

# ALAN

Volumen 47. Nº 3. Septiembre 1.997

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

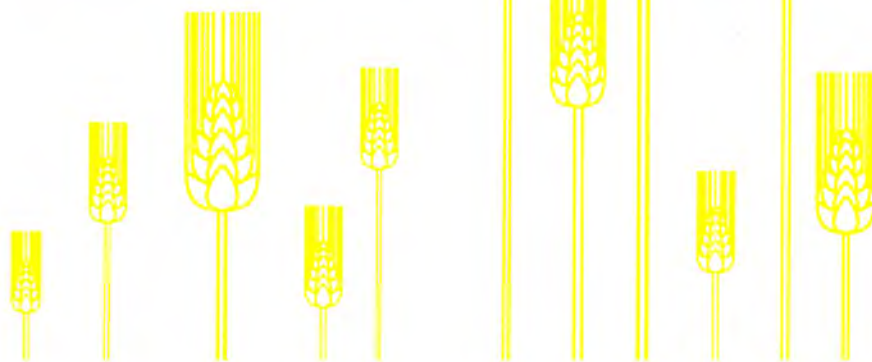


**Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición**

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

**Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición**

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



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


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

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

**Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición**

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

**ENTIDADES PATROCINANTES**

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

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la  
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

---

VOL 47

SEPTIEMBRE 1997

Nº 3

---

## Contenido

	Páginas
<b>ARTICULOS GENERALES</b>	
<b>Actividad antitumoral de compuestos naturales: Lectinas y azafrán.....</b>	<b>195</b>
Fikrat I. Abdullaev y Elvira González de Mejía	
<b>Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal.....</b>	<b>203</b>
Gines López, Gaspar Ros, Francisco Rincón, María Jesús Periago, Carmen Martínez y Josefina Ortuño	
<b>Revisión: Extracción microbiológica y enzimática de pectina.....</b>	<b>208</b>
J. C. Contreras-Esquivel, R.A. Hours, C. N. Aguilar, M. L. Reyes-Vega y J. Romero	
<b>TRABAJOS DE INVESTIGACION</b>	
<b>Ciencia de Alimentos</b>	
<b>Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fitico, calcio y hierro total y disponible.....</b>	<b>217</b>
A.L. Urizar Hernández y R. Bressani	
<b>Comportamiento microbiano y obstáculos en alimentos venezolanos de humedad intermedia.....</b>	<b>224</b>
L. Elguezabal, M. Daly, P. Navarro y M. E. Jreige	
<b>Envejecimiento del pan. Efecto combinado de <math>\alpha</math>-amilasa bacteriana y emulsificante en la textura y en las características amilográficas de la miga.....</b>	<b>229</b>
María Victoria Grossmann, Carmen Benedito de Barber	
<b>Características químicas y nutricionales del grano de cinco genotipos de <i>Canavalia ensiformis</i>.....</b>	<b>234</b>
Alejandra O. Ramírez M. y Ligia Ortíz de Bertorelli	
<b>Nutrición Animal</b>	
<b>Pigmentation of the rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) with oil-extracted astaxanthin from the langostilla (<i>Pleuroncodes planipes</i>).....</b>	<b>237</b>
Gladis Coral Hinostriza, Alberto Huberman W., Guadalupe de la Lanza, José Monroy-Ruiz	

<b>Uso de uma multimistura como suplementação alimentar: Estudo em ratos.....</b>	<b>242</b>
Francisca Martins Bion , Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa , María Auxiliadora Gonçalves Lapa , Floribela de Arruda Camara e Siqueira Campos , Norma Lúcia Marinho Antunes, Silvia María Limongi Lopes	
<b>Educación Nutricional</b>	
<b>Conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de educación básica y media de diferentes niveles socioeconómicos .....</b>	<b>248</b>
Daniza Ivanovic M., Carmen Gloria Castro G. y Rodolfo Ivanovic M.	
<b>Guías de alimentación y nutrición. Una propuesta didáctica.....</b>	<b>256</b>
Shamah-Levy Teresa, Vásquez-Resenos Claudia, Cervantes-Turrubiates Leticia y Chávez-Villasana Adolfo	
<b>Toxicología de Alimentos</b>	
<b>Occurrence of <i>Aspergillus flavus</i> strains and aflatoxins in corn from Santa Fe, Argentina.....</b>	<b>262</b>
Marcelo C. Nepote, Eduardo Piontelli L. y Adriana Saubois	
<b>LatinFoods. Composición de Alimentos</b>	
<b>Composición de nutrientes en especies vegetales autóctonas de la región Chaqueña, Argentina.....</b>	<b>265</b>
V.R. Rozycki, C.M. Baigorria, M.R. Freyre, C.M. Bernard, M.S. Zannier, M. Charpentier	
<b>Composición mineral de la leche del Estado Mérida, Venezuela.....</b>	<b>271</b>
María D. Sánchez y Luis A. Boscán	
<b>Composición de ácidos grasos saturados e insaturados en alimentos de consumo frecuente en Argentina.....</b>	<b>276</b>
Alicia Navarro, Sonia E. Muñoz, María J. Lantieri, Eugenia A. Fabro y Aldo R. Eynard	
<b>Colesterol em carnes bovinas, suínas, frangos e derivados de carnes comercializados em Maringá, Paraná, Brasil.....</b>	<b>282</b>
André Rowe, Solange Aparecida Bertoni, Paulo Luiz Pereira, Makoto Matsushita & Nilson Evelázio de Souza	
<b>NOTAS.....</b>	<b>285</b>
<b>INFORMACION PARA LOS AUTORES.....</b>	<b>286</b>

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the  
Latin American Society of Nutrition

---

VOL 47

SEPTEMBER 1997

Nº 3

---

## Contents

Pages

### GENERAL ARTICLES

- Antitumor activity of natural substances: lectins and saffron**..... 195  
Fikrat I. Abdullaev and Elvira González de Mejía
- Functional properties of dietary fiber. Mechanisms of actions in the gastrointestinal tract**..... 203  
Gines López, Gaspar Ros, Francisco Rincón, María Jesús Periago, Carmen Martínez and Josefina Ortuño
- Microbial and enzymatic extraction of pectin: A review**..... 208  
J. C. Contreras-Esquivelm, R.A. Hours, C. N. Aguilar, M. L. Reyes-Vega and J. Romero

### RESEARCH PAPERS

#### Food Science

- The effect of lime cooking of corn on the phytic acid, calcium, total and ionizable iron content**..... 217  
A.L. Urizar Hernández and R. Bressani
- Microbial comporment and hurdles in Venezuelan Intermediate Moisture Food**..... 224  
L. Elguezabal, M. Daly, P. Navarro and M. E. Jreige
- Bread staling. Simultaneous effect of bacterial  $\alpha$ -amylase and emulsifier on firmness and pasting properties of bread crumb**..... 229  
María Victoria Eiras Grossmann, Carmen Benedito de Barber
- Chemical and nutritional characteristics from grains of five genotypes of *Canavalia ensiformis***..... 234  
Alejandra O. Ramírez M. and Ligia Ortíz de Bertorelli

#### Animal Nutrition

- Pigmentation of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with oil-extracted astaxanthin from the langostilla (*Pleuroncodes planipes*)**..... 237  
Gladis Coral Hinostroza, Alberto Huberman W., Guadalupe de la Lanza, José Monroy-Ruiz

<b>The use of a Multimistura as a dietary supplement: Study in rats.....</b>	<b>242</b>
Francisca Martins Bion , Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa , María Auxiliadora Gonçalves Lapa , Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos, Norma Lúcia Marinho Antunes, Silvia María Limongi Lopes	
<b>Nutritional Education</b>	
<b>Food and nutrition knowledge of school-age children's mothers from elementary and high school.....</b>	<b>248</b>
Daniza Ivanovic M., Carmen Gloria Castro G. and Rodolfo Ivanovic M.	
<b>Guides of food and nutrition. A didactic proposal.....</b>	<b>256</b>
Shamah-Levy Teresa, Vásquez-Resenos Claudia, Cervantes-Turrubiates Leticia and Chávez-Villasana Adolfo	
<b>Food Toxicology</b>	
<b>Occurrence of <i>Aspergillus flavus</i> strains and aflatoxins in corn from Santa Fe, Argentina.....</b>	<b>262</b>
Marcelo C. Nepote, Eduardo Piontelli L. and Adriana Saubois	
<b>LatinFoods. Food Composition</b>	
<b>Nutrients in wild vegetable products of the Argentine Chaco.....</b>	<b>265</b>
V.R. Rozycki, C.M. Baigorria, M.R. Freyre, C.M. Bernard, M.S. Zannier, M. Charpentier	
<b>Mineral composition of milk from Mérida State, Venezuela .....</b>	<b>271</b>
María D. Sánchez and Luis A. Boscán	
<b>Composition of saturated and unsaturated fatty acids of foods frequently consumed in Argentina.....</b>	<b>276</b>
Alicia Navarro, Sonia E. Muñoz, María J. Lantieri, Eugenia A. Fabro and Aldo R. Eynard	
<b>Cholesterol in beef, pork, chicken and their products commercialized in Maringá, Paraná, Brazil.....</b>	<b>282</b>
André Rowe, Solange Aparecida Bertoni, Paulo Luiz Pereira, Makoto Matsushita & Nilson Evelázio de Souza	
<b>NOTES.....</b>	<b>285</b>
<b>INFORMATION TO AUTHORS.....</b>	<b>286</b>

## Actividad antitumoral de compuestos naturales: Lectinas y azafrán

Fikrat I. Abdullaev<sup>1,2</sup> y Elvira González de Mejía<sup>1</sup>

**RESUMEN.** El problema principal en el uso de agentes quimioprotectores en tratamiento de cáncer es la toxicidad potencial de estos medicamentos a células normales. Una manera de resolver este problema es el empleo de inhibidores de tumorigénesis que sean de origen natural. Recientemente se ha tenido mucho interés en buscar, entre varios extractos naturales de plantas, aquellos que posean actividades antitumorales y anticarcinogénicas, así como también en compuestos naturales presentes en productos alimenticios. Los extractos naturales o sus compuestos purificados han sido de interés en el estudio de algunos aspectos referentes al cáncer. El descubrimiento acerca de que las lectinas de plantas presentan actividad biológica sobre células transformadas, especialmente en relación con un efecto antitumoral, ha aumentado el interés en este campo. Otra especie natural con efecto antitumoral es el azafrán. En la presente revisión se comentan algunas investigaciones acerca de los efectos antitumorogénicos y anticarcinogénicos de las lectinas y el azafrán, así como de alguno de sus componentes. Asimismo se discute también el posible mecanismo por el cual las lectinas y el azafrán pueden actuar como antitumorogénicos.

### INTRODUCCION

Recientemente en el campo de la quimioterapia contra el cáncer, el interés científico se ha dirigido a la actividad biológica de diferentes agentes naturales, la cual se ha demostrado experimentalmente *in vivo* e *in vitro* en animales y epidemiológicamente en poblaciones. De hecho, se han identificado más de 800 agentes potencialmente preventivos, de los cuales algunos podrían ser utilizados en el futuro como drogas antitumorogénicas (1-3). Los mecanismos de acción de muchos de estos inhibidores de tumorigénesis no se comprenden bien, lo cual provoca dificultades para organizarlos en un esquema preciso. Una forma posible de proveer un esquema de organización, es clasificar a los inhibidores de acuerdo con su origen. Utilizando este criterio, los inhibidores de tumorigénesis pueden ser divididos en tres grupos: extractos de productos naturales, componentes naturales purificados y componentes de origen sintético. Un problema principal en el uso de agentes quimioprotectores en el tratamiento de cáncer es su toxicidad potencial a células normales. Una manera de resolver este problema es el empleo de inhibidores de tumorigénesis de origen natural. Actualmente se ha incrementado el interés en buscar extractos y compuestos naturales purificados, provenientes de productos alimenticios que tengan actividad antitumorogénica y antitumoral. En nuestro laboratorio hemos estudiado el efecto de inhibidores potenciales de tumorigénesis, pertenecientes a los dos

**SUMMARY.** Antitumor activity of natural substances: lectins and saffron. A major problem in the use of chemopreventing agents in cancer treatment is the potential toxicity of these drugs to normal cells. One approach to solve this problem is to employ the inhibitors of tumorigenesis which have a natural origin.

Within the past few years, natural extracts or purified compounds have become a well-established means for studying varied aspects of cancer. The recent development in plant lectins research is characterized by increasing interest in the biological activities of these lectins, specially in their antitumor effect. Another natural spice -saffron- also become the focus of recent interest as antitumor agent. This review will briefly summarize research on the study of antitumor and anticarcinogenic effects of plant lectins and saffron extract or their constituents. These findings are interpreted and the possible mechanism of antitumor effects of plant lectins and saffron are discussed.

primeros grupos mencionados. Entre estos se encuentran los extractos de alimentos como el frijol y de especias como el azafrán en la manera que son comúnmente usados y a sus componentes naturales purificados (del frijol - lectina, del azafrán-crocetina, dimetil crocetina, crocina, safranal, dimetilcrocetina, picrocrocina y (β-caroteno). Es ampliamente conocido el hecho de que las leguminosas, entre otros alimentos, son una importante fuente de nutrientes, especialmente en los países del Norte y Sur América. Por ejemplo en México, las leguminosas como el frijol, son ampliamente consumidas y son fuentes ricas en varios nutrimento; a pesar de que además también contienen factores antinutricios como las lectinas (4).

Por más de 100 años las investigaciones sobre las lectinas se han enfocado a las de origen vegetal, en muchos casos de leguminosas. Estas proteínas no enzimáticas, que se unen a carbohidratos, que aglutinan células y/o precipitan glucoconjugados, han sido herramientas invaluable en las investigaciones biológicas y médicas (5-7). Por otro lado, los filamentos de la flor de azafrán (*Crocus sativus* L.) al ser secados, adquieren una coloración rojo oscuro; los estigmas de la flor son ampliamente usados como especias para condimentar y colorear los alimentos durante su preparación y también se usan en perfumería. El azafrán ha sido usado con propósitos médicos por más de 2000 años; posee propiedades antisépticas, fungicidas, antitrombóticas, anticancerígenas y se emplea en el tratamiento de enfermedades del corazón, de la sangre, de la vista y contra la parálisis muscular. Recientemente se ha reportado que los extractos de azafrán contienen, ambos, un inductor y un inhibidor de la agregación de las plaquetas (8,9). Los principales componentes del azafrán son los carotenoides. El efecto antitumorogénico de los carotenoides ha sido demostrado en varias investigaciones y experimentos epidemiológicos. En particular, se observó que la crocetina posee un efecto inhibidor en células tumorogénicas (10,11).

1. Departamento Investigación y Postgrado en Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, México
2. Laboratorio de Bioquímica Genoma, Instituto de Botánica, Academia de Ciencias de Azerbaijan, Baku 370073, Azerbaijan

El principal objetivo de este artículo es acentuar la importancia de la actividad antitumorogénica y anticarcinogénica de agentes naturales, con esta finalidad se revisaron estudios con dos sustancias como lectinas de plantas y azafrán.

**Efecto antitumorogénico y anticarcinogénico de lectinas.** En los últimos años, las lectinas han llegado a ser herramientas bien establecidas para la comprensión de diversos aspectos del cáncer y la metástasis. Han surgido nuevas evidencias con respecto a que las lectinas contribuyen en forma dinámica al reconocimiento de células tumorogénicas (marcadores de superficie), en la adhesión de células como señales transductoras de localización entre la membrana, en la estimulación mitogénica, en el aumento de las defensas inmunológicas, en la citotoxicidad y en la apoptosis. En varios estudios se ha demostrado el patrón de enlace de las lectinas tanto a células malignas como a células normales y se espera que los receptores de las lectinas puedan ser marcadores discriminantes para células neoplásicas (12-15). Sin embargo, no existe la seguridad de un sistema individual, en el cual el enlace de la lectina pueda ser usado confiablemente para la detección de malignidad. Se sabe que las células malignas son frecuentemente mucho más sensibles a los efectos citotóxicos de las lectinas que las células normales (15). Algunos datos que existen en la literatura acerca del efecto antitumorogénico y anticarcinogénico de las lectinas *in vivo* e *in vitro* directamente sobre células malignas, están descritas en la Tabla 1.

**A Estudios *in vivo*:** Los primeros informes que demostraron el efecto antitumoral de lectinas de plantas fueron publicados en 1970 (16,17). Se demostró que la abrina y la ricina, proteínas altamente tóxicas (DL50 = 0.02-0.012 mg/kg peso corporal en ratón), aisladas de *Abrus precatorius* y *Ricinus communis* respectivamente, tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento de tumores en ascites Ehrlich *in vivo* (16). El efecto inhibitorio de la abrina y la ricina, tanto solas como en combinación con otros agentes antitumorales, en células animales y humanas fue informado posteriormente (18-21). El mecanismo para la actividad citotóxica de estas lectinas de plantas fue investigado y se sugirió que la diferencia en la estructura de la superficie de membranas entre las células normales y las transformadas puede ser reflejada mediante un efecto tóxico diferencial de estas proteínas sobre dichas células (22,23). En el laboratorio de I.J. Goldstein y colaboradores se demostró que la lectina GS-1 inhibió el crecimiento de tumores en ratón y que el efecto citotóxico de la lectina vegetal (lectina GS-1) hacia las células tumorogénicas EAC dependía de la interacción específica de la lectina GS-1 con la superficie celular que contenía grupos  $\alpha$ -D-galactósidos (24-29). También se demostró que las lectinas de cuatro plantas como son el trigo (WGA), la soya (SBA), el frijol (PHA) y la planta *Phytolacca americana* (PWM) tenían actividad antitumoral en linfomas ascíticos de ratón. Las cuatro lectinas fueron capaces de inhibir el crecimiento de tumores y de aumentar la expectativa de vida del huésped (14). Recientemente, se demostró con ratones alimentados con una dieta que contenía la lectina PHA y que habían sido infectados intraperitonealmente con células de EAC o Krebs II, que desarrollaron ascitis más lentamente que los ratones a los cuales se les alimentó con la dieta control. Se demostró que el número total de tumores, la síntesis de proteínas, de ácidos nucleicos y el contenido de poliaminas, disminuyó en comparación con el control cuando la lectina fue incluida en la dieta de los animales portadores de células cancerígenas (30-32).

En otro estudio de este laboratorio, se observó que la inclusión de WGA y otras lectinas específicas para GlcNAc en la dieta, disminuyeron significativamente el crecimiento de ratas en comparación con los controles, sugiriendo el uso del gen WGA en cultivos de plantas transgénicas (33). Actualmente es bien sabido que las lectinas de plantas pueden interactuar con diferentes células tumorales. La fuerte aglutinación de células tumorales Ehrlich por RCA y PHA y la débil aglutinación por WGA, PSL, SBA, LCA, FBL, STA y el efecto inhibitorio de varias lectinas de plantas contra células de sarcoma Yoshida o PHA contra células tumorales Ehrlich también ha sido demostrado (34-36).

TABLA 1  
Efecto antitumorogénico de lectinas<sup>1</sup> vegetales *in vivo* e *in vitro*.

