acerca de cualquier presentación del documento a otras revistas o cualquier informe anterior que pudiera considerarse publicación previa o duplicada de un mismo trabajo o de uno muy semejante. Junto con el manuscrito se incluirán copias de los documentos pertinentes para ayudar al director a decidir la manera de hacer frente a este asunto.

Rara vez se justifica la publicación múltiple, que se define como el acto de publicar más de una vez los mismos resultados

¹ Versión española basada en: *International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals.* JAMA 1993;269:2282-6.

Este documento no está protegido por derechos de autor. Puede copiarse o reimprimirse sin autorización, siempre y cuando se haga sin fines de lucro.

Las consultas y observaciones deben dirigirse a Kethleen Case, Secretariat Office, Annals of Internal Medicine, Independence Mall West, Sixth Street at Race, Philadelphia, PA 19106-1572.

Traducción: Dr. Gustavo A. Silva, traductor y redactor médico, miembro de la American Medical Writers Association, el Council of Biology Editors y la European Association of Science Editors.

Dirección postal: 5313 King Charles Way, Bethesda, MD 20814, Estados Unidos de América.

² *Actualmente se hallan representadas en el comité las siguientes revistas y publicaciones: Annals of Internal Medicine, British Medical Journal, Canadian Medical Association Journal, The Journal of the American Medical Association, The Lancet, The Medical Journal of Australia, The New England Journal of Medicine, New Zealand Medical Journal, Tidsskrift for den Lageforeing, The Western Journal of Medicine e Index Medicus.*

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

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

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

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

La divulgación preliminar, generalmente por conducto de los medios de comunicación de masas, de la información científica contenida en un artículo ya aceptado pero aún sin publicar representa una infracción de las normas de muchas revistas. En contadas ocasiones, y sólo mediante previo acuerdo con el director, puede aceptarse la diseminación preliminar de datos; por ejemplo, cuando se trata de precaver a la gente contra ciertos riesgos para la salud pública.

PREPARACION DEL MANUSCRITO

Mecanografíese o imprímase el manuscrito en papel bond blanco de 216 x 279 mm o de la medida estándar ISO A4 (212 x 297 mm), con márgenes de por lo menos 25 mm. Escríbase solamente sobre una cara del papel. Utilícese doble espacio a lo largo de todo el manuscrito o impreso de computadora, incluidos la página del título, el resumen, el texto, los agradecimientos, las referencias, cada uno de los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones. Cada uno de los siguientes componentes comenzará en hoja aparte: página del título, resumen y palabras clave, texto, agradecimientos, referencias, cada uno de los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones. Numérense las páginas en forma consecutiva, empezando por la del título. Sobre el ángulo superior o inferior derecho de cada página anótese el número correspondiente.

PAGINA DEL TITULO

La primera página contendrá: a) el título del artículo, que será conciso pero informativo; b) nombre y apellido(s) de cada autor, acompañados de sus grados académicos más importantes y su

afiliación institucional; c) nombre del departamento o departamentos y la institución o instituciones a los que se debe atribuir el trabajo; d) declaraciones de descargo de responsabilidad, si las hay; e) nombre y dirección del autor que se ocupará de la correspondencia relativa al manuscrito; f) nombre y dirección del autor a quien se dirigirán las solicitudes de separatas, o nota informativa de que los autores no las proporcionarán; g) origen del apoyo recibido en forma de subvenciones, equipo o medicamentos; y h) título abreviado (titulillo) que no pase de 40 pulsaciones (contando caracteres y espacios), el cual se colocará, debidamente rotulado, en la última línea de la página inicial.

AUTORIA

Todas las personas designadas como autores habrán de cumplir con ciertos requisitos para tener derecho a la autoría. Cada autor debe haber participado en el trabajo en grado suficiente para asumir responsabilidad pública por su contenido.

Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial por lo que se refiere a: a) la concepción y el diseño del estudio, o el análisis y la interpretación de los datos; b) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte importante de su contenido intelectual; y c) la aprobación final de la versión que será publicada. Los requisitos a, b y c tendrán que cumplirse siempre. La participación que consiste meramente en conseguir financiamiento o recoger datos no justifica que se le conceda a nadie el crédito de autor. Tampoco basta con ejercer la supervisión general del grupo de investigación. Toda parte del artículo que sea decisiva con respecto a las conclusiones principales deberá ser responsabilidad de por lo menos uno de los autores.