Componentes	Especie	Tumor <sup>2</sup>	Carcinógeno <sup>3</sup>	Referencia
Con A	Hamster	3T3 polyoma 3T3 SV-40	DMNA	17
PHA	Ratón	Krebs II ascites	-	31
PHA	Ratón	EAC	-	26
PHA	Humano	HeLa	-	38
GS I	Ratón	EAC	-	24-28
GS I	Ratón	TA3-ST	-	-
	Humano	LSI174t y SW1116	-	24
RCA	Ratón	EAC	-	29
				36
Ricina/ Abrina	Ratón	EAC YC L1210	- - -	17-23
ML	Ratón	B hidridomas,	-	37
	Humano	P815, EL-4, Ke37, MOLT-4, U937 WGA, PHA	- -	37,38
PWM, SBA	Ratón	linfoma ascítico	-	14
PNA, ABL	Humano	HT29, Caco2, MCF-7, Rama 27	-	39
GSI, WGA	Ratón	BL6-8, CL8-1, YAC-1	-	37

**1 Lectinas:** ABL - lectina de *Araricus bisporus*; Con A (concaivalina A) - aglutinina de *Canavalia ensiformis*;

FBL - lectina de haba (favina); GS I - lectina de *Griffonia simplicifolia*; LCA - aglutinina de *Lens culinaris*

ML - lectina de misletoe; PNA - lectina de cacahuete de *Arachis hypogaea*;

PHA - aglutinina de *Phaseolus vulgaris*;

PSL - lectina de *Pisum sativum* (chícharo); PWM - *Phytolacca americana*,

poke weed mitogen; RCA - aglutinina de *Ricinus communis*; SBA - aglutinina de *Glycine max*,

aglutinina de frijol de soya; STA - aglutinina de *Solanum tuberosum* (papa); WGA - aglutinina de germen de trigo (*Triticum vulgare*)

**2 Tumor:** B hydromas - células humanas de linfoblastos híbridos tipo B;

Caco2 - células humanas de adenocarcinoma de colon; CL8-1 - células de melanoma de ratón;

EAC - células de ratón de carcinoma ascítico de Erlinch;

EL-4 - células de linfoma de ratón; Hela - células humanas de carcinoma

epitelial cérvico; HT-29 - células humanas de adenocarcinoma de colon;

Krebs II - células de linfosarcoma ascítico de ratón; LSI174t - células humanas

de adenocarcinoma de colon; L 1210 - células de ratón de leucemia linfocítica;

MCF-7 - células de humano de adenocarcinoma de pecho (efusión prural);

MOLT-4 - células humanas de sangre periférica de leucemia linfoblástica

aguda; P815 - células de mastocitoma de ratón; Rama-27 - células fibroblásticas

mamarias de rata; SW III6 - células humanas de adenocarcinoma de colon;

TA3-ST (Estocolmo) - células de adenocarcinoma mamario de murina; 3T3

polioma y 3T3-SV-40 - células fibroblásticas de embriones de ratón; U 937

- células humanas de linfoma histiocítico; YAC-I - células de linfoma de

ratón; YC - células de sarcoma Yoshida

**3 Carcinógeno:** DMNA - Dimetilnitrosamida

**B Estudios *in vitro*:** La concanavalina A, aislada de *Conavalia ensiformis*, inhibió el crecimiento de diferentes tipos de células transformadas de embrión de hamster oro *in vitro* e inhibió el desarrollo de tumores en células transformadas de polyoma en hamster pero no tuvo efecto sobre células normales (17). El efecto citotóxico de lectinas de heno (*Viscum album*) sobre seis líneas celulares de cáncer de mama humano *in vitro* empleando el ensayo Mossman ha sido mostrado por Schumacher y sus colegas. Estos autores han indicado que existen diferencias cuantitativas en el efecto de lectinas sobre diferentes líneas celulares y los modelos de enlazamiento fueron también diferentes (37). Jansen y colaboradores han demostrado que los extractos de heno y lectinas purificadas inhibieron *in vitro* el crecimiento de diferentes células malignas (38). Las lectinas de hongos (ABL) tuvieron efecto citotóxico *in vitro* en células epiteliales. Esta lectina a dosis de 25 µg/ml inhibió la incorporación de timidina-<sup>3</sup>H en ADN de células HT-29 en 87%, células Caco-2 en 16 %, células MCF-7 en 50 % y células Rama-27 en 55%. La inhibición de la proliferación en estas células causado por ABL fue reversible después de eliminar la lectina (39). En nuestro laboratorio hemos examinado el efecto del extracto crudo de frijol y de la lectina purificada PHA, sobre la formación de colonias de células HeLa. Estos agentes inhibieron el desarrollo de células cancerígenas (40). Esta investigación se encuentra actualmente en desarrollo.

#### Efecto antitumorogénico y anticarcinogénico del azafrán.

Existen diversos estudios en la literatura científica en los cuales se ha examinado el efecto quimioprotector de extractos de azafrán así como de sus constituyentes (10, 41-49). Esta información se encuentra brevemente resumida en la Tabla 2.

TABLA 2  
Efecto antitumorogénico de azafrán *in vivo* e *in vitro*

Componentes	Especie	Tumor <sup>2</sup>	Carcinógeno <sup>3</sup>	Referencia
Azafrán <sup>1</sup>	Ratón	S-180, EAC, DL	-	41-43
Azafrán	Ratón	S-180, DLA, P388	DMBA, MCA	46,47
			cisplatin, ciclofosfamida	
Azafrán	Ratón	DLA, EAC, S-180, P	-	40-43
Azafrán	Humano	HeLa, A-549, VA-13,	-	10,46-49
		HL-60, osteosarcoma	-	
		sarcoma de ovario,	-	
		fibrosarcoma	-	41-43,45
Crocetina	Humano	HL-60, K562, A549,	-	
		VA-13, HeLa	-	10,11,52, 61,
Dimetil- crocetina	Humano	HL-60, K562	-	10,49,55-57
Crocina	Humano	HL-60, K562, HeLa	-	52,55-57,61
Picrocrocina	Humano	HeLa	-	58
β-caroteno	Humano	HL-60, K562	-	52,55-57
Safranal	Humano	HeLa	-	61

1 Azafrán: extracto alcohólico de la flor de azafrán (*Crocus sativus* L.)

2 Tumor: A 549 - células humanas de adenocarcinoma de pulmón; BL6-8 - células de melanoma de ratón; DLA - células de linfoma ascítico de Dalton; EAC - células de ratón de carcinoma ascítico de Ertlich; HeLa - células humanas de carcinoma epitelial cérvico; HL-60 - células humanas de leucemia promielocítica aguda; K-562 - células humanas de leucemia mielocítica crónica; P 388 - células neoplásicas linfoides de ratón; S 180 - células del sarcoma 180 de ratón; VA-13 - SV 40 - células humanas transformadas de fibroblastos pulmonar fetal (W138); W1-38 - células humanas de fibroblastos pulmonar fetal

3 Carcinógeno: DMBA - Dimetilbenz[*a*]antraceno; MCA - 20-metilcolantreno

**A Estudios *in vivo*:** En 1991, Nair et. al., informaron por primera vez el efecto antitumorogénico del extracto de azafrán. En este estudio se demostró que la administración oral del extracto de azafrán inducía inhibición en el crecimiento de células S-180, EAC y DLA tumorogénicas en ratones, y que esta inhibición era dependiente de la dosis administrada (41). El tratamiento con extractos de azafrán (dosis de 200 mg/Kg de peso corporal) a ratones portadores de tumores carcinogénicos, aumentó significativamente (2-3 veces) la sobrevivencia en comparación con ratones no tratados, también portadores de tumores carcinogénicos. Los resultados de estudios bioquímicos y hematológicos sugirieron que la administración del extracto de azafrán no tiene efectos tóxicos. La DL50 (dosis requerida para matar al 50% de la población en estudio) fue de 600 mg/Kg de peso corporal para el extracto de azafrán (42). Estos mismos autores posteriormente demostraron que el extracto de azafrán encapsulado liposómicamente aumentaba su actividad antitumorogénica en ratones con tumores sólidos S-180 y EAC. La administración intraperitoneal de 50 mg/Kg de peso corporal de azafrán inhibió en un 70% el crecimiento de tumores sólidos S-180 transplantados; una dosis más baja (25 mg/kg) no demostró respuesta antitumorogénica significativa. También se observó que los tumores sólidos EAC respondieron menos al azafrán encapsulado en comparación con los tumores S-180. Se demostró además que la administración intraperitoneal de azafrán en dosis de 75 y 100 mg/kg restringió el crecimiento de los tumores en un 32 y 55%, respectivamente (43-45). Sin embargo, en la literatura científica existen pocos informes en donde se haya probado el efecto del extracto de azafrán en la carcinogénesis. En un estudio se demostró que el extracto de azafrán tuvo un efecto inhibitorio en cáncer de piel, cuando se administró en ratones inducidos con DMBA, así como también se detuvo el crecimiento de sarcomas en tejido dérmico inducido por MCA (46,47). La aplicación local de extractos de azafrán en una dosis de 100 mg/kg de peso corporal retardó el ataque de papilomas en los animales. Por otro lado, cuando se administró oralmente el extracto de azafrán después de 30 días de la aplicación subcutánea de MCA, se observó un decrecimiento del 90 % en la incidencia tumorogénica comparando a los animales control, los cuales fueron tratados con MCA sin la administración del extracto de azafrán. En un estudio posterior, se demostró que el tratamiento con extractos de azafrán aumentó dos veces el tiempo de vida de los ratones con tratamiento de cisplatin. Además se pudo observar que este extracto previene parcialmente la pérdida del peso corporal, de niveles de hemoglobina y de leucocitos causados por cisplatin (46). Por otro lado, se sabe que el extracto de azafrán incrementó el lapso de vida de los ratones tratados con dosis letales crónicas de ciclofosfamida con o sin tumores S-180 (47).

**B Estudios *in vitro*:** Es interesante observar que la mayoría de los estudios han mostrado que hay un efecto citotóxico del extracto de azafrán sobre células tumorogénicas *in vitro*. Por medio de la exclusión con azul de tripano se ha demostrado que el extracto de azafrán tiene un efecto citotóxico en células tumorales de humanos. El 50% de la citotoxicidad en células tumorales de osteosarcomas, fibrosarcoma y sarcoma de ovario se obtiene con concentraciones de 14, 6.8 y 7.2 mg/ml de extracto de azafrán respectivamente (48). En otro estudio se determinó que el 50% de la citotoxicidad de células tumorales S-180, P 388 leucemia, EAC y DLA se alcanza con 28, 30, 17 y 9 mg/ml del extracto de

azafrán, respectivamente. Sin embargo, se ha observado que niveles mayores del extracto de azafrán no tiene efecto sobre las células normales de bazo de ratones. (41-43). En nuestro laboratorio se ha examinado la capacidad del extracto de azafrán para formar colonias en diversos tipos de células normales y tumorales de humanos. En este experimento se estudiaron células de adenocarcinoma de pulmón (A549) y de carcinoma de epitelio cervical (Hela) y fibroblastos de pulmón normales. Los tratamientos previos con extractos de azafrán de estas células mostraron un decremento, dependiente de la dosis, en la formación de colonias de células tumorales y no se observó ninguna inhibición en las células normales (48,49). Al comparar la sensibilidad de las líneas celulares malignas y no malignas (A549, WI38 y VA-13), se encontró que las células malignas fueron más sensibles que las células normales al efecto inhibitorio del azafrán en la síntesis de ADN y de ARN y no se alteró la síntesis de proteínas. Los resultados indican que este efecto no depende del origen de las células tumorales o normales *in vitro*. En contraste con la síntesis de los ácidos nucleicos, la síntesis de proteínas no fue inhibida en ningún grado por el extracto de azafrán ni en células normales ni en células malignas (48,49). Así, la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos por el azafrán ha sido la observación más consistente acerca de su posible modo de acción. Recientemente ha sido demostrado que los carotenoides del azafrán, los cuales son una mezcla de crocina o derivados puros (crocetina y dimetilcrocetina), son inhibidores altamente efectivos de la proliferación y de la inducción en la diferenciación de células leucémicas HL-60 (50). En nuestro laboratorio se demostró que la crocetina causó inhibición en la síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos en células malignas. La crocetina tuvo también un efecto inhibitorio dosis-dependiente, sobre la síntesis de ADN y ARN en núcleos aislados y suprimió la actividad de la polimerasa II de ARN purificado (11). Curiosamente, no tuvo efecto significativo sobre células normales de bazo de ratones, a pesar de la alta concentración del extracto (41). Otros estudios se han enfocado a investigar los efectos del azafrán sobre varias propiedades bioquímicas y procesos de cultivo de células. La exposición de los tumores celulares a los extractos de azafrán mostró una inhibición en la síntesis de ácidos nucleicos en la células (48,49). El azafrán se sabe también que estimula y ayuda en la proliferación no específica de linfocitos maduros e inmaduros *in vitro* (43). La elevación en los niveles intracelulares de glutatión reducido y de las enzimas relacionadas con el glutatión, inducidas por el azafrán, sugieren una actividad antioxidante del azafrán comparable con la del  $\beta$ -caroteno (45). En un estudio reciente (40) se examinaron las posibles interacciones entre el azafrán y el selenito, compuesto del cual se sabe tiene actividad anticarcinogénica. Los tumores celulares tratados con azafrán junto con selenito presentaron una mayor inhibición en la formación de colonias y en la síntesis de ácidos nucleicos en comparación con el efecto de estos agentes por separado. El tratamiento de tumores celulares con azafrán resultó incrementar el nivel de compuestos sulfhidrilo a nivel intracelular (40,45). La presencia de compuestos sulfhidrilos correlacionó con la potencia del selenito en la célula (40) lo cual pudo explicar la potenciación de la citotoxicidad del selenito por el azafrán. Otras contribuciones a este estudio se han realizado en diversas investigaciones acerca de los efectos del azafrán y de algunos de sus componentes *in vitro*. Al respecto se ha demostrado que el efecto del antioxidante conocido como ácido-2-carboxílico-3,8-dihidroxi-metil

antraquinona presente en el azafrán y que tiene actividad mas alta que la vitamina E, es capaz de inhibir la oxidación del ácido linoleico. Se han descrito (55, 56) los efectos de los carotenoides naturales y de sus derivados en células tumorales K562 y se ha indicado que la incubación con estos compuestos causó una inhibición significativa en el crecimiento y diferenciación celular. Tarantilis et al., (10,52) realizaron investigación acerca de la potencia de una gran variedad de carotenoides naturales y semisintéticos, en relación a los efectos del ácido retinoico y observaron que estos compuestos tuvieron una alta efectividad para inhibir la proliferación de células de leucemias HL-60 así como también en la inducción de la diferenciación. Escribano et al. (61) comparó los efectos inhibitorios del extracto de azafrán con los de la crocina, crocetina, picrocrocina y safranal. Lo cual condujo a la conclusión de que el crecimiento en la actividad inhibitoria de los extractos de azafrán es principalmente debida a la crocina. También encontraron que la crocina tiene muy poca citotoxicidad. Estos resultados sugieren que los azúcares pueden jugar un papel muy importante en el efecto citotóxico de la crocina, ya que la crocina es un derivado no glucosilado. Sin embargo, la crocetina presenta efectos de inhibición celular de ácidos nucleicos y en la síntesis de proteínas (9), lo cual sugiere también que puede tener un papel en la citotoxicidad del azafrán. Escribano et al. (61) demostró en estudios de cinéticas que el safranal tiene un efecto más rápido que la picrocrocina y que la crocina. Lo cual se puede ver reflejado por una mejor difusión del safranal a través de la membrana celular, debido a que posee naturaleza apolar y bajo peso molecular. También estos mismos autores describieron cambios morfológicos provocados por la crocina, entre los cuales se pudieron observar áreas vacuoladas, reducción de tamaño y condensación de núcleos. Estos cambios morfológicos pueden verse reflejados en alteraciones metabólicas, lo cual ya ha sido previamente reportado a nivel molecular con células tratadas con extractos de azafrán. (48,49)

**Posibles mecanismos de acción de estos agentes:** En la actualidad en forma general se acepta que el cáncer se puede prevenir por una gran variedad de compuestos sintéticos y naturales. Además existe mucha información al respecto de datos epidemiológicos y experimentales, realizados con el fin de esclarecer el mecanismo de acción de la mayoría de estos compuestos como agentes quimioprotectores, sin embargo, aún se entiende poco. Los extractos naturales son muy complejos químicamente y esto en cierta medida hace muy difícil la determinación del mecanismo exacto de acción que tienen en lo referente a su actividad antitumoral.

Así pues, no es sorprendente que a pesar de toda la evidencia acerca de los compuestos naturales y su efecto inhibitorio en tumorigénesis experimental y carcinogénesis química, el mecanismo de acción por el cual realiza este efecto no sea del todo claro. Diversos mecanismos han sugerido que las lectinas de plantas poseen efectos antitumorogénicos y anticarcinogénicos. Como ya se mencionó con anterioridad, las lectinas son proteínas no enzimáticas que pueden unirse a monosacáridos y oligosacáridos en forma reversible, las cuales además poseen una alta especificidad la cual es determinante por la forma del sitio de enlace y la naturaleza de los residuos de aminoácidos a los cuales el carbohidrato se encuentra unido. Pequeños cambios en la estructura de los sitios de enlace, debida a la sustitución de uno o dos aminoácidos, puede reflejar un cambio marcado en la especificidad de las lectinas. Los carbohidratos se unen a la proteína a través de un enlace de hidrógeno, así como también por

fuerzas de van der Waals y de interacciones hidrofóbicas. En células cancerosas se han observado gran variedad de cambios y alteraciones en la estructura del carbohidrato. La mayoría se han encontrado en tejido normales en la secuencia normal del carbohidrato y su expresión en células cancerosas se ve reflejada en un cambio en la etapa de diferenciación a células transformadas. La expresión de complejos tipo N-oligosacárido con ramificaciones y dialquilados en células de tumores malignos parece que se encuentra relacionada directamente con el potencial metastásico. Las diferencias en la estructura de las membranas superficiales entre células normales y transformadas puede reflejarse por un efecto tóxico diferencial de las lectinas sobre células normales y transformadas *in vitro*. Estas observaciones sugieren que la inhibición de la formación del enlace N-oligosacárido puede ser una explicación del efecto citotóxico de las lectinas contra el cáncer (5,6,14,15). Otra explicación para el efecto citotóxico de las lectinas respecto a esta observación (50, 51) es que la incubación del tumor celular con las lectinas causa una fragmentación genómica en el ADN en bandas oligonucleosomales y el mecanismo de detención del crecimiento causado por la lectina puede ser debido a la inducción de células muertas programadas (apoptosis). Se ha demostrado que la incubación de tumores celulares con lectinas inhibe la incorporación de timidina -H3 en el ADN y sugiere que la inhibición reversible de la proliferación de tumores celulares por las lectinas puede ser a través de efectos en la síntesis de ADN (39). Se deberá estudiar e identificar la estructura y la actividad de los compuestos en el extracto de plantas y definir su modo de acción, para lo cual se están llevando a cabo trabajos en diferentes laboratorios. Por todo lo que se ha logrado, se puede decir que existe evidencia convincente de la actividad biológica de las lectinas de plantas para involucrar a estas proteínas como herramienta en el tratamiento de cáncer.

Uno de los mecanismos generales que han sido propuestos para la prevención de tumorigénesis es que el azafrán puede ejercer un efecto citotóxico en las células tumorales y así prevenir su proliferación y aparición de tumores a partir de las células transformadas originalmente. Los estudios mencionados con anterioridad demuestran el hecho de que el extracto de azafrán tiene efecto inhibitorio sobre la proliferación celular. Uno de los estudios más consistentes, observó efectos bioquímicos a nivel celular del extracto de azafrán y su efecto inhibitorio en la síntesis de ADN y ARN (40,48,49). Al comparar esta evidencia con los efectos citotóxicos de muchos agentes, se ha observado que el extracto de azafrán no ejerce un efecto inhibitorio significativo en la síntesis de proteína celular (48,49). De interés particular es el hecho de que el extracto de azafrán inhibe la síntesis de células humanas malignas (independientemente de donde se origina el tumor o se lleva a cabo su transformación a partir de células normales *in vitro*), pero no tienen efecto inhibitorio detectable sobre la síntesis de células humanas no malignas (48,49). Recopilando toda la información descrita, estos hallazgos sugieren la posibilidad de que el efecto inhibitorio del azafrán sobre la síntesis de ácidos nucleicos puede representar una base bioquímica para la inhibición de la proliferación de tumores celulares. La pregunta ahora es determinar si el azafrán tiene un efecto directo en la inhibición de síntesis de ácidos nucleicos o si es el resultado de algún otro efecto primario sobre la célula. Estos supuestos han sido estudiados por medio del análisis de los efectos del azafrán sobre la síntesis de ADN y ARN en un sistema libre de células con núcleos aislados (48). Los resultados indicaron que el extracto de azafrán no tuvo efecto en la síntesis de ADN y ARN en los núcleos aislados, lo cual apoya la conclusión de que el efecto inhibitorio del azafrán sobre la síntesis de

ácidos nucleicos no se debe probablemente a un efecto directo en las reacciones de síntesis. Diversos mecanismos se han propuesto para esclarecer el mecanismo de acción por el cual los carotenoides que constituyen al azafrán ejercen su efecto antitumoral. Nair et al. (43) observó que el efecto antitumoral del extracto de azafrán puede ser demostrado únicamente cuando este es administrado oralmente pero no cuando es inyectado por vía intraperitoneal, llegando a la hipótesis de que es necesario que se metabolicen primero los componentes activos del azafrán para que ejerza su actividad antitumoral. Se ha sugerido en particular que la crocina puede ejercer su efecto antitumoral debido a su conversión a un retinoide. Un segundo mecanismo propuesto para poder conocer el modo de acción de los carotenoides del azafrán en relación a su capacidad antitumoral está basado en la hipótesis ampliamente aceptada de que estos compuestos tienen la función de inhibir las reacciones que generan radicales libres (53,54). La mayoría de los carotenoides son de naturaleza liposoluble y así es que actúan con alta eficiencia como atrapadores de radicales libres a través de la membrana celular (54). Este mecanismo involucra al potencial de atrapamiento de radicales libres de los carotenoides y se ha apoyado en estudios computarizados de las moléculas (59,60). Un tercer mecanismo involucra la interacción de los carotenoides con topoisomerasa tipo II, esta enzima está involucrada en la replicación celular del ADN (56). Esta idea se apoya en que se han encontrado a nivel nuclear algunos carotenoides (57) así como también a su efecto inhibitorio en la síntesis celular de ADN. Un cuarto mecanismo propone que el efecto citotóxico de la crocina es mediado vía apoptosis (62).

## CONCLUSIONES

Hay un gran interés en la evaluación de las funciones biológicas de las lectinas de plantas, en particular su aplicación como instrumento en la detección de cáncer. Se ha observado que el comportamiento de las lectinas de plantas en células normales y malignas son diferentes y también se ha propuesto que las lectinas presentes en la superficie de las células malignas pueden ser un blanco para fines terapéuticos. Existe varios informes en los cuales se concluye que las lectinas de plantas y sus receptores juegan un papel importante en la adhesión de células tumorales y en la metástasis. También hay evidencia de que las lectinas pueden usarse como marcadores de células malignas y como herramientas para el diagnóstico y la terapia de cáncer. En la literatura hemos encontrado pocas publicaciones acerca del estudio del efecto de las lectinas de plantas sobre células tumorales en crecimiento. Se ha sugerido que el tratamiento con anticuerpos de anti-lectinas pueden inhibir el crecimiento de tumores celulares e inhibir la colonización *in vivo*. En otras investigaciones se han usado lectinas como blanco de anticuerpos de anti-lectinas conjugadas con drogas o toxinas para células tumorales o el uso de estas como acarreadores de drogas blanco (5,14,15). Se pueden usar varias lectinas de plantas, marcadas con fluoresceína, con especificidad a determinados carbohidratos para comparar su reactividad con células no adhesivas o células tumorales adhesivas. Existe mucha evidencia que sugiere que las lectinas se encuentran involucradas en la adhesión de células tumorales y su posterior transformación. (15). Las propiedades mitogénicas de las lectinas de plantas y su habilidad para aglutinar preferentemente a células malignas ha dado pie a la búsqueda y al estudio de nuevas lectinas con propiedades no usuales o a reexaminar las lectinas conocidas. Por ejemplo, recientemente se ha publicado que a partir de semillas de frijol aterciopelado, se

aislaron lectinas de tipo Forsmann. Estas semillas de leguminosas primeramente se conocieron como «no hemoaglutinantes» (57). Además, después del descubrimiento de Aub, en el cual las células malignas fueron aglutinadas por las lectinas más efectivamente que las células normales, muchos investigadores creyeron que la diferencia entre las células cancerosas y las células normales estaba en su superficie; sin embargo, no se descarta la posibilidad de que el mecanismo del efecto antitumoral de las lectinas tenga otra explicación. Analizando la literatura y los resultados preliminares puede sugerirse que uno de los posibles mecanismos de acción de las lectinas de plantas como agentes quimioprotectores sea el efecto directo o indirecto para actuar como inhibidores de la síntesis de macromoléculas en las células tumorales. Por todo lo que se ha logrado, se puede decir que existe evidencia convincente de la actividad biológica de las lectinas de plantas para involucrar a estas proteínas como herramienta en el tratamiento de cáncer. Es bien conocido que el cáncer puede prevenirse por medio de la administración de una gran variedad de compuestos sintéticos y naturales. Además de las evidencias experimentales y epidemiológicas, los mecanismos de acción de muchos de los agentes quimioprotectores no están aún claros. Uno de los mecanismos sugeridos acerca de su acción, es la inhibición en la síntesis de proteínas y/o ácidos nucleicos en las células tumorales. Puede notarse que la composición química tan compleja de los extractos de productos naturales dificulta la determinación exacta del mecanismo o de su efecto antitumoral.

La gran variedad de estudios recientes ofrecen evidencia convincente acerca de la actividad biológica del azafrán y de sus constituyentes. Estos hallazgos científicos junto con toda la información que se ha recopilado a través de la evidencia terapéutica del azafrán, en contra de muchas enfermedades, ha sido contundente para proponer al azafrán y/o a sus componentes como agentes útiles en la medicina moderna. Las investigaciones futuras al respecto, deben ser enfocadas indudablemente a la búsqueda de poder aplicarlo como agente medicinal, a través de modelos animales en los cuales se estudien algunas de las enfermedades de humanos. Además se debe de complementar con estudios que puedan contribuir al entendimiento del mecanismo o los mecanismos por los cuales el azafrán ejerce su efecto biológico. Tales estudios indudablemente revelarán las aplicaciones potenciales del azafrán y nuevas actividades biológicas del mismo. Un aspecto importante es el del continuo aumento en las investigaciones acerca de la identificación y caracterización biológica de los componentes activos del azafrán, así como la definición de formas de acción a nivel molecular de los mismos. Dentro de las actividades biológicas del azafrán, la de mayor potencial y aplicabilidad médica es la de su habilidad para inhibir la carcinogénesis. Como ya se mencionó, algunos estudios recientes han demostrado que el extracto de azafrán posee actividad antitumoral contra tumores transplantados y actividad anticarcinogénica cuando la carcinogénesis se ha inducido en forma química, como también cuando se han utilizado para inhibir a tumores celulares *in vivo*, sobre los cuales se ha ejercido un efecto citotóxico. Además es importante también mencionar que los niveles de azafrán empleados en estos estudios resultaron no tener efecto tóxico. Estos hallazgos han incrementado la posibilidad de que el azafrán en forma natural y/o alguno de sus constituyentes pueda ser utilizados como agentes antitumorales y anticarcinogénicos, ya sea solos o en combinación con alguna otra sustancia sintética con actividad anticancerígena. Se deberá estudiar e identificar la estructura y la actividad de los compuestos en el extracto de azafrán y definir su modo de acción, para lo cual se están llevando a cabo trabajos en diferentes laboratorios. Investigaciones

futuras en relación al mecanismo de acción del extracto de azafrán, así como profundizar a nivel celular y molecular sobre el como se efectúa un efecto sinérgico entre algunos de los componentes del azafrán con otros agentes serán áreas importantes. Con todo esto, establecer luego cuáles son los protocolos más exitosos ya sea en aspectos quimiopreventivos o quimioterapéuticos, tanto en modelos animales y finalmente en enfermedades humanas. Los extractos de plantas naturales parecen ser una importante fuente de agentes antitumorales y algunos de los componentes extraídos de estos nos acercan al descubrimiento de nuevas drogas. Los estudios descritos con anterioridad en relación a las características del azafrán, comprueban que esto puede ser verdad. Se puede vislumbrar que sólo se ha empezado a tocar la superficie de una de las aplicaciones potenciales de lectinas y azafrán en la salud y en las enfermedades humanas.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por CONACYT, México.

### REFERENCIAS

1. Unnikrishnan M.C. & Kuttan R. Cytotoxicity of extracts of spice to cultured cells. *Nutr. Res.*; 11; 251-257, 1988
2. Unnikrishnan M.C. & Kuttan R. Tumour reducing and anticarcinogenic activity of selected spices. *Cancer Lett.*; 51; 85-87, 1990
3. Wattenberg L.W. En: *Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanism II*. Kukoda, Shankel and Waters (eds), Plenum Publishing Corporation, NY-London, p.155-166, 1990.
4. Wyatt C.J., I. Darada, Valencia M.E. & Navarro E. Colon cancer in rats and diet in the Sonoran desert region of México. *ALAN*, 46, 1, 1996
5. Goldstein I.J., Hughes R.S., Monsigny M., Osawa T. & Sharon N. What should be called a lectin?. *Nature*; 285; 665, 1980.
6. Sharon N. & H. Lis. Lectins-proteins with a sweet tooth: function in cell recognition. *Essays Biochem.*, 30, 59-75, 1995.
7. Sharon N. «Lectin-Carbohydrate Interactions at the Atomic Level» En. *Lectin Blocking: New Strategies for the Prevention and Therapy of Tumor Metastasis and Infectious Diseases* Gustav Fisher, Stuttgart, p.1-108, 1994.
8. Oberdieck, R. Contribution to knowledge and analysis of saffron *Crocus sativus* L. *DTSCH. LEBENS-UND NUTZGUTWISSENSCHAFT*, 87 (8); 246-252, 1991
9. Abdullaev F.I. Biological effects of saffron. *BioFactors*; 4 (2); 83-86, 1993.
10. Tarantilis P.A., Morjani H., Polissiou M. & Manfait M. Inhibition of growth and induction of differentiation of promyelocytic leukemia (HL-60) by carotenoids from *Crocus sativus* L. *Anticancer Res.*; 14; 1913-1918, 1994.
11. Abdullaev F.I. Inhibitory effect of crocetin on intracellular nucleic acid synthesis in malignant cells. *Toxicology Lett.*, 70; 243-251, 1994.
12. Boland C.R., Martin M.A. & Goldstein I.J. Lectin reactivities as intermediate biomarkers in premalignant colorectal epithelium. *J. Cellular Biochem.*, Supplement 16G, 103-109, 1992.
13. Murakami I., Sarker A.B., Hayashi K. & Akagi T. Lectin Binding Patterns in Normal Liver, Chronic Active Hepatitis, Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma. An Immunohistochemical and Immunoelectron Microscopic Study» *Acta Pathologica Japonica*, 42(8);560-572, 1992
14. Ganguly C., Das S. Plant lectins as inhibitors of tumor growth and modulators of host immune response. *Chemotherapy*, 40 (4), 272-278, 1994.
15. Mody R.M., Joshi S., Chaney W. Use of lectins as diagnostic and therapeutic tools for cancer. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 33(1), 1-10, 1995.
16. Lin J.Y., Tserng K.Y., Chen C.C., Linm L.T., Tung T.C., Abrin and

- Ricin: Antitumor substances. *Nature*, 227, 292-293, 1970
17. Shoham, J., Inbar M., Sachs L. Differential toxicity on normal and transformed cells in vitro and inhibition of tumour development in vivo by concavalin A. *Nature*, 227, 1244-1246, 1970.
  18. Fodstad O., Pihl A.. Effect of ricin and abrin on survival of L1210 leukemic mice and on leukemic and normal bone-marrow cells. *Int. J. Cancer*, 22 (5), 558-63, 1978
  19. Lin, J.K., Horng S.C., Tung T.C.. Studies on carcinogenic bifunctional aminoazo dyes. III. Synthesis and physico-chemical properties of (N, N',- dimetyl-4-amino)-, (4-amino)- and (N'-acetyl-4-amino)- NN-dimetyl-4-amino-4-aminoazobenzene: Taiwan y Hsueh Hui Tsa Chih Journal of the Forsman Medical Association, 70 (8), 431-437, 1971.
  20. Hsu C.T., Lin J.Y., Tung T.C. Further report on therapeutic effect of abrin and ricin on human cancer. Taiwan y Hsueh Hui Tsa Chih Journal of the Forsman Medical Association, 74 (9), 526-542, 1974.
  21. Fodstad O., Pihl A.. Synergistic effects of adriamycin and ricin on L1210 leukemic cells in mice. *Cancer Res.*, 40 (10), 3735-3739, 1980.
  22. Tung T.C., Lin J.Y., Hsu C.T. The mechanism of the anti-cancer activities of abrin and ricin. Taiwan y Hsueh Hui Tsa Chih Journal of the Forsman Medical Association, 73 (11), 682-884, 1974.
  23. Refsnes K., Olsnes S. & Pihl A. On the toxic proteins abrin and ricin. Studies of their binding to and entry into Ehrlich ascites cells. *J. Biol. Chem.*, 249, 3557-3562, 1974.
  24. Eckhardt A.E., Malone B.N. & Goldstein I.J.. Inhibition of Ehrlich ascites tumor cell growth by Griffonia simplicifolia I lectin in vivo. *Cancer Res.*, 42, 2977-2979, 1982
  25. Maddox D.E., Goldstein I.J. & LoBuglio A.F. Griffonia simplicifolia I lectin mediates macrophage-induced cytotoxicity against Ehrlich ascites tumor cells. *Cell Immunol.*, 71, 202-207, 1982.
  26. Maddox, D.E., S. Shibata & Goldstein I.J. Stimulated macrophages express a new glycolipid receptor reactive with Griffonia simplicifolia I-B4 isolectin. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 79, 166-170, 1982.
  27. Knibbs R.N., Mac-Callum D.K., Lillie J.H., Goldstein I.J. Wild-type and cultured Ehrlich ascites tumor cells differ in tumorigenicity, lectin binding pattern and binding to basement membranes. *Glycobiology*, 4 (4); 419-428, 1994.
  28. Roth J., Li W.P., Knibbs R.N., Mac-Callum D.K., Song Z., Goldstein I.J. Differential expression of cell surface sialoglycoconjugates on wild-type and cultured Ehrlich ascites tumor cells as revealed by quantitative lectin-gold ultrastructural cytochemistry. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 91 (24) 11353-11357, 1994.
  29. Chen Y.F., Boland C.R., Kraus E.R., Goldstein I.J. The lectin Griffonia simplicifolia I-A4 (GS I-A4) specifically recognizes terminal alpha-linked N-acetylgalactosaminyl groups and is cytotoxic to the human colon cancer cell lines LS1174t and SW1116. *Int. J. Cancer.*, 57 (4), 561-567, 1994.
  30. Bardocz S., Grant G., Duguid T.J., Brown D.S., Sakhi M., Pusztai A.J., Pryme I.F., Mayer D., & Way B.K. Phytohaemagglutinin in the diet induces growth of the gut and modifies some organ weights in mice. *Med. Sci. Res.*, 22, 101-103, 1994.
  31. Pryme I.F., Pusztai A.J., Bardocz S. A diet containing the lectin phytohaemagglutinin (PHA) slows down the proliferation of Krebs II cell tumours in mice. *Cancer Letter*, 76, 133-137, 1994.
  32. Pusztai A.J., Ewen S.W.B., Grant G., Brown D.S., Stewart J.C., Peumans W.J., Van Damme E.J.M., & S. Bardocz. Antinutritive effects of wheat-germ agglutinin and other N-acetylglucosamine-specific lectins. *Br. J. Nutrition*, 70, 313-321, 1993.
  33. Nachbar M.S., Oppenheim J.D. & Aull F. Interaction of lectins with plasma membrane glycoproteins of the Ehrlich ascites carcinoma cell. *Biochim. Biophys. Acta*, 419, 512-529, 1976.
  34. Tomita, M., T. Osawa, Y. Sakurai & T. Ukita. On the surface structure of murine ascites tumor. I. Interactions with various phytoagglutinins. *Int. J. Cancer*, 6, 283-289, 1970.
  35. Tomita M., Kurokawa T., Onozaki K., Osawa T., Sakurai Y. & Ukita T. The surface structure of murine ascites tumor. II. Difference in cytotoxicity of various phytoagglutinins towards Yoshida sarcoma cells in vitro. *Int. J. Cancer*, 10, 602-606, 1972.
  36. Robinson E., & T. Mekori. Studies on the effect of phytohemagglutinin on ascites tumor in mice. *Isr. J. Med. Sci.*, 7, 83-89, 1971.
  37. Schumacher U., Stamouli A., Adam E., Peddie M., Pfuller U. Biochemical, histochemical and cell biological investigations on the actions of mistletoe lectins I, II and III with human breast cancer cell lines. *Glycoconj. J.*, 12, 250-257, 1995.
  38. Janssen O., Scheffler A., Kabelitz D. *In vitro* effects of mistletoe extracts and mistletoe lectins. Cytotoxicity towards tumor cells to the induction of programmed cell death (apoptosis). *Arzneimittelforschung*, 43 (11), 1221-1227, 1993.
  39. Yu L., Fernig D.G., Smith J.A., Milton J.D., Phodes J.M. Reversible inhibition of proliferation of epithelial cell lines by *Agaricus bisporus* (edible mushroom) lectin. *Cancer Res.*, 53, 4627-4632, 1993.
  40. Abdullaev F.I. & González de Mejía E. Inhibition of colony formation of HeLa cells by naturally occurring and synthetic agents. *BioFactors*, 6 (1), 1-6, 1996
  41. Nair S.C., Pannikar B. & Pannikar K.P. Antitumor activity of saffron (*Crocus sativus*). *Cancer Lett.*, 57, 109-114, 1991.
  42. Nair, S.C., Salomi M.J., Panikkar B., Panikkar K.R. Modulatory effects of the extracts of saffron and *Nigella sativa* against cisplatin-induced toxicity in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 31,(1),75-83, 1991.
  43. Nair, S.C., Salomi M.J, Varghese C.D., Panikkar B. & Panikkar K.R. Effect of saffron on thymocyte proliferation, intracellular glutathione levels and its antitumor activity. *BioFactors*, 4 (1), 51-54, 1992.
  44. Nair S.C. & Panikkar K.P.R. Antitumor principles from *Ixora javanica* leaves. *Ind. J. Pharm. Sci.*, 52 (2); 125-128, 1990.
  45. Nair S.C., Varghese C.D., Panikkar K.P., Kurumboor S.K. & Parathod R.K. Effects of saffron on vitamin A levels and its antitumor activity on growth of solid tumors in mice. *Int. J. Pharmacog.*, 32 (2), 105-114, 1994.
  46. Salomi M.J., Nair S.C. & Panikkar K.P. Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice and its non-mutagenic activity. *Proc. Ker. Sci. Congress*, 3, 125, 1990.
  47. Salomi M.J., Nair S.C. & Panikkar K.P. Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice. *Nutrition and Cancer*, 16,(1),67-72, 1991.
  48. Abdullaev F.I. & Frenkel G.D. Effect of saffron on cell colony formation and cellular nucleic acid and protein synthesis. *BioFactors*, 3, (3), 201-204, 1992.
  49. Abdullaev F.I. & G.D. Frenkel. The effect of saffron on intracellular DNA, RNA and protein synthesis in malignant and non-malignant human cells. *BioFactors*, 4 (1), 38-41, 1992.
  50. Kim, M., M.V. Rao, D.J. Tweardy, M. Prakash, U. Galili, E. Gorelik. Lectin-induced apoptosis of tumour cells. *Glycobiology*, 3, 447-453, 1993
  51. Ryder S.D., Smith J.A., Rhodes J.M. Peanut lectin: a mitogen for normal human colonic epithelium and human HT 29 colorectal cancer cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 84, 1410-1416, 1992.
  52. Tarantilis P.A., Polissiou M., Morjani H., Avot P., Bei Jebbar A. & Manfait M. Anticancer activity and structure of retinoic acid and carotenoids of *Crocus sativus* L. on HL60 cells. *Anticancer Res.*, 12, 1989-1992, 1992.
  53. Bruce N.A. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221, 1256-1264, 1983.
  54. Burton G.W. & Ingold K.U.  $\beta$ -carotene: An unusual type of lipid antioxidant. *Science*, 224, 569-573, 1984.
  55. Morjani H., Tantilis P., Polissiou M. & Manfait M. Growth inhibition and induction of erythroid differentiation activity by crocin, dimethylcrocin and  $\beta$ -carotene on K562 tumor cells. *Anticancer Res.*, 10, 1398-1406, 1990.
  56. Morjani H., Riou J-F., Nabiev F., Lavelle Y. & Manfait M. Molecular and cellular interaction between intopicine. DNA and topoisomerase II studied by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy. *Cancer Lett.*, 53, 4784-4790, 1993.
  57. Manfait M., Morjani H., Efreimov R., Angibousi J-F., Polissiou M. & Nabiev F. High sensitive detection of intracellular carotenoids in single

- living cancer cells as probed by surface-enhanced Raman spectroscopy. En: *Spectroscopy of Biological Molecules*. Royal Society of Chemistry (UK). Hester, R.E. and Giring, R.B. (eds) p. 303-304. 1991.
58. Mo H., Goldstein I.J. Isolation and characterization of a Forssman antigen-binding lectin from velvet bean (*Mucuna derringtoniana*) seeds. *Glycoconjugate J.*, 11, 424-4356. 1994.
59. Neidle S. & Jenkins T.C. Molecular modeling to study DNA interaction by antitumor drugs. En: *Methods in Enzymology, Molecular Design and Modeling: Concepts and Applications (part B: Antibodies and Antigens, Nucleic Acids, Polysaccharides and Drugs)* Langonc, J. (ed). Academic Press Inc., 203; p.433-458. 1991.
60. Martin Y.C. Computer-assisted rational drug design. In: Langonc, J. (ed). *Methods in Enzymology, Molecular Design and Modeling: Concepts and Applications (part B: Antibodies and Antigens, Nucleic Acids, Polysaccharides and Drugs)* Academic Press Inc., p. 203; 587-61. 1991.
61. Escribano J., Alonso G.L., Coca-Prados M., Fernandes J-A. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Lett.*, 100, 23-30. 1996.
62. Wyllie A.H. Apoptosis and regulation of cell numbers in normal and neoplastic tissues: an overview. *Cancer Metastasis Rev.*, 11, 95-103. 1992.