En un artículo de autor corporativo (colectivo) se especificará quiénes son las personas principales que responden del documento; a los demás individuos que colaboraron en el trabajo se les concederá un reconocimiento por separado (véase "Agradecimientos").

Los directores de revista podrán solicitar a los autores que justifiquen la asignación de la autoría.

Cada vez con más frecuencia, los ensayos multicéntricos se atribuyen a un autor corporativo. Todos los miembros del grupo que sean nombrados como autores, bien sea en la línea a continuación del título o en una nota a pie de página, deben satisfacer plenamente los criterios de autoría definidos en los *Requisitos uniformes*. Los miembros del grupo que no los satisfagan deben ser mencionados, con su autorización, en la sección de agradecimientos o en un apéndice (véase "Agradecimientos").

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

La segunda página incluirá un resumen (que no excederá las 150 palabras de extensión si es un resumen ordinario o las 250 si es uno estructurado). En él se indicarán los propósitos del estudio o investigación; los procedimientos básicos (la selección de los sujetos de estudio o los animales de laboratorio, los métodos de observación y analíticos); los resultados más importantes (proporcionense datos específicos y, de ser posible, su significación estadística); y las conclusiones principales. Hágase hincapié en los aspectos nuevos o importantes del estudio o las observaciones.

A continuación del resumen agréguese, debidamente rotuladas, de 3 a 10 palabras o frases cortas clave que ayuden a los indizadores a clasificar el artículo, las cuales se publicarán junto

con el resumen. Utilícese para este propósito los términos de la lista *Medical Subject Headings* (MeSH) [Encabezamientos de materia médica] del *Index Medicus*; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en los MeSH, podrán usarse las expresiones corrientes.

TEXTO

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que llevan estos encabezamientos: introducción, métodos, resultados y discusión. En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas divisiones a fin de hacer más claro el contenido, sobre todo en las secciones de resultados y discusión. Es probable que otro tipo de artículos —como los informes de casos, las revisiones y los editoriales— exijan otra estructura. Para mayor orientación, los autores deberán consultar la revista en la que pretenden publicar.

Introducción

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

Métodos

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

Ética

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

Estadística

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

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

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

Resultados

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

Discusión

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

AGRADECIMIENTOS

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

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

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

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

REFERENCIAS

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

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

Absténgase de utilizar los resúmenes como referencias. Tampoco cite como referencias las "observaciones inéditas" y las "comunicaciones personales". En cambio, puede usted insertar en el texto (entre paréntesis) las referencias a comunicaciones escritas, no verbales. Asimismo, incluya en las referencias los artículos aceptados aunque todavía no estén publicados; en este caso, indique el título de la revista y agregue "En prensa". La información sobre manuscritos presentados a una revista pero que aún no han sido aceptados cítela en el texto como "observaciones inéditas" (entre paréntesis).

Los autores verificarán las referencias cotejándolas contra los documentos originales.

Se presentan a continuación una serie de ejemplos de formas correctas de referencias.

Artículos de revistas científicas

1. **Artículo ordinario (Inclúyase el nombre de todos los autores cuando sean seis o menos; si son siete o más, anótese sólo el nombre de los seis primeros y agréguese "et al."):**

4 Evidentemente, por "extranjero" se entiende aquí en relación con el idioma inglés, pues los ejemplos de referencias bibliográficas se han trasladado directamente del original, sin adaptarlas. (N. del T.).

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980 Aug;79(2):311-4.

Como opción, si una revista utiliza la paginación continua a lo largo de un volumen, podrán omitirse el mes y el número:

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4.

Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.

2. Autor corporativo:

The Royal Marsden Hospital Bone-marrow Trans-plantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

3. No se indica el nombre del autor:

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.

4. Artículo en idioma extranjero⁴:

Massone L, Borghi S, Pestarino A, Piccini R, Gambini C. Localisations palmaires purpuriques de la dermatite herpétiforme. *Ann Dermatol Venerol* 1987;114:1545-7.