Recibido: 02-08-1996

Aceptado: 04-04-1997

## Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal

Gines López<sup>1</sup>, Gaspar Ros<sup>2</sup>, Francisco Rincón<sup>3</sup>, María Jesús Periago<sup>1</sup>, Carmen Martínez<sup>1</sup> y Josefina Ortuño<sup>1</sup>

Departamento de Bromatología e Inspección de Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, España.  
Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, España.

**RESUMEN.** Los efectos fisiológicos desarrollados por la fibra dietética (FD) son el resultado de complejos mecanismos de interacción entre los componentes del alimento no digerido por los enzimas digestivos del hombre y las condiciones del entorno gastrointestinal, como el pH, fuerza iónica y la presencia de otras sustancias vehiculadas por el alimento. La naturaleza química y la estructura de la FD son las dos características principales inherentes a la fibra que determinan su comportamiento en la luz intestinal. Este trabajo presenta las principales propiedades funcionales de la FD, y explica como éstas son responsables de los efectos fisiológicos desarrollados por la fibra en el tracto gastrointestinal.

**SUMMARY.** Functional properties of dietary fiber. Mechanisms of actions in the gastrointestinal tract. Physiological effects of dietary fiber (DF) are the result of complex interacting mechanisms between the components of food which is not digested by the endogenous enzymes of the digestive tract and the conditions of gastrointestinal environment, such as pH, ionic strength and other food components. Chemical nature and structure of each component of DF are two factors that determine their behaviour in lumen intestinal. This article report the main functional properties of DF and explain how these are responsible of physiological effects developed by DF in gastrointestinal tract.

### INTRODUCCION

El estudio de la fibra en base a su conocimiento químico o medida cuantitativa tiene un valor limitado, puesto que la acción biológica de la fibra dietética (FD) en el organismo depende de sus propiedades físico-químicas (1-3). Su análisis resulta fundamental para comprender los mecanismos complejos por los que la FD desarrolla sus efectos fisiológicos en el tracto gastrointestinal. De las propiedades físico-químicas de la FD también depende el comportamiento de los alimentos ricos en fibra durante su procesado industrial (4,5).

Químicamente la FD está constituida por hidratos de carbono complejos que no son degradados ni absorbidos en el intestino delgado. Sin embargo, en la pared de la célula vegetal los hidratos de carbono se encuentran asociados a otro tipo de sustancias que comparten la característica común de ser resistentes a los enzimas digestivos del hombre. La acción biológica de la FD por lo tanto, no queda limitada a los hidratos de carbono, sino que debe extenderse al conjunto de la pared celular formada por polisacáridos complejos (celulosa, hemicelulosas y pectina), lignina, polifenoles, almidón resistente a la degradación, proteínas asociadas a la pared celular y algunos minerales (6). La proporción en la que cada uno de ellos forma parte de la pared celular es diferente para cada alimento y de

ella depende el tipo e intensidad de efecto ejercido por la FD en el organismo.

Las propiedades físico-químicas o funcionales de la fibra pueden agruparse en cuatro apartados: (1) propiedades de hidratación (solubilidad, hinchamiento, capacidad de retención y absorción de agua, viscosidad y gelación); (2) capacidad de intercambio catiónico; (3) tamaño de partícula, densidad y características de superficie (porosidad y capacidad de adsorción grasa); y (4) adsorción de moléculas orgánicas.

**Propiedades de hidratación:** Las propiedades de hidratación dependen en gran medida de la naturaleza físico-química de los constituyentes de la fibra. La solubilidad, hinchamiento, capacidad de retención de agua y viscosidad de la FD en los alimentos están determinadas fundamentalmente por su contenido en pectinas, gomas, mucílagos y hemicelulosas solubles, mientras que la celulosa, hemicelulosas insolubles, lignina y otros componentes relacionados con la fibra tienen una influencia limitada sobre estas propiedades (7-11). Esta diferencia es debida al mayor número de polisacáridos con grupos funcionales libres en los residuos de azúcares (4). Por esta razón, los alimentos ricos en fibra soluble como las frutas y verduras presentan mayor capacidad de hidratación que los cereales (5,12,13). Además de la naturaleza química de la fibra, las propiedades de hidratación también están determinadas por la estructura física de los polisacáridos que la forman (14,15), así como por el tamaño de partícula y peso molecular de los polisacáridos, forma y fuerza iónica, pH, temperatura y tipos de iones presentes en solución (11,12,15-18).

El procesado de los alimentos modifica la textura de los mismos, lo que se traduce en cambios de las propiedades funcionales de la fibra, influyendo de esta manera en su comportamiento cuando se encuentra formando parte de una solución (11). De forma genérica, la reducción del tamaño de partícula se traduce en un aumento de la

1. Investigador colaborador del grupo de investigaciones del Departamento de Bromatología e Inspección de Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia (España).
2. Investigador principal del grupo de investigaciones del Departamento de Bromatología e Inspección de Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia (España).
3. Investigador principal del grupo de investigación del Departamento de Ciencia y Tecnología de los alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba (España).

capacidad de hinchamiento y de retención de agua, debido al incremento del área superficial de las partículas en contacto con el agua (15). Sin embargo, se han descrito casos particulares como el de los polisacáridos de la judía y la zanahoria, en los que una reducción de su tamaño ocasiona una disminución de su viscosidad y grado de polimerización (19). Estas modificaciones debidas al procesado pueden variar los efectos fisiológicos de la fibra (20,21).

Está demostrado que la incorporación de polisacáridos viscosos en la comida, disminuye la glucemia sin que exista un incremento paralelo de la secreción de insulina (22, 23). Los mecanismos por los que la fibra interviene en los procesos de absorción de nutrientes en el tracto gastrointestinal son la prolongación del tiempo de vaciado gástrico y el retardo en la absorción de nutrientes. El primero de ellos se debe al hecho de que las dietas con altos niveles de hidratos de carbono al ser voluminosas, requieren largos tiempos de digestión y de vaciado gástrico (1,2). A su vez, el grado de llenado del estómago actúa como un factor que determina la saciedad y la parada de comer (24). En el segundo mecanismo la FD retrasa la absorción de nutrientes debido a su capacidad para hidratarse, ya que la captación de agua por las fibras da lugar a la formación de un gel matricial viscoso, que enlentece la difusión de los nutrientes desde la luz hasta la superficie de la mucosas intestinal (25-28). Además, los polisacáridos viscosos pueden impedir los movimientos de convección del intestino (por los que los nutrientes por acción de las contracciones intestinales, se acercan al epitelio) y los de difusión a través del epitelio intestinal, retardando la absorción de nutrientes (28). Junto a estos efectos, la fibra puede ocasionar una mezcla inadecuada del contenido intestinal e impedir el acceso de los enzimas digestivos a sus sustratos (1,29), comprobándose que el contenido en fibra del alimento y la rigidez de la pared celular se comportan como factores antinutritivos que reducen la digestibilidad del almidón y las proteínas (30-34).

La viscosidad de un alimento en la luz intestinal está gobernada, de una parte por las características inherentes a la propia naturaleza de las fibras, tales como la presencia de polisacáridos solubles cargados, su peso molecular, número de coloides en solución y su tamaño (1,27,35), y de otra, por las condiciones que se establecen en el medio intestinal durante la digestión, ya que la presencia de otras sustancias cargadas y un bajo pH alteran la estructura del gel formado por los polisacáridos solubles (11,36,37). Las gomas debido a su elevada viscosidad son sustratos que retardan en gran medida la absorción de nutrientes (22). La acción combinada de estos mecanismos posibilita la reducción de los niveles de glucosa postprandial en la sangre, cuya medida se realiza mediante el índice de glucemia, que indica el incremento relativo de los niveles de glucosa en sangre tras las comidas (38).

Una menor absorción de lípidos en el intestino puede estar ocasionada por el incremento de la viscosidad de la FD, de la misma manera que ésta atenúa la absorción de glucosa, además de por una combinación de la unión de esteroides a polisacáridos. Los polisacáridos viscosos pueden interferir en la unión lipasa-grasasales biliares, diluir las lipasas intestinales o reducir su efectividad catalítica (39). Estos efectos combinados disminuyen la reabsorción de lípidos en el ileon, y por tanto su transporte por el conducto torácico (40).

Junto a la viscosidad, la estructura de la fibra es el otro factor que interviene en la disminución de la absorción de nutrientes (41), ya que éstos son atrapados dentro de la estructura física de la fibra. La liberación de nutrientes se incrementa en proporción directa a su concentración dentro de las partículas e inversamente proporcional al

aumento del tamaño de las mismas, comprobándose en estudios «in vitro» que cuando la viscosidad de las soluciones es muy baja, la estructura y forma física de la fibra constituye el factor determinante de la ralentización en la absorción de glucosa (15). La forma física del alimento, es pues una característica de especial importancia para comprender el mecanismo de acción de la fibra en intestino. Esta a su vez, depende de la integridad y grado de madurez de los tejidos, y del efecto del procesado y cocinado en la estructura de la pared celular (2). Finalmente, la capacidad de captación de agua se relaciona con el aumento del volumen fecal y con la posibilidad de ser fermentadas por la microflora bacteriana (4,26).

**Capacidad de intercambio catiónico:** La reducción de la biodisponibilidad de determinados minerales y electrólitos debido a su adsorción y eliminación por heces, constituye uno de los efectos adversos atribuidos tradicionalmente a la FD (4,42). Los grupos carboxílicos presentes en los ácidos urónicos de los polisacáridos son los principales responsables de estos efectos (43-45). Las pectinas son los polisacáridos con mayor número de grupos carboxílicos, aunque también están presentes en las hemicelulosas y proteínas asociadas a la fibra (46-48). Otros grupos funcionales que participan en la capacidad de intercambio catiónico de la fibra son los grupos hidroxílicos de los polisacáridos neutros y el ácido fítico a través de grupos fosfóricos (49-52). También se ha descrito la unión de determinados minerales a la lignina, compuestos fenólicos y productos de la reacción de Maillard (43,53-54). La capacidad de intercambio catiónico es una medida «in vitro» utilizada para conocer el efecto potencial de la fibra para unir cationes, estando determinada fundamentalmente por el número de grupos carboxílicos libres de los ácidos urónicos (21,55). Las frutas y verduras debido a su alto porcentaje de pectinas presentan mayores valores de capacidad de intercambio catiónico que los cereales (45).

La cantidad de fibra requerida para interferir la absorción mineral es relativamente alta, aunque la popularidad alcanzada por la FD pueden aumentar su consumo con el riesgo consiguiente (56). Sin embargo, este efecto depende del tipo de fibra ingerido por el organismo y las condiciones del entorno gastrointestinal (57), puesto que su posible efecto sobre la biodisponibilidad mineral puede verse atenuado si se tiene en cuenta que la fibra dietética soluble y especialmente las pectinas, son fermentadas en colon, permitiendo la liberación de minerales como el hierro y el calcio (58). La presencia del ácido fítico y su porcentaje en los alimentos se ha descrito como el factor antinutritivo asociado a la fibra dietética más importante en la reducción de la biodisponibilidad mineral (45,49,50,59,60). Existen pocas evidencias de que el consumo moderado de fibra en cantidades iguales o superiores a las dietéticamente recomendadas (más de 20 g/día) (61) interfiera la absorción y biodisponibilidad mineral (62,63), sobre todo debido al elevado aporte de minerales a la dieta de cereales, frutas y verduras (59,64).

**Tamaño y estructura de partícula, densidad y características de superficie (porosidad y capacidad de adsorción grasa):** Este grupo de propiedades funcionales determinan el comportamiento reológico de la fibra (12,28,37,65-67). A su vez, la capacidad de adsorción grasa es de gran importancia tecnológica, y de ella depende en gran medida la aceptación de la fibra como alimento o ingrediente alimentario (5,68).

Las fibras más porosas permiten una mayor capacidad de retención y absorción de agua (13,66), lo que facilita la penetración de las

bacterias del colon dentro de la matriz de fibra para su degradación (24). La FD es fermentada en el colon por las bacterias pertenecientes a los géneros *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium* y *Peptostreptococcus*. La degradación de los hidratos de carbono no disponibles en intestino delgado es llevada a cabo principalmente por el género *Bacteroides*, dando lugar a la producción de ácidos grasos de cadena corta (propiónico, butírico y acético) y gases (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>S) (69-71). Dos características inherentes a la naturaleza de las fibras determina su grado de fermentación: la estructura y la naturaleza de los componentes individuales de la fibra. No todos los polisacáridos son degradados de igual forma por la microflora bacteriana del colon. Las fibras solubles son sustratos más adecuados para la fermentación que las fibras insolubles, en las que la penetración de las bacterias no ocurre tan fácilmente, dificultándose su ruptura (24). Pero además de la porosidad, la rigidez de la pared celular es otro factor que diferencia el grado de fermentación de los distintos tipos de fibra (72,73). La pared celular es más fácilmente degradada cuando en ella abunda la presencia de ácido galacturónico y arabinosa. La xilosa y glucosa confieren rigidez a la pared celular, lo que sumado a sus bajas propiedades higroscópicas hacen de las fuentes de fibra ricas en estos polisacáridos, sustratos con escasa capacidad de ser degradados en colon (21,55). el mecanismo íntimo de degradación se produce al unirse el polisacárido a un receptor complejo en la membrana externa de las bacterias, trasladándose al interior del periplasma, donde será degradado por los enzimas bacterianos (70).

La forma física y el tamaño de partícula influyen en el volumen de la masa fecal, disminuyendo éste cuando se reduce el tamaño de partícula (20). De igual manera, se ha comprobado en estudios llevados a cabo en ratas, que estas dos características determinan el grado de fermentación de las fibras (74).

La capacidad de adsorción grasa está relacionada con la composición química, y el tamaño y área superficial de las partículas de fibra. La grasa queda atrapada en la superficie de la fibra principalmente mediante procesos mecánicos (5). Sosulski y Cadden (12) encontraron que son las fuentes ricas en lignina las que poseen una mayor capacidad de absorber grasa. En estudios llevados a cabo sobre purificados de fibra dietética de alcachofa, López y col. (15) han determinado que las fibras insolubles presentan mayores valores de adsorción grasa que las solubles, tanto por su contenido en lignina como por su mayor tamaño de partículas. Sin embargo, a veces puede obtenerse un incremento de la capacidad de adsorción grasa al reducir el tamaño de las partículas (17).

**Adsorción de moléculas orgánicas:** Esta propiedad se basa en la capacidad que poseen algunos componentes de la fibra para unir determinadas sustancias en el intestino como ácidos y sales biliares, colesterol, drogas, compuestos tóxicos y carcinogénicos (4,75-77). La lignina, pectina y goma guar se han identificado como los componentes de la fibra con mayor capacidad para unir moléculas orgánicas «in vitro» (56,75,78,79).

Basándose en estudios epidemiológicos que relacionaban diferentes tipos de dietas y la incidencia de cáncer de colon, Burkitt (80) sugirió la acción protectora de la fibra dietética frente a este tipo de cáncer. Los datos experimentales obtenidos de estudios «in vitro» y de animales de experimentación, junto con las evidencias epidemiológicas (81), han permitido establecer la teoría por la que un incremento de la fibra dietética supone un mecanismo efectivo de protección frente al cáncer de intestino grueso en el hombre. El estudio con mutágenos experimentales como IQ (3-metilimidazol

[4,5-*f*] quinolina-2-amina), MeIQx (3,8-dimetil-3H-imidazol [4,5-*f*] quinoxalina-2-amina), y las aminas heterocíclicas Trp-P-1 y Glu-P-1, han evidenciado que la unión entre los componentes de la fibra, especialmente lignina, alginatos y pectinas, y dichos mutágenos ocurre mediante procesos de adsorción, estando influenciadas por la cantidad y características hidrofóbicas de la fibra, el pH y la temperatura alcanzada en los ensayos (78,82,83).

Por otra parte, es sabido que la fibra dietética puede unir ácidos biliares, lo que limita su absorción en el intestino delgado, y permite su excreción por heces (77). Debido a esta propiedad, diversos estudios se han centrado en el papel desarrollado por diferentes fuentes de fibra (tanto en su estado natural en los alimentos como en fuentes de fibra aisladas), en la reducción de los niveles de colesterol en sangre, reconociéndose su efecto preventivo frente a diferentes enfermedades cardiovasculares (84-87). Si bien no está enteramente demostrado, la teoría más aceptada para explicar este efecto hipocolesterinémico de la fibra dietética, se basa en el hecho de que los ácidos biliares unidos a la fibra y eliminados por heces, son reemplazados por el organismo mediante la síntesis de nuevos ácidos biliares a partir del colesterol, lo que da lugar a que su tasa en el organismo disminuya (1,2).

El mecanismo por el que la fibra dietética se une a los ácidos biliares e interfiere en su ciclo enterohepático es complejo y depende de las propiedades físico-químicas de la fibra, principalmente del tamaño y área superficial de partícula, estructura celular y grado de ionización (5,88). Mediante las interacciones de la FD con las sales biliares y las modificaciones en formación de las micelas, la fibra consigue alterar el ciclo enterohepático de los ácidos biliares. En el ciego los ácidos biliares son deconjugados formando compuestos menos solubles y con capacidad para adsorberse a la FD a través de uniones hidrofóbicas, incrementándose la pérdida de ácidos biliares por heces (2,77). No obstante, para las pectinas este mecanismo de acción no es posible, ya que tanto éstas como los ácidos biliares se encuentran en forma ionizada en el intestino, lo que da lugar a la repulsión entre ambos debido a sus cargas (40). Sin embargo, la presencia de terminados minerales, permite que dos formas aniónicas como la fibra y los ácidos biliares puedan unirse, fundamentalmente mediante la formación de pectato-cálcico (79). Algunos cereales y verduras como el centeno, trigo, avena, cebolla, repollo y zanahoria, así como polisacáridos aislados (pectinas) han demostrado su posibilidad para unir ácidos y sales biliares en estudios «in vitro» e «in vivo» (75,77,79,89-91). Dicha unión se ha comprobado que es efectiva en presencia de hierro y calcio (75,89). Por otra parte, Zhang y col (90) han detectado variaciones en la excreción fecal de ácidos biliares en hamsters cuando el estado físico de la fibra de la avena está modificada por el calentamiento.

Al incremento de la excreción fecal de los ácidos biliares mediante procesos de adsorción a la FD, se unen los debidos a la interferencia que ocasionan las fibras solubles viscosas en la formación de las micelas, que impiden la absorción de lípidos y la alteración de la síntesis de lipoproteínas (92,93). Además, la fibra dietética soluble mediante su fermentación en el colon da lugar a la producción de ciertos ácidos grasos de cadena corta, entre los cuales el propiónico ha demostrado ser efectivo en la inhibición de la síntesis de colesterol en el hígado (94-96).

Por lo tanto, la ingestión de FD en niveles moderados demuestra ser un medio eficaz para la regulación de los niveles plasmáticos de glucosa, colesterol y triglicéridos, así como un factor preventivo de ciertas enfermedades degenerativas o crónicas (cáncer de colon y recto, arteriosclerosis, diabetes, etc.) muy frecuentes en los países

desarrollados, en los que los cambios en los hábitos alimenticios han supuesto un desplazamiento del consumo de ciertos alimentos ricos en fibra por otros con alto contenido en grasas saturadas y colesterol (97).

### REFERENCIAS

- Eastwood M.A. The physiological effect of dietary fiber: an date. *Annu Rev Nutr* 12:19-35, 1992.
- Eastwood M.A & Morris E.R. Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 55:436-442, 1992.
- Cummings J.H. & Englyst H.N. What is the dietary fiber? *Trends Food Sci Technol*, 99-103. Abr 1991.
- Schneeman B.O. Physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. *Food Technol*: 104-110, Febrero 1986.
- Amado R. Physico-chemical properties related to type dietary fiber. En: *Physicochemical properties of dietary fiber and effect of processing on micronutrients availability*. Amado R, Barry J.L. & Frolich W. (Ed.). Luxemburg p.49-54. 1994.
- British Nutrition Foundation. Complex carbohydrates in foods. En: *Report of the British Foundation's Task Force*, Chapman and Hall, Londres, 1990.
- Krumel K.L. & Sarkar N. Flow properties of gums useful to the food industry. *Food Technol*: 36-44, abril 1975.
- Stauffer K.R. & Anadon S.A. Comparison of the functional properties of two grades of gum tragacanth. *Food Technol* abril: 48-51, 1975.
- Fiszman S.M. Propiedades funcionales de los hidrocoloides polisacáridos. Mecanismos de gelificación. *Rev Esp Cienc Tecnol Aliment* 29:415-429, 1989.
- Ma L. & Barbosa-Cánovas G.V. Review: rheological properties of food gums and food gum mixtures. *Rev Esp Cienc Tecnol Aliment* 33:133-163, 1993.
- Nyman M., Nylander T., Asp N-G. Degradation of water-soluble fiber polysaccharides in carrots after different types of processing. *Food Chem* 47:169-176, 1993.
- Sosulski F.W. & Cadden A.M. Composition and physiological properties of several sources of dietary fiber. *J Food Sci* 47:1472-1477, 1982.
- Chen J., Piva M. & Labuza P. Evaluation of water binding capacity (WBC) of food fiber sources. *J Food Sci* 49:59-63, 1984.
- Roberston J.A. & Eastwood M.A. An examination of factors which may affect the water-holding capacity of dietary fibre. *Br J Nutr* 45:83-88, 1981.
- López G., Ros G., Rincon F, Periago M.J., Martínez M.C. & Ortuño J. Relationship between physical and hydration properties of soluble and insoluble dietary fiber of artichoke. *J Agric Food Chem*, en prensa, 1996.
- Parrot M.E. & Thrall B.E. Functional properties of various fibers: physical properties. *J Food Sci* 43:759-763, 1978.
- Fleury N. & Lahaye M. Chemical and physico-chemical characterisation of fibres from *Laminaria digitata* (Kombu Breton): a physiological approach. *J Sci Food Agric* 55:389-400, 1991.
- Stevenson A., Buchanan C.J. & Eastwood M.A. Does the method of drying a hydrated non-starch polysaccharides affect in vitro analyses to predict physiological function? *J Sci Food Agric* 66:111-116, 1995.
- Svanberg M., Gustafsson K., Suoetti T. & Nyman M. Effects of processing on physico-chemical properties of dietary fibre in vegetables. En: *Physico-chemical properties of dietary fiber and effect of processing on micronutrients availability*. Amado R., Barry J-L & Frolich W (Ed). Luxembourg p.43-45. 1994.
- Cadden A.M. Effects of particle size and breadmaking on physiological responses of meal-fed rats to AACCC wheat bran. *J Food Sci* 51:188-192, 1986.
- Guillon F., Barry J-L. & Thibault J-F. Effect of autoclaving sugar-beet fibre on its physico-chemical properties and its in vitro degradation by human faecal bacteria. *J Sci Food Agric* 60:69-79, 1992.
- Jenkins DJA, Wolever TMS, Kockaday TDR, Leeds A.R., Howarth R., Bacon S., Apling E.C. & Dilawari J. Treatment of diabetes with guar gum: reduction of urinary glucose loss in diabetics. *Lancet* 2:779-780, 1977.
- Anderson J.W. Dietary fiber and nutrition management of diabetes mellitus. *Kellogg's International Symposium on Dietary fiber*. Proceedings. SC Chen (Ed). Center for Academic Publications, Tokyo p.59-68. 1989.
- Schneeman B.O. Soluble vs. insoluble fiber. Different physiological responses. *Food Technol* 81-82, Febrero 1987.
- Blackburn N.A., Redfern J.S., Jarjis H., Holgate A.M., Hanning I., Scarpello JHB, Johnson I.T. & Read N.W. The mechanism of action of guar gum in improving glucose tolerance in man. *Clin Sci* 66:329-336, 1984.
- Eastwood M.A. What does the measurement of dietary fibre mean? *Lancet* 1487, Junio 1986.
- Wood P.J, Braaten J.T., Scott F.W, Riedel & Poste L.M. Comparisons of viscous properties of oat and guar gum and the effects of these and oat bran on glycemic index. *J Agric Food Chem* 38:753-757, 1990.
- Eastwood M.A. Physico-chemical properties of dietary fibre in the foregut. En: *Dietary fibre, mechanisms of action in human physiology and metabolism*. C. Cherbut, J.L. Barry, Larion D., Durand M. (Ed). Hohn Libbey Eurotex (Paris), p.17-28. 1995.
- Ink S.L. & Hurt D. Nutritional implications off gums. *Food Technol*: 77-82. Enero 1987.
- Socorro M., Levy-Benshimol A. & Tovar J. *In vitro* digestibility of cereal and legume (*Phaseolus vulgaris*) starches by bovine, porcine and human pancreatic  $\alpha$ -amylases. *Starch/Stärke* 41:69-71, 1989.
- Tovar J., Björck & Asp N-G. Starch content and  $\alpha$ -amylolysis rate in precooked legume flours. *J Agric Food Chem* 38:1818-1823, 1990.
- Tovar J., Granfeldt Y. & Björck I. Effect of processing on blood glucose and insulin responses to starch in legumes. *J Agric Food Chem* 40:1846-1851, 1992.
- Gaudard-de Weck D., Hischenhuber C. & Kruseman J. Protéins - définition, aspects nutritionnels et méthodes d'évaluation: un article de revue. *Traw Chim Aliment Hyg* 85:317-39, 1994.
- Melito C. & Tovar J. Cell walls limit in vitro protein digestibility in processed legume seed. *Food Chem* 53:305-307, 1995.
- Rainbird A.L., Low A.G. & Zebrowska T. Effect of guar on glucose and water absorption from isolated loops of jejunum in conscious growing pig. *Br J Nutr* 52:489-498, 1984.
- Isaksson G., Lundquist I. & Ihse I. Effect of dietary fiber on pancreatic enzyme activity in vitro. The importance of viscosity, pH, ionic strength, adsorption and time of incubation. *Gastroenterology* 82:918-924, 1982.
- Auffret A., Ralet M-C, Guillon F., Barry J.L. & Thibault J.F. Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres. *Lebensm Wiss Technol* 27:166-172, 1994.
- Jenkins DJA., Wolever TMS. & Jenkins AL. Starchy foods and glycemic index. *Diabetes Care* 11:149-159, 1988.
- Hendrick J.A., Tadokoro T., Emenhiser C., Nienaber U. & Fennema O.R. Various dietary fiber have different effects on lipase-catalyzed hydrolysis of tributyrin invitro. *J Nutr* 122:269-277, 1992.
- Topping D.L. Soluble fiber polysaccharides: effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. *Nutrition Reviews* 49:195-203, 1991.
- Haber G.B., Heaton K.W., Murphy D. & Burroughs L.F. Depletion and disruption of dietary fibre: effect on satiety, plasma glucose and serum insulin. *Lancet* 2:679-682, 1977.
- Periago M.J., Ros G., López G., Martínez M.C. & Rincón F. Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos. *Rev Esp Cienc Tecnol Aliment* 33:229-246, 1993.
- Platt S.R. & Clydesdale F.M. Mineral binding characteristics of lignin, guar gum, cellulose, pectin and neutral detergent fiber under simulated duodenal pH conditions. *J Food Sci* 52:1414-1419, 1987.
- Kohn R. Binding of divalent cations to oligomeric fragments of pectin. *Carbohydr Res* 160:343-353, 1987.
- Torre M., Rodríguez A.R., Saura-Calixto F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 30:1-22, 1991.
- Selvendran R.R. Developments in the chemistry and biochemistry of pectic and hemicellulosic polymers. *J Cell Sci (suplemento)* 2:51-58, 1985.
- Heredia A., Guillén R., Jiménez A. & Fernández-Bolaños J. Review: Plant cell wall structure. *Rev Esp Cienc Tecnol Aliment* 33:113-131, 1993.

48. McDougall G.J., Morrison I.M., Stewart D., Weyers J.D. & Hillman J.R. Plant fibres: botany, chemistry and processing for industrial use. *J Sci Food Agric* 62:1-20, 1993.
49. Frolich W., Schweizer & Asp N-G. Minerals and phytate in the analysis of dietary fiber from cereals. II. *Cereal Chem* 61:357-359, 1984.
50. Champagne E.T., Rao R.M., Liuzzo J.A., Robinson J.W., Gale R.J. & Miller F. The interactions of minerals, proteins, and phytic acid in rice bran. *Cereal Chem* 62:231-238, 1985.
51. Frolich W. & Asp N-G. Minerals and phytate in the analysis of dietary fiber from cereals. III. *Cereal Chem* 62:238-242, 1985.
52. Frolich W. & Myman M. Minerals, phytate and dietary fibre in different fractions of oat-grain. *J Cereal Sci* 7:73-82, 1988.
53. Lee K. & García-López J.S. Iron, zinc, copper and magnesium binding by cooked pinto bean (*Phaseolus vulgaris*) neutral and acid detergent fiber. *J Food Sci* 50:651-653, 1985.
54. Torre M., Rodríguez A.R., Saura-Calixto F. Study of interactions of calcium ions with lignin, cellulose, and pectin. *J Agric Food Chem* 40:1762-1766, 1992.
55. Guillon F., Renard C., Hoppers J., Thibault J-F. & Barry J-L. Characterisation of residual fibres from fermentation of pea and apple fibres by human faecal bacteria. *J Sci Food Agric* 68:521-529, 1995.
56. Gillis ADH & LeBlanc E.L. Dietary fiber issues for the practitioner. *J Can Diet Assoc* 52:40-44, 1991.
57. Laszlo J.A. Mineral binding properties of soy hull. Modelling mineral interactions with an insoluble dietary fiber sources. *J Agric Food Chem* 35:732-741, 1987.
58. Klopfenstein C.F. Nutritional properties of coarse and fine sugar beet fiber and hard red wheat bran II. Effects on calcium and iron utilization. *Cereal Chem* 67:542-544, 1990.
59. Harland B.F. Dietary fibre and mineral bioavailability. *Nutr Res Rev* 2:133-147, 1985.
60. Martínez M.C., Ros G., Periano M.J., López G., Ortuño J. & Rincón F. El papel del ácido fólico en la alimentación humana. *Food Sci Tech Inter* 2:201-209, 1996.
61. Prosky L. & Devries J.W. Controlling dietary fiber in food products. Nueva York, Ed Van Nostrand Reinhold p.37-46, 1992.
62. Walker A.R.P. Dietary fibre and mineral metabolism. *Molec Aspects Med* 9:69-87, 1987.
63. Herman J.R., Hanson C.F. & Kopel B.H. Fiber intake of older adults: relationship to mineral intake. *J Nutr Elderly* 11:21-33, 1992.
64. Belitz H.D. & Grosch W. Química de los alimentos. Zaragoza, Ed. Acirbia, p.341-347, 1984.
65. Heller S.N., River J.M. & Kackler L.R. Dietary fiber: the effect of particle size and pH on its measurement. *J Food Sci* 42:436-439, 1977.
66. Cadee A.M. Comparative effects of particle size reduction on physical structure and water binding properties of several plant fibers. *J Food Sci* 52:1595-1599, 1987.
67. Sowbhagya C.M., Ramesh B.S. & Zakiuddin Ali S. Hydration, swelling and solubility behaviour of rice in relation to other physicochemical properties. *J. Sci Food Agric* 64:1-7, 1994.
68. Aravantis-Zafiridis G., Oreopoulou V., Tzia C. & Thomopoulos D.C. Fibre fraction from orange peel residues after pectin extraction. *Lebensm Wiss Technol* 27:166-172, 1994.
69. Royall D., Wolever T.M.S & Jeejeebhoy K.N. Clinical significance of colonic fermentation. *Am J Gastroenterol* 85:1307-1312, 1990.
70. Sayer A.A. Fermentation of polysaccharides by human colonic anaerobes. En: Dietary fibre, mechanisms of action in human physiology and metabolism. C Cherbut, Barry JL, Lairon D., Durand M. (Ed). John Libbey Eurotext (Paris), p.29-35, 1995.
71. Mortensen P.B. & Nordgaard. The production of short-chain fatty acids in the human colon. En: Dietary fibre, mechanisms of action in human physiology and metabolism. C Cherbut, Barry J.L., Lairon D., Durand M. (Ed), John Libbey Eurotext (Paris) p.37-50, 1995.
72. Cummings J.H. & Macfarlane G.T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J Appl Bacteriol* 70:443-459, 1991.
73. Mongeau R., Yiu S.H. & Brassard R. Chemical and fluorescence microscopic analysis of fiber degradation of oat, hard red spring wheat, and corn bran in rats. *J Agric Food Chem* 39:1966-1971, 1991.
74. Mongeau R. & Brassard R. Dietary fiber and faecal characteristics in rats: effects of level and particle size of bran. *J Food* 50:654-656, 1985.
75. Story J.A., White A. & West L.G. Adsorption of bile acids by components of alfalfa and wheat bran in vitro. *J Food Sci* 47:1276-1279, 1982.
76. Ide T., Horri M., Yamamoto T. & Kawashima K. Contrasting effect of water-soluble and water-insoluble dietary fibers on bile acid conjugation and taurine metabolism in the rat. *Lipids* 25:335-340, 1990.
77. Zhang J.X., Lundin E., Hallmans G., Adlercreutz H., Anderson H., Bosaeus I., Aman P., Stenling R. & Dahlgren S. Effect of rye bran excretion of bile acids, cholesterol, nitrogen, and fat in human subjects with ileostomies. *Am J Clin Nutr* 59:389-394, 1994.
78. Nishiyama C., Nagai T. & Yano T. Adsorption of mutagens in distilled by dietary fiber. *Agric Biol Chem* 55:797-802, 1991.
79. Pandolf T. & Clydesdale M. Dietary fiber binding of bile acid through mineral supplementation. *J Food Sci* 57:1242-1245, 1992.
80. Burkitt D.P. Related disease-related cause? *Lancet* ii:1229-1231, 1969.
81. Potter J.D., Slattery M.L., Bostick R.M. & Gapstur S.M. Colon cancer: a review of the epidemiology. *Epidemiologic Reviews* 15:499-545, 1993.
82. Sjödin P.B., Nyman M.E., Nilsson L., Asp N.G. & Jägerstad M.I. Binding of <sup>14</sup>C-labeled food mutagens (IQ, MeIQ, MeIQx) by dietary fiber in vitro. *J Food Sci* 50:1680-1684, 1985.
83. Vikse R., Bålsurud Mjelva B. & Klungsoyr L. Reversible binding of the cooked food mutagen MeIQx to lignin-enriched preparations from wheat bran. *Fd Chem Toxic* 30:239-246, 1992.
84. Kies C. & Fox M. Dietary hemicellulose interactions influencing serum lipid patterns and protein nutritional status of adult men. *J Food Sci* 42:440-443, 1977.
85. Newman R.T., Lewis S.E., Newman C.W., Boik R.J. & Ramage R.T. Hypocholesterolemic effect of barley food on healthy man. *Nutr Rep Int* 39:749-757, 1989.
86. Shinnick F.L., Mathews R. & Ink S. Serum cholesterol reduction by oats and other fiber sources. *Cereal Foods World* 36:815-821, 1991.
87. Anderson J.W., Garrity T.F., Wood C.L. Whitis S.E., Smith B.M. & Oeltgen P.R. Prospective, randomized, controlled comparison of the effects of low-fat plus high-fiber diets on serum lipid concentrations. *Am J Clin Nutr* 56:887-894, 1992.
88. Sumano M., Ikeda I. & Imaizumi K. Dietary fiber and lipid absorption. Kellogg's International Symposium on Dietary fiber. Proceedings. SC Chen (Ed). Centre for Academic Publications, Tokyo p.30-48, 1989.
89. Hoagland P.D. Binding of dietary anions to vegetable fiber. *J Agric Food Chem* 37:1343-1347, 1989.
90. Zhang J-X, Hallmans G., Adlercreutz H., Aman P., Westerlund E., Lundin E. & Stenling R. Effects of oat and rye fractions on biliary and faecal bile acid profiles in Syrian golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Br J Nutr* 70:525-536, 1993.
91. Zhang J.X., Lundin E., Reuterving C.O. Hallmans G., Stenling R., Westerlund E. & Aman P. Effects of rye bran, oat bran and soya-bean fibre on bile composition, gallstone formation, gall-bladder morphology and serum cholesterol in Syrian golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Br J Nutr* 71:861-870, 1994.
92. Glore S.R., Van Treeck D., Knehans A.W. & Guild M. Soluble fiber and serum lipids: a literature review. *J Am Diet Assoc* 94:425-436, 1994.
93. Wolever T.M.S. Dietary fibre and lipid metabolism in human. En: Dietary fibre, mechanisms of action in human physiology and metabolism. Cherbut C., Barry J.L., Lairon D., Durand M. (Ed). John Libbey Eurotext (Paris), p.69-81, 1995.
94. Cummings J.H. & Englyst H.N. Fermentation in human large intestine and the available substrates. *Am J Clin Nutr* 45:1243-1255, 1987.
95. Venter C.S., Vorster H.H. & Cummings H. Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in man. *Am J Gastroenterol* 85:549-553, 1990.
96. T. Yodisco T., Rao A.V., Bosello O. & Jenkins D.J.A. Propionate lowers blood glucose and alters lipid metabolism in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 54:860-865, 1991.
97. Wolever T.M.S, Jenkins A.L., Spadafora P.J. & Jenkins D.J.A. Grains, legumes, fruits, and vegetables: lente carbohydrates sources in the Mediterranean Diet. En: The mediterranean diets in health disease. GA Spiller (Ed). Van Nostrand Reinhold, Nueva York p.160-181, 1991.