5. Suplemento de un volumen:

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

6. Suplemento de un número:

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Paine SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

7. Parte de un volumen:

Hanly C. Metaphysics and innateness: a psycho-analytic perspective. *Int J Psychoanal* 1988;69(Pt 3):389-99.

8. Parte de un número:

Edwards L, Meyskens F, Levine N. Effect of oral isotretinoin on dysplastic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1989;20(2 Pt 1):257-60.

9. Número sin volumen:

Baumeister AA. Origins and control of stereotyped movements. *Monogr Am Assoc Ment Defic* 1978;(3):353-84.

10. Sin número ni volumen:

Danoek K. Skiing in and through the history of medicine. *Nord Medicinhist Arsb* 1982:86-100.

11. Paginación en números romanos:

Ronne Y. Ansvarsfall. Blodtransfusion till fel patient. *Vardfacket* 1989;13:XVI-XXVII.

12. Indicación del tipo de artículo, según corresponda:

Spargo PM, Manners JM. DDAVP and open heart surgery [letter]. *Anaesthesia* 1989;44:363-4.

Fuhrman SA, Joiner KA. Binding of the third component of complement C3 by *Toxoplasma gondii* [abstract]. *Clin Res* 1987;35:475A.

13. **Artículo que contiene una retractación:**
Shishido A. Retraction notice: Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retraction of Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. In: Jpn J Med Sci Biol 1979;32:53-65]. Jpn J Med Sci Biol 1980;33:235-7.
14. **Artículo retirado por retractación:**
Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retracted by Shishido A. In: Jpn J Med Sci Biol 1980;33:235-7]. Jpn J Med Sci Biol 1979;32:53-65.
15. **Artículo que contiene un comentario sobre otro trabajo:**
Piccoli A, Bossatti A. Early steroid therapy in IgA neuropathy: still an open question [comment]. Nephron 1989;51:289-91. Comment on: Nephron 1988;48:12-7.
16. **Artículo que ha sido comentado en otro trabajo:**
Kobayashi Y, Fujii K, Hiki Y, Tateno S, Kurokawa A, Kamiyama M. Steroid therapy in IgA nephropathy: a retrospective study in heavy proteinuric cases [see comments]. Nephron 1988;48:12-7. Comment in: Nephron 1989;51:289-91.
17. **Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas:**
Schofield A. The CAGE questionnaire and psycho-logical health [published erratum appears in Br J Addict 1989;84:701]. Br J Addict 1988;83:761-4.

Libros y otras monografías

18. **Individuos como autores:**
Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2nd rev ed. London: S Paul, 1986.
19. **Directores o compiladores como autores:**
Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlar, 1988.
20. **Organización como autor y editor:**
Virginia Law Foundation. The medical and legal implications of AIDS. Charlottesville: The Foundation, 1987.
21. **Capítulo de libro:**
Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974:457-72.
22. **Actas de conferencias:**
Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.
23. **Artículo presentado a una conferencia:**
Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, editors. Indoor air and human health. Proceeding of the Seventh Life Sciences Symposium; 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985:69-78.
24. **Informe científico o técnico:**
Akutsu T. Total heart replacement device. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Heart and Lung Institute;

1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-69-2185-4.

25. **Tesis doctoral:**
Youssef NM. School adjustment of children with congenital heart disease [dissertation]. Pittsburgh (PA): Univ of Pittsburgh, 1988.
26. **Patente:**
Harred JF, Knight AR, McIntyre JS, inventors. Dow Chemical Company, assignee. Epoxidation process. US patent 3,654,317. 1972 Apr 4.
- Otros trabajos publicados**
27. **Artículo de periódico:**
Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. The Washington Post 1989 Aug 7;Sect A:2(col 5).
28. **Material audiovisual:**
AIDS epidemic the physician's role [videorecording]. Cleveland (OH): Academy of Medicine of Cleveland, 1987.
29. **Archivo de computadora:**
Renal system [computer program]. MS-DOS version. Edwardsville (KS): Medi-Sim, 1988.
30. **Documentos legales:**
Toxic Substances Control Act: Hearing on S776 Before the Subcomm. on the Environment of the Senate Comm. on Commerce, 94th Congr., 1st Sess. 343 (1975).

31. **Mapas:**
Scotland [topographic map]. Washington: National Geographic Society (US), 1981.
32. **Libro de la Biblia:**
Ruth 3:1-18. The Holy Bible. Authorised King James version. New York: Oxford Univ Press, 1972.
33. **Diccionarios y obras de consulta semejantes:**
Ectasia. Dorland's illustrated medical dictionary. 27th ed. Philadelphia: Saunders, 1988:527.
34. **Obras clásicas:**
The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. Londond: Rex, 1973.

Trabajos inéditos

35. **En prensa:**
Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. Science. In press.

CUADROS

Mecanografía o imprima cada cuadro a doble espacio y en hoja aparte. No presente los cuadros en forma de impresiones fotográficas. Numérelos consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada uno. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilícese los símbolos siguientes en la secuencia que se indica: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡,
Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como

la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros.

Cerciórese de que cada cuadro sea citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde.

Incluir un número excesivo de cuadros en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto.

Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para ser publicados, queden depositados en un servicio de archivo, como el National Auxiliary Publications Service (NASP) [Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares] en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Sea como fuere, dichos cuadros se presentarán junto con el artículo.

ILUSTRACIONES (FIGURAS)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan $127 \infty 173$ mm, sin exceder de $203 \infty 254$ mm. Las letras, números y símbolos serán claros y uniformes en todas las ilustraciones; tendrán, además, un tamaño suficiente para que sigan siendo legibles incluso después de la reducción necesaria para publicarlas. Los títulos y las explicaciones detalladas se incluirán en los pies o epígrafes, no sobre las propias ilustraciones.

Al reverso de cada figura pegue una etiqueta de papel que lleve anotados el número de la figura, el nombre del autor y cuál es la parte superior de la misma. No escriba directamente sobre el dorso de las figuras ni las sujete con broches para papel, pues se rompen y quedan marcadas. Las figuras no se doblarán ni se montarán sobre el cartón.

Las fotomicrografías incluirán en sí mismas un indicador de la escala. Los símbolos, flechas y letras usados en éstas contrastarán claramente con el fondo.

Si se usan fotografías de personas, éstas no deberán ser identificables; de lo contrario, habrá que anexar un permiso por escrito para poder utilizarlas.

Las figuras se numerarán en forma consecutiva de acuerdo con su primera mención en el texto. Si la figura ya fue publicada, se reconocerá la fuente original y se presentará la autorización por escrito que el titular de los derechos de autor concede para reproducirla. Este permiso es necesario, independientemente de quién sea el autor o la editorial; la única salvedad son los documentos considerados como de dominio público.

En el caso de las ilustraciones en color, averigüe si la revista necesita negativos, transparencias o impresiones fotográficas. La inclusión de un diagrama en el que se indique la parte de la fotografía que debe reproducirse puede resultar útil a la redacción. Algunas revistas publican ilustraciones en color únicamente si el autor paga el costo extra.

Pies o epígrafe de las ilustraciones

Los pies o epígrafes de las ilustraciones se mecanografiarán o imprimirán a doble espacio, comenzando en hoja aparte e identificándolos con los números arábigos correspondientes. Cuando se utilicen símbolos, flechas, números o letras para referirse a ciertas partes de las ilustraciones, será preciso identificar y aclarar el significado de cada uno en el pie o epígrafe. En las fotomicrografías habrá que explicar la escala y especificar el método de tinción.

UNIDADES DE MEDIDA

Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se expresarán en unidades del sistema métrico decimal (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos y submúltiplos.

Las temperaturas se consignarán en grados Celsius. Los valores de presión arterial se indicarán en milímetros de mercurio.

Todos los valores hemáticos y de química clínica se presentarán en unidades del sistema métrico decimal y de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). La redacción de la revista podrá solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores agreguen unidades alternativas o distintas de las del SI.