Recibido: 28-01-1997

Aceptado: 21-05-1997

## Revisión: Extracción microbiológica y enzimática de pectina

J. C. Contreras-Esquivel<sup>1,2</sup>, R.A. Hours<sup>2</sup>, C. N. Aguilar<sup>1</sup>, M. L. Reyes-Vega<sup>1</sup> y J. Romero<sup>3</sup>

**RESUMEN.** A nivel mundial se producen grandes cantidades de residuos agroindustriales ricos en polisacáridos tales como las sustancias pécticas. Algunos de estos desechos se emplean en la producción de pectina. Actualmente, la pectina se extrae industrialmente por métodos físicoquímicos, pero recientemente se han desarrollado métodos biológicos alternativos. En la presente revisión se describen las principales características de las sustancias pécticas y de las enzimas pécticas. Se comenta el método tradicional de extracción por vía química de pectina para luego discutir y comparar detalladamente los métodos de extracción enzimático y microbiológico de pectina.

**SUMMARY.** Microbial and enzymatic extraction of pectin: A review. Great amounts of agroindustrial wastes rich in polysaccharides, such as pectic substances, are produced worldwide. Some of these wastes are used for the production of pectin. Currently, pectin is extracted at industrial scale by physicochemical means, but lately new biotechnological alternatives have been developed. In this review, the principal characteristics of pectic substances and pectic enzymes are described. The traditional physicochemical method for the pectin extraction is described and the new biotechnological (microbial and enzymatic) methods for pectin extraction are discussed and commented as well.

### INTRODUCCION

Las sustancias pécticas son macromoléculas de alto peso molecular presentes en la laminilla media y en la pared celular primaria de las plantas superiores, en donde actúan como material cementante intercelular. De esta manera, las sustancias pécticas proveen rigidez y cohesión a los tejidos, ayudan en la retención de forma e imparten la textura característica de los vegetales (1).

Estas sustancias se usan industrialmente para la obtención de pectina mediante la aplicación de procesos físicoquímicos. Actualmente, el proceso de extracción consiste en un tratamiento térmico en medio ácido de ciertos subproductos sólidos generados por la industria juguera, especialmente de frutos cítricos (cáscaras) y de manzana (orujo o bagazo). Las pectinas se usan ampliamente en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética como viscosantes, espesantes, gelificantes y estabilizantes de emulsiones (2).

Las siguientes consideraciones deben tomarse en cuenta para la manufactura de pectina: (I) El proceso es relativamente complicado y normalmente consiste de numerosas operaciones. (II) La materia prima es de composición variable. (III) El capital de inversión requerido es considerable (3). Desde el punto de vista comercial, el mayor compromiso es obtener una pectina de calidad óptima y uniforme con un alto rendimiento (2,4).

La producción de pectina a escala industrial se realiza, por lo general, en siete etapas que consisten en: (I) Preparación de la materia prima; (II) Separación de algunos compuestos (azúcares, pigmentos, proteínas); (III) Conversión de la protopectina insoluble contenida en la materia prima en pectina soluble; (IV) Separación de los

residuos insolubles de la solución conteniendo pectina; (V) Precipitación de la pectina extraída; (VI) Purificación y secado de la pectina; (VII) Envasado, almacenamiento y comercialización. Existen diversas revisiones enfocadas al proceso de fabricación de pectina por vía química en las cuales se discuten en detalle los aspectos teóricos, prácticos, comerciales y tecnológicos del proceso (2-32).

Una operación clave en la obtención de pectina es la extracción (33) la cual es un proceso físicoquímico complejo en el que tiene lugar una hidrólisis restringida de ciertas uniones químicas de la molécula de protopectina y la subsecuente extracción de la pectina solubilizada. Estos procesos están condicionados por diversos factores tales como el tipo de material vegetal, el tipo y concentración del ácido utilizado, el pH, el diseño y modo de operación del reactor, el tiempo y la temperatura del proceso (34). Algunas condiciones reportadas para la extracción de pectina por vía química se presentan en la Tabla 1.

Considerando el rendimiento y la calidad del producto, el proceso físicoquímico es económicamente aceptable. Prueba de ello es que las empresas productoras de pectina lo utilizan desde hace varias décadas. Sin embargo, este método posee algunas desventajas tales como: la pectina solubilizada se despolimeriza significativamente durante el proceso (35), el material vegetal se macera durante la extracción con lo cual se dificulta su posterior filtración, los ácidos utilizados ocasionan corrosión del equipamiento (5) y los residuos generan altos índices de contaminación en virtud de su acidez y alto contenido en materia orgánica. Por estas razones, se han iniciado investigaciones con el propósito de desarrollar procesos alternativos para la extracción de la pectina por medios biotecnológicos tales como los métodos microbiológico y enzimático.

En esta revisión se incluyen primeramente la nomenclatura de las sustancias pécticas, las estructuras químicas de la protopectina y la pectina, y la clasificación de las enzimas pécticas con la finalidad de comprender mejor las interacciones enzima-sustrato. Luego, se describe y analiza detalladamente la información disponible relativa a los nuevos métodos de extracción de pectina, tanto por vía microbiológica como enzimática.

1. Departamento de Investigación en Alimentos (DIA). Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila.
2. Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de la Plata.
3. Departamento de Biopolímeros. Centro de Investigación en Química Aplicada. Coahuila, México.

TABLA 1  
Características fisicoquímicas y condiciones de la extracción de pectinas cítricas

	Método de extracción				
	Producto comercial <sup>87</sup>	Fisicoquímico Producto comercial <sup>32</sup>	Muestra de laboratorio <sup>88</sup>	Microbiológico PPasa tipo A <sup>32</sup>	Enzimático PPasa tipo B <sup>89</sup>
<b>Características fisicoquímicas</b>					
Grupos metoxilo (%)	10.0	9.2	8.6	8.6	9.6
Grupos carboxilo esterificados (%)	65.4	63.1	63.2	73.8	79.4
Acido anhidrogálgacturónico (%)	94.5	85.0	77.4	68.2	74.1
Azúcares neutros (%)	N.R.	5.7	N.R.	23.2	N.R.
Peso molecular (kDa)	137	102	92	105	141
<b>Viscosidad relativa de una solución al 0.1 %</b>					
	N.R.	1.53	N.R.	1.46	1.80
<b>pH de solución al 0.5 %</b>					
	3.78	3.96	N.R.	3.24	N.R.
<b>Condiciones de extracción</b>					
Tiempo de extracción (h)	0.30-5.0 <sup>22</sup>		0.30	20-25	20
Temperatura de extracción ( °C)	60-95 <sup>22</sup>		90	30	50
pH de extracción	1.5-3.0 <sup>22</sup>		N.R.	N.R.	4.1
g de pectina/kg de cáscara cítrica seca	N.R.		172	25	109

N.R.: No reportado

Los superíndices indican el número de la referencia de la cual se ha tomado el dato

**Nomenclatura de la sustancias pécticas:** Las primeras referencias sobre sustancias pécticas son confusas porque se utilizaron muchos términos diferentes para designar los materiales pécticos extraídos a partir de fuentes vegetales (18).

En 1944, la American Chemical Society (36) adoptó una «Nomenclatura Revisada de las Sustancias Pécticas», que muchos científicos aun usan como terminología y es la siguiente:

Sustancias pécticas son un grupo complejo de coloides derivados de carbohidratos los cuales se encuentran presentes en vegetales o se preparan a partir de ellos y que contienen gran proporción de unidades de ácido anhidrogálgacturónico. Los grupos carboxilos de los ácidos poligálgacturónicos pueden estar parcialmente esterificados con grupos metil éster y neutralizados parcial o completamente con una o más bases. El término protopectina se aplica a aquellas sustancias insolubles en agua, las cuales se encuentran en las plantas y, bajo hidrólisis restringida, producen ácidos pectínicos. El término, ácido pectínico es usado para definir a los ácidos poligálgacturónicos coloidales que contienen una proporción considerable de grupos metil éster. El ácido pectínico, bajo condiciones adecuadas, es capaz de formar geles con azúcar y ácido; si el contenido de metoxilo es bajo, el gel podría formarse con ciertos iones metílicos. En forma de sal se llaman pectinatos. El término general de pectina(s) designa ácidos pectínicos solubles en agua, con diferente contenido de grupos metil éster y grado de neutralización, los cuales son capaces de formar geles con ácido y azúcar bajo condiciones adecuadas. Se denomina ácido péctico a las sustancias pécticas compuestas principalmente de ácidos poligálgacturónicos coloidales y esencialmente libres de grupos metil éster. En forma de sal se llaman pectatos. Es interesante notar que esta nomenclatura no hace mención de otros constituyentes estructurales de las sustancias pécticas tales como azúcares neutros o ésteres de acetilo (37).

**Estructura de la protopectina:** La existencia de la protopectina se reporta desde hace 150 años. Sin embargo, su estructura química

todavía esta parcialmente dilucidada, en contraste con la estructura de la pectina, debido a las dificultades experimentales inherentes a su determinación. Joslyn (38) realizó una excelente revisión sobre la química de la protopectina hasta 1962, en donde discute las razones de su insolubilidad.

Se sabe que la protopectina es un material insoluble que está enlazado fuertemente a otros componentes constituyentes de las paredes celulares vegetales (39), jugando probablemente un papel importante en la interconexión entre ellos (40). Keegstra et al. (41) propusieron un modelo de inserción en donde se menciona que el ramnogálgacturonano se une a la red de cadenas hemicelulosa (xiloglucano) a través de ramificaciones laterales formadas por restos de azúcares neutros (Figura 1a).

Recientemente se han realizado estudios para determinar la estructura de la protopectina presente en las paredes celulares de la manzana. Para ello se emplearon técnicas químicas (42) y enzimáticas (40, 43-47) con las cuales se determinó la forma de conexión del material péctico con los otros polímeros de la pared celular. Dentro de los tratamientos químicos (ácidos y alcalinos), los álcalis diluidos son los más eficientes para solubilizar pectina de relativamente alto peso molecular.

Por otro lado, los tratamientos enzimáticos utilizaron glicosidasas solas o en combinación que incluyeron además el uso de enzimas pécticas. Las enzimas pécticas son necesarias para llevar a cabo una extracción significativa de urónidos, mientras que para liberar la mayoría de azúcares neutros se utilizaron enzimas no pécticas, tales como exo- y endo-b-(1,4)-glucanasas, endo-b-(1,4)-xilanas, endo-(1,4)-b-galactanasas, arabinofuranosidasas y endo-a-(1,4)-arabinasas, todas generalmente de origen fúngico.

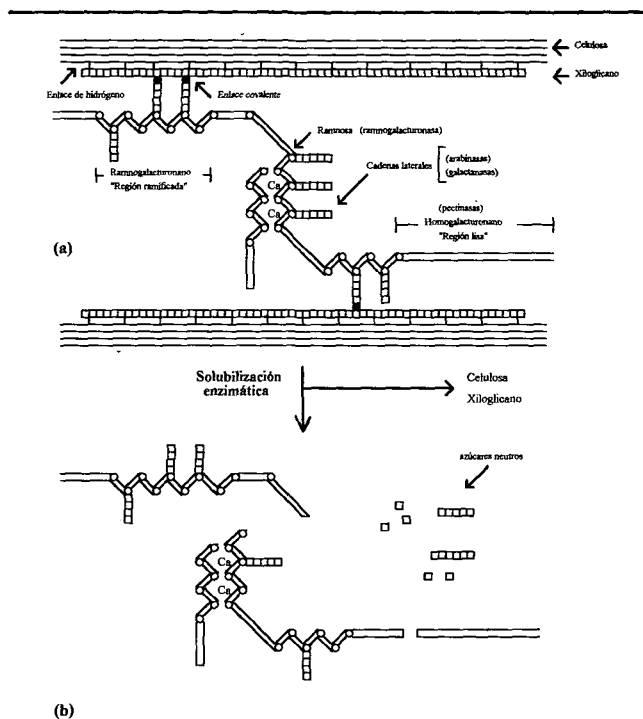
Renard et al. (40) observaron que en la extracción de pectina a partir de protopectina existe un gran sinergismo entre diversas combinaciones de enzimas pécticas y endoglucanasa. La endoglucanasa degrada el fucogálgactoxiloglucano de las paredes celulares de manzana; lo que permite suponer que el

ramnogalacturonano y el xiloglicano están unidos químicamente entre sí. Por eso se ha propuesto que los xiloglicanos juegan un papel importante en la conexión entre el material péctico insoluble y otros polímeros de la pared celular. Este nuevo modelo no concuerda con el propuesto por Keegstra et al. (41) donde se involucran a las cadenas laterales como conexiones directas. Esta diversidad de resultados se puede adjudicar al hecho de que las características estructurales de la pectina (48) y la protopectina dependen en gran medida del origen y del grado de madurez de los tejidos vegetales estudiados.

En la Figura 1a se muestra un modelo de inserción de las sustancias pécticas por medio de las cadenas laterales, el cual representa una posible estructura de protopectina (49-50). Aun se requieren estudios complementarios que brinden más información sobre la estructura de la protopectina de diversos materiales vegetales.

FIGURA 1

(a) Modelo de protopectina y los sitios de acción de las enzimas pécticas y no pécticas (marcadas entre paréntesis). (b) Pectina solubilizada enzimáticamente.



**Estructura de la pectina:** La molécula de pectina se divide estructuralmente en dos partes: la cadena principal y las cadenas laterales (35). La cadena principal está formada de unidades lineales de ácido D-galacturónico unidas mediante enlaces  $\alpha$ -(1,4) interrumpidas por enlaces  $\alpha$ -(1,2) de unidades de L-ramnosa. De tal forma, la cadena principal está formada por dos regiones: la región «lisa» u homogalacturonano integrada por unidades lineales de ácido D-galacturónico y la región «ramificada» o ramnogalacturonano que está interrumpida por unidades de L-ramnosa. Las cadenas laterales están formadas por restos de azúcares neutros que se encuentran unidos covalentemente al C4 de las unidades de ramnosa dentro de la región del ramnogalacturonano (48).

La distribución de las inserciones de L-ramnosa a lo largo del ramnogalacturonano no se ha elucidado completamente (22). Powell et al. (52) sugieren la presencia de las cadenas laterales y las

inserciones de L-ramnosa de manera uniforme, mientras que De Vries et al. (48) indican que la incidencia es de forma aleatoria. Por otra parte, se sabe que las cadenas laterales de la pectina consisten principalmente de unidades de D-galactosa, L-arabinosa, D-xilosa, y con menos frecuencia de D-manosa, L-fucosa y D-apiosa, todas ellas unidas a la cadena principal a través del C4 de los residuos de ramnosa (35). En la Figura 1b se muestra un modelo de la estructura química de la pectina.

Dentro de la cadena principal se encuentran algunos substituyentes no glucídicos sobre los restos de ácido galacturónico, tales como metanol, ácido acético, ácidos fenólicos, y en algunas muestras comerciales grupos amido (52). Los grupos carboxilos del ácido poligalacturónico pueden estar esterificados con metanol y algunos grupos hidroxilo en el carbono C2 y C3 de las unidades del ácido galacturónico pueden estar esterificados con ácido acético (37).

**Clasificación de las enzimas pécticas:** Las enzimas pécticas se clasifican de acuerdo al mecanismo de ataque sobre las sustancias pécticas en dos grupos: desesterificantes y despolimerizantes. Las enzimas despolimerizantes se clasifican de acuerdo al esquema descrito por Sakai et al. (32) usando el siguiente criterio: si la ruptura de enlaces glicosídicos es hidrolítica o transeliminativa, si el mecanismo de la reacción es de tipo exo o endo y si muestran mayor actividad sobre ácido péctico o pectina como sustratos. Las enzimas desesterificantes, a su vez, se clasifican de acuerdo al tipo de éster (metil o acetil) que hidrolizan.

La pectin metilesterasa o pectinesterasa (PE, pectin pectilhidrolasa, EC 3.1.1.11) se encuentra en la mayoría de las plantas superiores y es producida también por hongos filamentosos, bacterias y algunas levaduras. Hidroliza los grupos metil éster convirtiendo las pectinas de alto metoxilo (PAM) en pectinas de bajo metoxilo (PBM).

La pectin acetilesterasa (PAE) y la ramnogalacturonano acetilesterasa (RGAE) hidrolizan los grupos acetil éster de los restos de ácido galacturónico presentes en la región «lisa» del homogalacturonano y de la región «ramificada» del ramnogalacturonano de las sustancias pécticas, respectivamente (52).

Las poligalacturonasas (PG, poli- $\alpha$ -1,4-D-galacturonoido glicanohidrolasa, EC 3.2.1.15 y EC 3.2.1.67) son producidas por hongos filamentosos, levaduras, ciertas bacterias y están presentes en plantas superiores. Actúan sobre PBM o ácido péctico preferentemente, debido a que pueden hidrolizar enlaces glicosídicos adyacentes a grupos carboxilos libres. Las poligalacturonasas pueden clasificarse en aquellas que degradan sustratos por ataque al azar (endo-PG) y en aquellas que actúan sobre las terminaciones no reducidas del sustrato removiendo ácido mono o digalacturónico (exo-PG).

Las pectatoliasas (PAL, poli- $\alpha$ -1,4-D-galacturonoidoliasa) también se presentan como endo (EC 4.2.2.2) y exo (EC 4.2.2.9) enzimas, atacando el enlace glicosídico adyacente a los grupos carboxilo libres por un mecanismo de transeliminación. De esta forma, los sustratos de mayor preferencia para las endo-pectatoliasas son las PBM más que el ácido péctico.

Las pectinliasas (PIL, poli- $\alpha$ -1,4-metoxigalacturonoido liasa; EC 4.2.2.10) son producidas solamente por mohos, y atacan el enlace glicosídico entre residuos del galacturónido metoxilado por una reacción de transeliminación, por lo que las PAM resultan ser los sustratos mejor degradados (52).

Las ramnogalacturonasas (RGAs) son enzimas pécticas que

han sido descritas recientemente (53). Actúan junto con una RGAE únicamente sobre regiones de la pectina altamente ramificada, liberando oligosacáridos que consisten de secuencias alternadas de residuos L-ramnosilos con uniones  $\alpha$ -(1,2) y D-galactosilos con uniones  $\alpha$ -(1,4), con grupos galactosilos con uniones  $\alpha$ -(1,4) sobre algunas de las unidades ramnosilos. La terminación no reductora siempre es una unidad de ramnosa.

Las enzimas liberadoras o solubilizadoras de pectina, también llamadas protopectinasas (PPasas) son capaces de catalizar la solubilización de protopectina liberando pectina soluble altamente polimerizada (32). En la sección sobre extracción enzimática de pectina se describen detalladamente este tipo de enzimas.

En la Figura 1a también se muestran los sitios de acción de las enzimas pécticas sobre el modelo de la protopectina.

**Procesos de extracción de pectina:** Según Kertesz (7) el proceso de extracción de pectina por vía química consiste principalmente de dos fases. La protopectina (material insoluble en agua encontrado en tejidos vegetales) es el precursor de la pectina (material soluble en agua). Esta conversión se realiza por despolimerización restringida de la protopectina constituyendo este proceso la primera fase de la extracción. La segunda fase consiste en la difusión de la pectina solubilizada desde la matriz del tejido vegetal hacia la solución extractante. Si el proceso de extracción se realiza por métodos físicoquímicos, una fracción de la pectina solubilizada se degrada simultáneamente al proceso de extracción en componentes de menor peso molecular cuya presencia hace que tanto el rendimiento como las propiedades del producto obtenido sean negativamente afectadas (33). Se debe recordar que las propiedades funcionales de las pectinas dependen en gran medida del grado de polimerización (o peso molecular). Consecuentemente, la extracción química disminuye en gran medida las propiedades funcionales de la pectina obtenida (35).

Se han propuesto otros modelos que tratan de explicar y predecir el fenómeno de la solubilización de pectina, los cuales consideran los aspectos relevantes que determinan la eficiencia en el proceso de extracción (33, 54-56). Para considerar este proceso es necesario evaluar experimentalmente diversos factores (temperatura, tiempo de reacción, acidez del medio extractante, características morfológicas y estructurales del material vegetal a extraer, etc.) que afectan el rendimiento y calidad de la pectina obtenida.

El proceso de extracción de pectina también puede efectuarse con solubilizantes de origen biológico tales como enzimas (PPasas), ya sea en procesos microbiológicos (fermentación) o directamente mediante el uso de enzimas solubles de origen microbiano. A continuación se analizan y discuten ampliamente estos dos tipos de procesos biotecnológicos.

**Extracción de pectina por métodos microbiológicos:** La extracción microbiológica de pectina se refiere principalmente a la producción de este heteropolisacárido mediante el cultivo de microorganismos productores de PPasas en medios conteniendo la materia prima. En las referencias acerca de este bioproceso (57-58) se menciona la utilización de levaduras (*Trichosporon penicillatum*, *Kluyveromyces marxianus* y *Endomycopsis capsularis*) que producen PPasas (en el caso de *T. penicillatum* se trata de una endo-PG denominada PPasa-SE) por fermentación en medio líquido, las cuales son capaces de liberar pectina altamente esterificada y aceptable peso molecular (Tabla 1) bajo hidrólisis restringida de la protopectina (Figura 1a). Sin embargo, se produce un aumento en el consumo de energía del biorreactor para poder mantener condiciones

de agitación y aireación adecuadas porque la viscosidad del medio de cultivo se incrementa a medida que se va extrayendo la pectina. Esto podría limitar el empleo de este proceso a nivel industrial a pesar de que los rendimientos en escala de laboratorio sean aceptables. Los microorganismos mencionados no producen otras enzimas pécticas que puedan modificar el contenido de sustituyentes no glucídicos (tales como PE, PAE) o el peso molecular de la pectina extraída (para el caso de PIL, PAL).

Sakai y Okushima (57) fueron los primeros en reportar la solubilización de la pectina a partir de la protopectina presente en cáscaras de frutos cítricos por un método microbiano que consiste en la extracción enzimática de pectina sin la simultánea maceración de las cáscaras. Este proceso representó la primera alternativa al método tradicional para la extracción de la pectina. Dichos autores utilizaron *Trichosporon penicillatum* SNO-3, el cual produce PPasa del tipo A1 con actividad endo-PG (Tabla 2). Este microorganismo crece sobre cáscaras cítricas como única fuente de carbono y energía. La relación apropiada de cáscara:agua es de 1:2 a 1:3. A 30 °C, la pectina comienza a aparecer después de 5 horas de cultivo y la cantidad extraída se incrementa proporcionalmente al tiempo de fermentación, necesitando de 20 a 25 horas para obtener la máxima cantidad de pectina. Las propiedades físicas y químicas de las pectinas producidas por este método son muy semejantes a las pectinas producidas comercialmente (por métodos físicoquímicos), excepto que esta pectina contiene una mayor cantidad de azúcares neutros (59) (Tabla 1). Esto es debido a que el microorganismo no produce enzimas específicas para hidrolizar a las cadenas laterales de la pectina. Sakai et al. (32, 57-59) describen detalladamente la producción de pectina por vía microbiológica.

TABLA 2  
Microorganismos productores de protopectinasas (PPasas) con sus respectivas actividades enzimáticas

Microorganismo	Nombre de la enzima	Tipo de PPasa	Tipo de Actividad	Referencia
<b>Bacterias</b>				
<i>Bacillus subtilis</i> IFO 12113	PPasa-B	A	endo-PAL	(90,97)
<i>Bacillus subtilis</i> IFO 3134	PPasa-N	A	endo-PAL	(85)
<i>Bacillus subtilis</i> IFO 3134	PPasa-R	A	endo-PIL	(85)
<i>Bacillus subtilis</i> IFO 3134	PPasa-C	B	endo-Ara	(84,92)
<b>Levaduras</b>				
<i>Galactomyces reessii</i> L.	PPasa-L	A	endo-PG	(83)
<i>Geotrichum</i> sp.	PPasa*	A	endo-PG	(60)
<i>Kluyveromyces fragilis</i> IFO 0288	PPasa-F	A	endo-PG	(91)
<i>Kluyveromyces wickerhamii</i> IFO 1675	PPasa-W	A	endo-PG	(93,94)
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	PPasa*	A	endo-PG	(98)
<i>Trichosporon penicillatum</i> SN-3	PPasa-SE	A	endo-PG	(82)
<i>Trametes sanginea</i> IFO 6490	PPasa-T	B	RGasa	(89)
<b>Hongos filamentosos</b>				
<i>Aspergillus awamori</i> IFO 4033	PPasa-AW	N.C.	N.C.	(95,96)

PAL: pectatoliasa PIL: pectin liasa. Ara: arabinasa. PG: poligalacturonasa. RGasa: ramnogalacturonasa. N.C.: No conocida. IFO: Institute for Fermentation Osaka.

\* Sin nombre específico.

Este método tiene como ventajas la disminución del grado de despolimerización, el fácil control de las condiciones (pH y temperatura), y un rendimiento aceptable, como se aprecia en la Tabla 1. Las cepas usadas para este proceso fueron *Trichosporon penicillatum*

(57), *Geotrichum* spp. (60-61) y *Kluyveromyces fragilis* (62), *K. marxianus* y *Endomycopsis capsularis* (62) todas productoras de actividad de endo-PG con propiedades solubilizantes de pectina (PPasas); y como materia prima se emplearon cáscaras de mandarina (57), de naranja (62-63) y pulpa de remolacha azucarera (60-61, 64).

Recientemente, Khodzhaeva et al. (65) implementaron un proceso de fermentación en medio sólido para la manufactura de pectina a partir de residuos provenientes de la manufactura de sacarosa de remolacha azucarera. Estos autores emplearon diferentes hongos filamentosos tales como, *Flamulina velutipes*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Aspergillus ustus*, y *Penicillium notatum*.

**Extracción de pectina por método enzimático:** Actualmente existen algunos grupos de investigación que están estudiando el proceso de extracción de pectina por vía enzimática. Estos estudios se fundamentan en un mejor conocimiento, aunque todavía no completo, de la estructura química de la protopectina y la forma en la cual se unen químicamente los diferentes polímeros presentes tanto en la pared celular primaria como en la laminilla media del tejido vegetal. Como se muestra en la Figura 1a, la cadena principal y las cadenas laterales están unidas a otros materiales vegetales, tales como xilosa y celulosa, la cual forman en conjunto la protopectina.

La extracción enzimática de pectina se utiliza como una herramienta analítica en estudios fitoquímicos para determinar la estructura química fina de las sustancias pécticas (40, 43-47, 66-76), pero también se puede utilizar en la extracción industrial de pectina. Para la extracción de la pectina con fines comerciales se utilizan enzimas de origen microbiano, ya sea enzimas purificadas (77) o extractos crudos (78-79) provenientes de levaduras, bacterias y hongos filamentosos. Cuando se utilizan enzimas de origen fúngico es necesario llevar a cabo su purificación (al menos parcial) para evitar el efecto que la presencia de enzimas contaminantes (particularmente otras despolimerasas) pueda ocasionar al polímero. Al utilizar extractos de enzimas provenientes de bacterias o levaduras, no siempre es necesario llevar a cabo una purificación, ya que algunos de estos microorganismos no producen enzimas que puedan afectar la estructura de la pectina extraída.

Por procesos enzimáticos la pectina se libera por polisacaridasas, tales como las enzimas pécticas (endo-PG, endo-PAL y endo-PIL) y no pécticas (arabinasas, arabinofuranosidasas, galactanasas, xilanasas, glucanasas) que son capaces de actuar sobre sus respectivos sitios específicos de acción. Algunas de estas enzimas reaccionan sobre las regiones «lisas» de la protopectina y otras actúan sobre las regiones «ramificadas», mientras que hay enzimas que trabajan sobre la estructura que conecta al material péctico (Figura 1a). Estas pueden utilizarse para extraer pectina de manera individual o en combinaciones.

La extracción de pectina por vía enzimática depende de las interacciones enzima(s)-sustrato, la cual puede estar influenciada fuertemente por la microestructura de la materia prima. La protopectina se considera como un material de baja densidad (no muy compacto) y por lo tanto puede ser más penetrable por las enzimas (80), en contraste con la celulosa y la hemicelulosa. Por lo tanto, las limitaciones en este bioproceso son mínimas ya que las enzimas específicas o sistemas enzimáticos tienen un fácil acceso sobre el material vegetal. Las consideraciones principales que deben tomarse en cuenta para realizar una extracción enzimática de pectina es la estructura química del sustrato y la capacidad de la enzima o enzimas para liberar eficientemente a la pectina sin despolimerización.

Con el fin de determinar la estructura química de las sustancias pécticas, en Europa se han empleado las enzimas arabinasa y galactanasa para extraer pectinas a nivel laboratorio, usando diferentes materias primas tales como cáscaras de naranja, bagazo de manzana y pulpa de remolacha azucarera (67). Las dos enzimas mencionadas, en adición con la PIL, se han empleado para extraer pectina de paredes celulares de manzana (43). En otro estudio enzimático, Renard et al. (47) encontraron que la RGasa es una enzima capaz de liberar material rico en ácidos urónicos de alto peso molecular, en contraste con lo obtenido con otras enzimas pécticas (44). En los estudios mencionados anteriormente se han utilizado enzimas solas o combinadas para efectuar el proceso de extracción. En la Tabla 3 se muestran algunos microorganismos productores de enzimas usadas por investigadores europeos para la extracción enzimática de pectina ya sea con fines analíticos o industriales.

TABLA 3  
Microorganismos productores de enzimas utilizadas en la extracción de pectina por vía enzimática

Microorganismos	Preparado	Aplicación	Fuente de protopectina	Tipo de actividad	Referencia
<b>Bacterias</b>					
<i>Bacillus polymixa</i>	Extracto	Industrial	• Remolacha azucarera • Calabaza	N.R.	(78)
<b>Levaduras</b>					
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	Extracto	Industrial	• Cáscaras de naranja y limón	endo-PG	(79)
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	Purificado	Analítica	• Paredes celulares de manzana	endo-PG	(44)
<b>Hongos filamentosos</b>					
<i>Aspergillus aculeatus</i>	«	«	«	RG-asa	(47)
<i>Aspergillus niger</i>	«	«	«	Arafasa	(44)
<i>Aspergillus niger</i>	«	«	«	endo-Ara	(44)
<i>Aspergillus niger</i>	«	«	«	endo-Gal	(44)
<i>Aspergillus niger</i>	«	«	«	endo-PL	(44)
<i>Aspergillus awamori</i>	«	«	«	endo-XL	(44)
<i>Trichoderma viride</i>	«	«	«	endo-Glu	(44)

NR: no reportada. PG: poligalacturonasa. RGasa: ramnoglacturonasa. Arafasa: arabinofuranosidasa. Ara: arabinasa. Gal: galactanasa. PL: pectinlasi. XL: xilanasas. Glu: glucanasas.

Sakai et al. en Japón han utilizado PPasas para extraer pectina a nivel laboratorio e industrial. El término PPasa se aplica a las enzimas que hidrolizan o disuelven la protopectina con liberación de pectina hidrosoluble, ocasionando la separación de las células vegetales del tejido utilizado como materia prima. El primer estudio sobre enzimas que liberan pectina fue el de Sakai y Okushima (81), quienes aislaron un microorganismo que produce una enzima que solubiliza protopectina, la cual libera pectina soluble altamente polimerizada. Se han encontrado varias enzimas con actividad PPasa, las cuales han sido aisladas y clasificadas en dos tipos, dependiendo de su mecanismo de acción (82-84). Las PPasas del tipo A reaccionan sobre una región específica del homogalacturonano (región «lisa») de la protopectina liberando pectina de alto peso molecular por despolimerización restringida. Las PPasas del tipo B actúan sobre las cadenas de azúcares neutros que conectan la región del ramnogalacturonano (región «ramificada») con los constituyentes de la pared celular, liberándose por lo tanto un tipo de pectina de mayor peso molecular que en el caso de usar PPasas del tipo A (Figura 1a). La estructura postulada de la protopectina, así como los sitios y mecanismos de acción de las PPasas de los tipos A y B pueden encontrarse en Sakai (59) y Sakai et al. (32).

Las PPasas del tipo A pueden ser subclasificadas en PPasas tipo A1, con actividad hidrolizante del ácido poligalacturónico (endo-PG) y la PPasas tipo A2 que tienen actividad de transeliminadas del ácido poligalacturónico esterificado o no (endo-PIL o endo-PAL). A su vez, las PPasas tipo B presentan actividades glicosidasas, y dentro de ellas pueden distinguirse las que poseen actividad de RGasa (65) y de arabinasa (84). Otras enzimas solubilizadoras de pectina, que bien pueden ser consideradas PPasas, con actividades de galactanasas, glucanasas, arabinofuranosidasas y xilanasas podrían ser incluidas en este subgrupo a pesar de que los autores que han trabajado con ellas no lo han hecho. En la Tabla 2 se muestran algunos microorganismos productores de PPasas que se emplean para extraer pectina de diversos materiales vegetales.

Si se comparan las actividades enzimáticas de los diversos microorganismos que se presentan en la Tabla 2, se puede observar que las enzimas llamadas tentativamente PPasas poseen actividad catalítica muy semejante a la del grupo de enzimas presentadas en la Tabla 3. Por ejemplo, Sakai et al. (85) mencionan que la RGasa de *Aspergillus aculeatus* (53) muestra semejanza en su mecanismo de acción con la PPasa-T del tipo B de *Trametes sanguinea* IFO 6490 con actividad RGasa. La PPasa-T tiene un peso molecular de 55 kDa y un punto isoeléctrico a pH 8.1, estable a valores de pH entre 3 y 6 por encima de los 50 °C. El pH y la temperatura óptimas de la enzima fueron de 4,0 y entre 40-50 °C, respectivamente. Mientras que la RGasa tiene un peso molecular de 51 kDa, un pH óptimo entre 3 y 4 y una temperatura óptima de 40-50 °C. La RGasa utilizada por Renard et al. (47) aislada por Schols et al. (53) cataliza la liberación de pectina de alto peso molecular a partir de paredes celulares de manzana. Para una mejor comparación de las enzimas se requiere de más información sobre el punto isoeléctrico de la RGasa y otras características (composición de aminoácidos, inhibidores, etc.) de ambas enzimas.

Desde el punto de vista de rendimiento y calidad de la pectina extraída por vía enzimática existen diferencias en cuanto al tipo de enzima que se utiliza. De los datos disponibles está claro que las enzimas con actividad RGasa tienen un alto potencial en la extracción industrial de pectina a partir de materiales vegetales (subproductos) ricos en protopectina, ya que se obtienen pectinas de alto peso

molecular bajo condiciones suaves de temperatura y pH (Tabla 1). La PPasa-T del tipo B de *Trametes sanguinea* IFO 6490 con actividad RGasa se recomienda para la producción industrial de pectina por vía enzimática a partir de cáscaras de limón (77). Las condiciones de extracción enzimática a nivel laboratorio, así como las propiedades de la pectina obtenida se muestran en la Tabla 1. Los rendimientos obtenidos con la PPasa-T, en pruebas de laboratorios, son superiores a los de métodos microbiológicos y probablemente comparables a los de métodos químicos. Con respecto a sus características fisicoquímicas, las pectinas son comparables a las obtenidas con el método comercial.

La extracción de pectina de diferentes materiales vegetales ricos en protopectina depende del tipo de PPasas (PPasa-C,-N,-R,-S,-T) empleadas y la interacción con el material vegetal. Esto es un ejemplo de la catálisis heterogénea, en donde las constantes cinéticas y termodinámicas de las reacciones son características y diferentes de las de aquellos sistemas homogéneos en los que se utilizan sustratos solubles (por ejemplo, la desesterificación enzimática de pectina por PE), y depende de las interacciones enzima-sustrato (86). Por las razones anteriores podemos decir que el proceso enzimático presenta importantes ventajas, tales como: es fácilmente controlable, existe bajo consumo de energía, hay facilidad en la manipulación de la materia prima ya que se evita la maceración del tejido vegetal (con lo cual la separación del material sólido agotado en pectina de la solución conteniendo pectina soluble se ve muy facilitada) y se obtienen polímeros de alto peso molecular y en general con mayor contenido en azúcares neutros. Sin embargo, la hidrólisis de la protopectina por vía enzimática es actualmente comparativamente más costosa que la vía fisicoquímica (fundamentalmente por el costo de las enzimas utilizadas) y se requiere de un tiempo mayor de extracción (56). Un abaratamiento en el precio de las enzimas utilizadas, fundamentalmente en base a la optimización en las metodologías de producción, podría hacer más competitivos a este tipo de procesos industriales. Por otra parte, el hecho de que los residuos obtenidos en procesos de extracción enzimática de pectina sean mucho menos contaminantes del medio ambiente en comparación con aquellos derivados del proceso fisicoquímico y que a su vez los sólidos obtenidos puedan ser utilizados como fuentes de fibras para alimentación animal hace que este tipo de biotecnología tenga buenas posibilidades de aplicación a nivel industrial una vez resueltos los problemas antes mencionados.

## CONCLUSIONES

El conocimiento estructural de las sustancias pécticas permite el uso de enzimas específicas para liberar pectina de alto peso molecular. Sin embargo aún se requiere de más información sobre la estructura de la protopectina de diversos materiales vegetales con el fin de hacer más eficiente el proceso de extracción. De los dos métodos biológicos disponibles, el método enzimático tiene grandes perspectivas de aplicación a nivel industrial, ya que se obtienen productos de alto peso molecular, en contraste con el método microbiológico. El proceso de extracción biológico (microbiológico y enzimático), depende principalmente de las interacciones enzima-sustrato para liberar eficientemente la pectina soluble a partir de la protopectina. El desarrollo científico y tecnológico de estos bioprocesos permite nuevas alternativas de extracción aplicables en la industria de obtención de pectina.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de la línea de investigación sobre enzimas y sustancias pécticas (DIA). El primer autor agradece a la Agencia Española de Cooperación Internacional por la beca concedida del Programa MUTIS y a la Universidad Autónoma de Coahuila, México, para la realización de estudios de Doctorado en el Centro de Investigación y Desarrollo de Fermentaciones Industriales (CINDEFI), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. También agradece a la Ing. M.C. Gómez-Abril por sus valiosos comentarios y a los Ing. H. Silva y J.H. Juárez.