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

Utilice únicamente abreviaturas ordinarias. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura, ésta irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

PRESENTACION DEL MANUSCRITO A LA REVISTA

Envíe por correo el número requerido de copias del manuscrito en un sobre de papel resistente; si es necesario, proteja las copias y las figuras metiéndolas entre dos hojas de cartón para evitar que las fotografías se doblen durante la manipulación postal. Meta las fotografías y transparencias en su propio sobre de papel resistente.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de presentación que proporcione: a) información acerca de la publicación previa o duplicada, la presentación del manuscrito a otra revista o la publicación de cualquier parte del trabajo, según lo expresado en líneas arriba; b) una manifestación de las relaciones financieras o de otro tipo que pudieran desembocar en un conflicto de intereses; c) una declaración de que el manuscrito ha sido leído y aprobado por todos los autores, que se ha cumplido con los requisitos de la autoría expuestos anteriormente en el presente documento y, más aún, que cada uno de los autores cree que el manuscrito representa un trabajo honrado; y d) el nombre, la dirección y el número telefónico del autor corresponsal, quien se encargará de comunicarse con los demás autores en lo concerniente a las revisiones y a la aprobación final de las pruebas de imprenta. La carta incluirá cualquier información suplementaria que pueda resultar útil para el director, tal como el tipo de artículo que el manuscrito representa para esa revista en particular y si el autor (o los autores) estaría(n) dispuesto(s) a sufragar el costo de reproducir las ilustraciones en color.

El manuscrito se acompañará de copias de los permisos concedidos para reproducir material ya publicado, para usar ilustraciones o revelar información personal delicada sobre individuos que puedan ser identificados, o para nombrar a ciertas personas por su colaboración.

MANUSCRITOS EN DISQUETE

Tratándose de artículos que están cercanos a la aceptación final, algunas revistas piden que los autores proporcionen los manuscritos en forma electrónica (en disquetes) y pueden aceptar una variedad de formatos de procesamiento de textos o archivos (también llamados "ficheros") de texto (ASCII).

Al presentar disquetes, los autores deben:

1. Cerciorarse de incluir un impreso de la versión del manuscrito en disquete.
2. Incluir en el disquete solamente la versión más reciente del manuscrito.
3. Poner muy claramente el nombre del archivo.
4. Rotular el disquete con el formato y el nombre del archivo.
5. Facilitar información sobre el software y el hardware empleados.

En las instrucciones de la revista dirigidas a los autores, éstos deben consultar cuáles son los formatos que se aceptan, las convenciones para denominar los archivos y disquetes, el número de copias que han de enviarse, y otros detalles del caso.

Revistas participantes

Las revistas que han notificado al Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas su disposición a que se les envíen manuscritos preparados de conformidad con las versiones anteriores de los Requisitos uniformes del Comité mencionan este hecho en sus instrucciones a los autores. La lista completa de ellas puede solicitarse a la Oficina de la Secretaría en *Annals of Internal Medicine*.

Sociedad Latino Americana de Nutrición

S.L.A.N.

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada hace más de 25 años con el fin de integrar los esfuerzos de profesionales calificados para promover y mejorar el conocimiento de los problemas nutricionales de los países de la región y de las alternativas de prevención y tratamiento que ofrece la nutrición como ciencia.

Cualquier persona que se encuentre profesionalmente activa o que haya contribuido de manera significativa al avance de la nutrición o disciplinas afines, puede asociarse a SLAN, para lo cual debe enviar una carta de solicitud avalada por dos Socios Activos y su curriculum actualizado. Debe igualmente anexar la documentación que pruebe la publicación de por lo menos, dos trabajos en revistas de nivel internacional en los últimos cinco años.

La solicitud puede dirigirse a la Presidencia de la Sociedad, en Ciudad de Guatemala, a los Vocales representantes de Area o a los Capítulos de SLAN en los respectivos países.

El Consejo Directivo está integrado por: Hernán L. Delgado (Presidente), Alejandro O'Donnell (Presidente Electo), Rafael Flores (Secretario), María Teresa Menchú (Tesorera), Esther Casanueva, Elizabeth Vargas de Frias, Manuel Grillo, Zayda Gotera de Prado, Héctor Araya, Olga María Amancio y Carlos Hernán Daza (Vocales).

Los Socios deben pagar una cuota anual de US \$30, que incluye la subscripción de la revista.

El órgano oficial de SLAN es la conocida revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN), la cual vuelve a ser editada desde 1992 en Caracas, Venezuela. Los manuscritos para publicación deben ser enviados al Editor General, Dr. Virgilio Bosch, o al Editor Asociado, Dr. José Félix Chávez.

La correspondencia destinada a la SLAN debe dirigirse al Dr. Hernán L. Delgado, INCAP, Apartado Postal 1188. Guatemala, C.A. (Fax: 502-2. 736529) y la de ALAN al Apartado 62.778, Chacao, Caracas 1060, Venezuela o a su número de Fax: (58-2) 2848543.

¿CAMBIO DE DOMICILIO?

¿CHANGING YOUR ADDRESS?

Por favor, escriba su nueva dirección abajo y envíela al Departamento de Suscripciones de ALAN, adjuntando la etiqueta de un sobre de envío. Le rogamos avisarnos con 60 días de anticipación/**Please print your new address below and return to the Journal Subscription Dept. with our label. Please advise 60 days in advance.**

Nombre/Name:

Calle/Street:

Ciudad/City:

Estado, País/State, Country:

Código Postal/Postal Code:

Por favor enviar ALAN a mi nueva dirección a partir de: / **Date new address effective:**

Sociedad Latino Americana de Nutrición

S.L.A.N.

SOLICITUD DE INSCRIPCION

Nombre: _____

Título Profesional: _____

Estudios de Postgrado: _____

Cargo: _____

Lugar de trabajo: _____

Dirección del trabajo: _____

Código Postal: _____ Ciudad: _____

Teléfono: _____ Fax: _____ Télex: _____

Dirección Postal: _____

Código Postal: _____ Ciudad: _____ País: _____

Teléfono: _____ Fax: _____ Télex: _____

Fecha de la solicitud: _____ / _____ / _____

Anote las referencias bibliográficas de dos de sus publicaciones más recientes:

1. _____

2. _____

Socios de SLAN que le postulan

Nombre:

Firma:

Adjunte su Curriculum Vitae actualizado.

La cuota anual de SLAN es de \$30 con la revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición y de \$10 sin la revista.
Los cheques deben ser emitidos en US \$ a nombre de: SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION.

Artes Finales: Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 993.81.43

Portada: Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 285.55.29

Impresión: Editorial Texto C.A., Caracas, Venezuela
Teléfonos (02) 62.24.85 - 62.87.30

SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION (SLAN)

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada el 10 de Noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental. El actual Consejo Directivo de la SLAN está constituida por los siguientes miembros:

Presidente	Dr. Hernán L. Delgado
Presidente Electo	Dr. Alejandro O'Donnell
Secretario	Dr. Rafael Flores
Tesorero	Lic. María Teresa Menchú
Vocal	Dra. Esther Casanueva
Vocal	Dra. Elizabeth Vargas de Frias
Vocal	Dr. Manuel Grillo
Vocal	Lic. Zayda Gotera de Prado
Vocal	Dr. Héctor Araya
Vocal	Dra. Olga María Amancio
Vocal	Dr. Carlos Hernán Daza
Presidente Saliente	Dr. Eleázar Lara Pantin

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Editor General	Dr. Virgilio Bosch Román
Editor Asociado	Dr. José Félix Chávez Pérez

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL PERIODO 1995 - 1997

Dr. Juan de Dios Alvarado	Dra. María L. P. Martín de Portela
Dr. Héctor Araya	Dr. Julio Sergio Marchini
Dr. Manuel Amador	Dr. Reynaldo Martorell
Dr. Jaime Ariza M.	Dr. Manolo Mazariegos
Dr. José María Bengoa	Dr. Luis A. Mejía
Lic. Adriana Blanco M.	Dr. Rafael Monge R.
Dr. Héctor Bourges R.	Dra. Josefina Morales
Dr. Ricardo Bressani	Dr. Santiago Muzzo
Dr. Jesús Bulux	Dra. Nelly Pak
Dr. Benjamín Caballero	Dra. Myriam Puig A.
Dr. Germán Camejo	Dra. María Ester Río
Dra. Sara J. Closa	Dra. María Elena Sambucetti
Dr. Adolfo Chávez	Dra. Nora Slobodianik
Dr. Omar Dary	Dr. Noel W. Solomons
Dr. Luiz G. Elías	Dr. Benjamín Torún
Dr. Juan I. Egaña	Dr. Ricardo Uauy D.
Dra. Patricia R. de Ferrer	Dr. Helio Vannucchi
Dra. Marisa Guerra M.	Dra. Mirtha E. Valencia
Dr. Werner G. Jaffé	Dr. Mauro Valencia J.
Dra. Gladys Henríquez P.	Dr. Tomás Walter
Dra. Elena Hurtado	Dra. Carolyn Jane Wyatt
Dr. Miguel Layrisse	Dr. Enrique Yáñez S.

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Contenido

Páginas

ARTICULOS GENERALES

Importancia nutricional del selenio Josefina Ortuño, Gaspar Ros, María Jesús Periago, Carmen Martínez, Ginés López y Joaquin Rodrigo.....	6
---	---

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

Contenido de zinc, cobre, hierro, calcio, fósforo y magnesio en leche materna en los primeros días de lactación Ana Itriago, Nereida Carrión, Alberto Fernández, Myriam Puig y Elizabeth Dini.....	14
--	----

Valores de zinc plasmático en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela Daisy Amaya de C, Roberto Urrieta, Negda M Gil, Nelly C Molano, Ida Medrano y Haydée V. Castejón.....	23
---	----

Crecimiento del menor de un año con lactancia materna exclusiva en relación a la referencia OMS 1994 Eduardo Atalah Samur, y Cecilia Castillo Lancellotti.....	29
--	----

Bioquímica Nutricional

Effect of different dietary levels of vitamin E on lipid peroxidation in rats Helio Vannucchi, Alceu Afonso Jordao Junior, Antonio Carlos G. Iglesias, Márcia Varella Morandi, y Paula Garcia Chiarello.....	34
--	----

Adiposidad y patrón de distribución en un grupo de preescolares de estratos socioeconómicos bajos de Caracas Betty M. Pérez, Maura Vásquez, Maritza Landaeta-Jiménez, Guillermo Ramírez y Thais Ledezma.....	38
--	----

Bacteriología de Alimentos

Prevalencia de <i>Aeromonas</i> spp en agua de superficie Pilar Hernández S. y Raquel Rodríguez de García.....	44
--	----

Prevalencia de <i>Plesiomonas shigelloides</i> en agua de superficie Pilar Hernández S. y Raquel Rodríguez de García.....	47
---	----

Ciencias de Alimentos

Characterization of yellow rice and development of instant flours by hidrothermal process F. Martínez-Bustos, Delgado L.L, Victorio, M. G and Morales S.E.....	50
--	----

Tecnología de Alimentos

Desarrollo y evaluación de una fórmula para niños con diarrea a base de ayama, arroz, pollo y aceites vegetales Blanca D. Hernández Ramírez y Maritza J. Guerra Modernell.....	57
--	----

Effect of calcium addition and acidification on the quality characteristics of canned okra (<i>Hibiscus esculentus</i> L) J.N. Nogueira P.R. Cantarelli: C.R. Gallo, I.A.M. Moreno, F.C.A.U. Matsuura y M.A. Tiba.....	62
--	----

Effects of temperature, moisture and residence time in the properties of full fat soybean flour produced in a twin extruder S.O. Serna- Saldívar and L.C. Cabral.....	66
---	----

Latin Foods. Composición de Alimentos

Caracterização físico- química da acerola <i>Malpighia glabra</i> L. produzida na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil Jesuí Vergílio Visentainer, Otávio Attie Vieira, Makoto Matsushita y Nilson Evelázio de Souza.....	70
--	----

Omega -3 fatty acids in baked freshwater fish from south of Brazil Airtón Delfino Andrade, Jesuí Vergílio Visentainer, Makoto Matsushita y Nilson Evelázio de Souza.....	73
--	----

Minerals content of Paraguayan yerba mate (<i>Ilex paraguariensis</i>, S.H.) Rafael Vera García, Isabel Basualdo, Inocencia Peralta, Mercedes de Herebia and Silvia Caballero.....	77
--	----

Contenido de colesterol en carne de pollo y sus productos manufacturados Alicia Mariela Rincón, Fanny Carrillo de Padilla, Consuelo Araujo de Vizcarrondo y Eduardo Martín.....	81
---	----

NOTAS.....	85
-------------------	----