## REFERENCIAS

1. Van Buren JP. Function of pectin in plant tissue structure and firmness. En: *The Chemistry and Technology of Pectin*. RH Walter (Ed.). San Diego, Academic Press, Inc. p. 1-22. 1991.
2. Swisher HE & Swisher LH. Specialty citrus products. En: *Citrus Science and Technology*. Vol. 2. Nagy, S, PE Shaw & MK Veldhuis (Eds.). Westport, Connecticut, The AVI Publishing Company Inc. p. 290-235. 1977.
3. May, CD. Commercial sources and production of pectins. En: *Gums and Stabilizers for the Food Industry*. Vol. 5. Phillips, G.O.; PA Williams & DP Welloch (Eds.). London, Oxford University Press. p. 223-232. 1990.
4. Sudhakar DV & Maini SB. Pectins from fruit processing waste - a review. *Ind. Fd. Packer* 49:39-56, 1995.
5. Towle GA. & Christensen O. Pectin. En: *Industrial Gums*, Whistler, RL (Ed.). 2<sup>TM</sup> ed. New York, Academic Press. p. 429-461. 1973.
6. Braverman JBS. Citrus products - chemical composition and technology, New York, Interscience, 1949.
7. Kertesz ZI. The Pectic substances. New York, Interscience Publishers, 1951.
8. Kertesz ZI. Pectinas. En: *Enciclopedia de Tecnología Química*. Kirk R. & Othmer D. (Eds.). México. Editorial Unión Tipográfica Hispanoamericana. p. 792-809. 1962.
9. Joseph GH & Hariorst CR. Engineering quality of pectins. *Food Eng* 24:87-89, 160-162, 1952.
10. Hull WQ., Lindsay CW. & Baier WE. Chemicals from oranges. *Ind Eng Chem* 45:876-890, 1953.
11. Doesburg JJ. Pectic substances in fresh and preserved fruits and vegetables. Institute for Research on Storage and Processing of Horticultural Produce. I.B.T.V. Wageningen, The Netherlands, 1965.
12. Potter RS. Extraction of pectin. *Process Biochem* 1:378-384, 1966.
13. Blumer HP. New plant for powdered pectin. *Food Manuf* 42:37-39, 1967.
14. Glicksman, M. Pectins. En: *Gum Technology in the Food Industry*. Glicksman, M (Ed.). New York, Academic Press. 1969, p. 159-190.
15. Pilnik W. & Zwiker P. Pektine. *Gordian* 70:202-204, 252-257, 302-305, 343-346, 1970.
16. Francis BJ & Bell JMK. Commercial pectin: a review. *Tropical Sci* 17:25-44, 1975.
17. Rouse AH. Pectin: distribution, significance. En: *Citrus Science and Technology*. Vol 1. Nagy, S, PE Shaw & MK Veldhuis (Eds.). Westport, Connecticut, The AVI Publishing Company Inc. p. 110-207. 1977.
18. Nelson DB., Smit CJB. & Wiles RR. Commercially important pectic substances. En: *Food Colloids*. Graham HD (Ed.) Westport, Conn, The AVI Publishing Co. p. 418-437. 1977.
19. Lawrence AA. Pectins. En: *Natural Gums for Edible Purposes*. Lawrence AA (Ed.). New Jersey, U.S.A. *Food Technology Review*. No. 36. p. 58-103. 1979.
20. Pedersen JK. Pectins. En: *Hand Book of Water-Soluble Gums*. Davidson, RL (Ed.). New York, McGraw-Hill. p. 15 -21. 1980.
21. Valet R & Schoon A. Manufacture and use of commercial pectin. *Inter Zeitschrift fur Lebensmittel Technol und Vertahvenstechnik* 34:249-251, 1983.
22. Christensen, SH. Pectins. En: *Food Hydrocolloids*. Glicksman, M (Ed.). Boca Raton, FL. CRC Press. p. 205-230. 1986.
23. Keller, J. Pectin. En: *Gum and Starch Technology*. 18th Annual Symposium. Special Report No. 53. Cornell University, Geneva Campus, New York, 1983.
24. Keller, J. Commercial important pectic substances. En: *Food Hydrocolloids*. Graham HD (Ed.). Westport, Conn, AVI Publishing. p. 418-437. 1984.
25. Sheluhina N.P, Abaeva RCh. & Aimuhamedova JB. Pectin and parameters of its production, *Isd. Ilim, Frunze, USSR*. 1987.
26. Gentshev, L.N. Advances in science and technology of apple pectin production. *Ind Obst und Gemüservewertung* 72:43-49. 1987.
27. May CD. Industrial pectins: source, production and applications. *Carbohydr Polym* 12: 79-99. 1990.
28. Pilnik W. Pectin-a many splendoured thing. En: *Gums and Stabilizers for the Food Industry* 5. Phillips GO, DJ Wedlock & PA Williams (Eds.). Oxford, IRL Press. p. 209-235. 1990.
29. Pilgrim GW, Walter RH & Oakenfull DG. Jams, Jellies, and Preserves. En: *The Chemistry and Technology of Pectin*. Walter, R.H. (Ed.). New York, Academic Press. p. 24-25. 1991.
30. Pilnik W & Voragen AGJ. Gelling agents (pectins) from plants for the food industry. *Adv in Plant Cell Biochem Biotechnol* 1:219-270. 1992.
31. Lowers, ES. Pectin and derived acids - Manufacture properties uses. *S+FW-Journal*. 118, 655-659. 1992.
32. Sakai T, Sakamoto T., Hallert J. & Vandamme J. Pectin, pectinase, and protopectinase: production, properties, and applications. *Adv Appl Microbiol* 39:213-294, 1993.
33. Panchev IN, Kirtchev NA, & Kratchanov C. Kinetic model of pectin extraction. *Carbohydr Polym* 11:193-204, 1989.
34. Kirtchev N, Panchev I, & Kratchanov Chr. Pectin extraction in the presence of alcohols. *Carbohydr Polym* 11:257-263. 1989.
35. Hwang J, Pyun YR, & Kokini JL. Sidechains of pectins: some thoughts on their role in plant cell walls and foods. *Food Hydrocolloids* 7:39-53. 1993.
36. American Chemical Society. Report of Committee for the revision of the nomenclature of pectic substances. *Chem Eng News* 22:105-106. 1944.
37. Kravtchenko TP. Studies on the structure of industrial high methoxyl pectins. PhD. Thesis. Department of Food Science. Agricultural University of Wageningen. The Netherlands, 1992.
38. Joslyn MA. The chemistry of protopectin: a critical review of historical data and recent developments. *Adv Food Res* 11:1-107. 1962.
39. Pilnik W. & Voragen AGJ. Pectic substances and other uronides. En: *The Biochemistry of Fruits and Their Products*. Vol. 1. Hulme AC (Ed.). London, Academic Press. p. 53-87. 1970.
40. Renard CMGC, Schols HA, Voragen AGJ, Thibault JF & Pilnik W. Studies on apple protopectin. III: Characterization of the material extracted by pure polysaccharidases from apple cell wall. *Carbohydr Polym* 15:13-32. 1991.
41. Keegstra K, Talmadge KW, Bauer WD & Albersheim P. The structure of plant cell walls III: A model of the walls of suspension-cultured sycamore cells based on the interactions of the macromolecular components. *Plant Physiol* 51:158-173. 1973.
42. Renard CMGC, Voragen AGJ, Searle-van Leeuwen MJF, Geraeds CGJM, Schols HA & Pilnik W. I: Extraction of insoluble pectin by chemical means. *Carbohydr Polym* 12:9-25.
43. Renard CMGC, Voragen AGJ, Thibault JF & Pilnik W. Comparison between enzymatically and chemically extracted pectins from apple cell walls. *Animal Feed Sci Technol* 32:69-75. 1991.
44. Renard CMGC, Searle van Leeuwen MJF, Voragen AGJ, Thibault JF. & Pilnik W. Studies on apple protopectin. II: Apple cell wall degradation by pure polysaccharidases and their combinations. *Carbohydr Polym* 14:295-314, 1991.
45. Renard CMGC, Voragen AGJ, Thibault JF. & Pilnik W. Studies on apple protopectin. IV: Apple xyloglucans and influence of pectin extraction treatments on their solubility. *Carbohydr Polym* 15:387-403, 1991.

46. Renard CMGC, Voragen AGJ, Thibault JF. & Pilnik W. Studies on apple protopectin. V: Structural studies on enzymatically extracted pectins. *Carbohydr Polym* 16:137-154, 1991.
47. Renard CMGC, Thibault JF, Voragen AGJ, van den Broek LAM & Pilnik W. Studies on apple protopectin. VI: Extraction of pectins from apple cell walls with rhamnogalacturonase. *Carbohydr Polym* 22:203-210, 1993.
48. De Vries JA., Voragen AGJ, Rombouts FM. & Pilnik W. Structural studies of apple pectins with pectolytic enzymes. En: *Chemistry and Function of Pectins*. ML Fishman y JJ Jen (Eds.). Washington, DC, American Chemical Society. p. 38-48, 1986.
49. John MA. & Dey PM. Postharvest changes in fruit cell wall. *Adv Food Res* 30:139-193, 1986.
50. Renard C. Etude des polysaccharides parietaux de la pomme. Extraction at caracterization par des methodes chimiques et enzymatiques. These de Doctorat, Université de Nantes, France, 1989.
51. Powell DA, Morris ER, Gidley MJ & Rees DA. Conformation and interactions of pectins. II. Influence of residue sequence on chain association in calcium pectate gels. *J Mol Biol* 155:517-531, 1982.
52. Voragen AGJ, Pilnik W, Thibault JF, Axelos MAV & Renard CMGC. Pectins. En: *Food Polysaccharides and Their Applications*. Stephen AM (Ed.). New York, Marcel Dekker, Inc. p. 287-339, 1995.
53. Schols HA, Geraeds CCJM, Searle-van Leewen MF, Kormelink FJM & Voragen AGJ. Rhamnogalacturonase: A novel enzyme that degrades the hairy regions of pectins. *Carbohydr Res* 206:105-115, 1990.
54. Kratchanov CK., Marev, Kirchev K. & Bratanoff A. Improving pectin technology: extraction using pulsating hydrodynamic action. *J Food Technol* 21:751-761, 1986.
55. Gentschev L, Kumsin K, Vladimirov G. & Grantschev D. Modellierung und Optimierung des Extraktionsvorganges von Citruspektin. *Flussiges Obst* 58:65-67, 1991.
56. Minkov S, Minchev A. & Paev K. Modeling of the hydrolysis and extraction of apple pectin. *J Food Eng* 29: 107-113, 1996.
57. Sakai T. & Okushima M.. Microbial production of pectin from citrus peel. *Appl Environ Microbiol* 39:908-912, 1980.
58. Sakai T. & Katsuragi T. Process for preparing pectin from plant tissues. *US Patent* 4,686,187, 1987.
59. Sakai T. Degradation of pectins. En: *Microbial Degradation of Natural Products*. Winkelmann (Ed). VCH Publishers, Inc. New York, pp 57-81, 1992.
60. Hallert J., van Heetvelde I., Seynaeve R. & Vandamme E. Pectin liberation from sugar-beet pulp by *Geotrichum* sp. protopectinase waste-disposal. *Ferment Technol Ind Appl* 32:190-197, 1990.
61. Ralet MC., Thibault JF, Hallert J., Vandamme E. & Van Loo J. Characteristics of pectins extracted from sugar-beet pulp by *Geotrichum penicillatum*. *Sci Aliments* 10:865-876, 1990.
62. Donaghy JA & McKay AM. The use of *Kluyveromyces fragilis* for the extraction of orange peel pectins. *J Appl Bacteriol* 76:506-510, 1994.
63. Elias, AN, Foda MS. & Attia L. Production of pectin and pigments from orange peels by using microbial enzymes. *Egypt J Food Sci* 12:159-162, 1984.
64. Ghanem KM, Elrefai AH & Elgazaerl MA. Microbial extraction of beet pulp pectin. *Res Conserv Recycl* 6:35-44, 1991.
65. Khodzhaeva MA, Turakhozhaev MT, Kristallovich EL, Abdullaev ND & Azimkhodzhaev MN. Isolation of beet pectin in solid-state fermentation. *Kim Prir Soedin* 1:3-6, 1996. (Original no consultado; compendiado en *Chem Abst* 125:245755c, 1996).
66. Konno H., Yamasami Y. & Katoh K. Enzymatic degradation of pectic substances and cell walls purified from carrot cell cultures. *Phytochemistry* 25:623-627, 1986.
67. Thibault, JF, De Dreu R, Geraeds CJ & Rombouts FM. Studies on extraction of pectins from citrus peels, apple marks and sugar beet pulps with arabinase and galactanase. *Carbohydr Polym* 9:119-131, 1988.
68. Rombouts FM & Pilnik W. Enzymes for structural analysis of plant polysaccharides. En: *Inter. Workshop on Plant Polysaccharides, Structure and Function*. Marcier, C & M Rinaudo (Ed.). France, Institute National de la Recherche Agronomique & Centre National de la Recherche Scientifique. p. 19-29, 1984.
69. Vries JA de, Rombouts FM, Voragen AGJ & Pilnik W. Enzymic degradation of apple pectin. *Carbohydr Polym* 2:25-33, 1982.
70. Rombouts, FM & Thibault JF. Enzymatic and chemical degradation and fine structure of pectins from the sugar beet pulp. *Carbohydr Res* 154:189-203, 1986.
71. Rouau X, & Thibault JF. Apple juice pectic substances. *Carbohydr Polym* 4:111-121, 1984.
72. Saulnier L & Thibault JF. Enzymic degradation of isolated pectic substances and cell wall from pulp of grape berries. *Carbohydr Polym* 7:345-356, 1987.
73. Knee M, Fielding AH, Archer SH. & Laborda F. Enzymic analysis of cell wall structure in apple fruit cortical tissue. *Phytochemistry* 14:2213-2222, 1975.
74. Voragen AGJ, Heutink R. & Pilnik W. Solubilization of apple cell walls with polysaccharide-degrading enzymes. *J Appl Biochem* 2:452-468, 1980.
75. Voragen AGJ, Schols HA, Clement AJJ, Pilnik W. Enzymic analysis of pectins. En: *Gums and Stabilizers for the Food Industry*. Vol. 2. Phillips GO, DJ Wedlock & PA Williams (Eds.). Oxford, Pergamon Press. p. 517-521, 1984.
76. Sakamoto T & Sakai T. Analysis of structure of sugar-beet pectin by enzymatic methods. *Phytochemistry* 39:821-823, 1995.
77. Sakamoto T & Sakai T. Protopectinase-T: a rhamnogalacturonase able to solubilize protopectin from sugar beet. *Carbohydr Res* 259:77-9, 1994.
78. Matora AV, Korshunova VE, Shkodina OG, Zhemerichkin DA, Ptitchkina NM & Morris ER. The application of bacterial enzymes for extraction of pectin from pumpkin and sugar beet. *Food Hydrocolloids* 9:43-46, 1995.
79. Donaghy JA & McKay AM. Pectin extraction from citrus peel by polygalacturonase produced on whey. *Bioresource Technol* 47:25-28, 1994.
80. Nakamura T., Hours RA & Sakai T. Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases. *J Food Sci* 60:468-472, 1995.
81. Sakai T. & Okushima M. Protopectin-solubilizing enzyme from *Trichosporon penicillatum*. *Agric Biol Chem* 42:2427-2429, 1978.
82. Sakai T & Okushima M. Purification and crystallization of a protopectin-solubilizing enzyme from *Trichosporon penicillatum*. *Agric Biol Chem*. 46:667-676, 1982.
83. Sakai T. & Yoshitake S. Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme from *Galactomyces reessii*. *Agric Biol Chem* 48:1941-1950, 1984.
84. Sakai T & Sakamoto T. Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme that has potent activity on sugar beet protopectin. *Agric Biol Chem* 54:879-889, 1990.
85. Sakamoto T., Hours RA & Sakai T. Purification, characterization, and production of two pectic transeliminases with protopectin activity from *Bacillus subtilis*. *Biosci Biotech Biochem* 58:353-358, 1994.
86. Sakamoto T, Hours RA & Sakai T. Enzymic pectin extraction from protopectins using microbial protopectinases. *Process Biochem* 30:403-409, 1995.
87. Smit CJB & Bryant EF. Properties of pectin fractions separated on diethylaminoethyl-cellulose columns. *J Food Sci* 32:197-199, 1967.
88. Alexander MM & Sulebele GA. Characterisation of pectins from indian citrus peels. *J Food Sci Technol* 17:180-182, 1980.
89. Sakamoto M, Shirane Y., Naribayashi I, Kimura K, Morishita N, Sakamoto T & Sakai T. Purification and characterization of a rhamnogalacturonase with protopectinase activity from *Trametes sanguinea*. *Eur J Biochem* 226:285-291, 1994.
90. Sakai, T, K Ikemoto & Y Ozaki. Purification, crystallization of a novel protopectinase from *Bacillus subtilis*. *Agric Biol Chem* 53:1213-1223, 1989.
91. Sakai T, Okushima M & Yoshitake S. Purification, crystallization and some properties of end-polygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*. *Agric Biol Chem* 48:1951-1961, 1984.
92. Sakamoto, T, Yoshnaga J, Shogaki T. & Sakai T. Studies on

- protopectinase-C mode of action: Analysis of the chemical structure of the specific substrate in sugar beet protopectin and characterization of the enzyme activity. *Biosci Biotech Biochem* 57:1832-1837. 1993.
93. Yoshitake S, Numata T, Katsuragi T, Hours RA & Sakai T. Purification and characterization of a pectin-releasing enzyme produced by *Kluyveromyces wickerhamii*. *J Ferm Bioeng* 77:370-375. 1994.
94. Sakai T, Yagyu T., Katsuragi T. & Tonomura K. Production of monoclonal antibody against protopectinase from *Kluyveromyces wickerhamii*. *J Ferm Bioeng* 67:309-311. 1994.
95. Hours RA & Sakai T. Protopectinase production in solid state culture of *Aspergillus awamori*. *Biotech Lett* 16:721-726. 1994.
96. Hours RA, Katsuragi T. & Sakai T. Growth and protopectinase production of *Aspergillus awamori* in solid-state culture at different acidities. *J Ferm Bioeng* 78:426-430, 1995.
97. Sakai T & Ozaki Y. Protopectin solubilizing enzyme that does not catalyze the degradation of polygalacturonic acid. *Agric Biol Chem* 52:1091-1093, 1988.
98. Jaticavanich, S. & Juntungjin K. Protopectin solubilizing enzyme (PPase): isolation and optimization of the PPase-producing microorganisms. *Thai J Agric Sci* 16:185-196, 1983. (Original no consultado; compendiado en *Food Sci Technol Abst* 16:6G455. 1994).

Recibido: 07-08-1996

Aceptado: 28-05-1997

## Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fítico, calcio y hierro total y disponible

A.L. Urizar Hernández<sup>1</sup> y R. Bressani<sup>2</sup>

**RESUMEN.** El presente estudio se llevó a cabo con el propósito de conocer el efecto del proceso de nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fítico y de hierro disponible en el nixtamal (maíz cocido con cal). Para el estudio se cocinaron lotes de maíz con 0-0,4-0,8 y 1,2% de cal en base al peso de maíz, en agua en una relación de 3 a 1 por tiempos de cocción a cada nivel de cal 55, 65 y 75 minutos. La mitad de los tratamientos no se les permitió el remojo después de la cocción y a la otra mitad se les dio 12 horas de remojo. Los análisis estadísticos y correlaciones mostraron que el contenido de ácido fítico disminuyó significativamente durante el proceso de nixtamalización; afectado por el tiempo de cocción y el nivel de cal, alcanzando valores de reducción de un 35%. Tanto el hierro ionizable como el contenido de calcio aumentaron en un 52-77% y hasta un 400-478%, respectivamente. La cantidad de calcio presente como resultado de la nixtamalización es tan alta en comparación con el contenido de ácido fítico que éste pudo ser fácilmente saturado, evitando así su combinación con el hierro. Se encontró una relación inversa proporcional entre el ácido fítico y el contenido de hierro iónico posiblemente biodisponible y el porcentaje de absorción del mismo. Por el contrario, el tiempo de remojo no presentó ningún efecto significativo sobre los resultados aunque se indujo una mayor acumulación de calcio. Se concluye que el proceso de nixtamalización favorecería la utilización del hierro en el maíz nixtamalizado y aumenta el aporte de calcio en la dieta.

**SUMMARY.** The effect of lime cooking of corn on the phytic acid, calcium, total and ionizable iron content. The present study was carried out with the objective to learn about the effect of the nixtamalization process of corn on the content of phytic acid and availability of iron in the lime-cooked corn. For the study, lots of corn with 0, 0.4, 0.8 and 1.20% of lime on the basis of corn weight, in water in the ratio of 3 to 1, and cooking times at each level of lime of 55, 65 and 75 minutes, were processed. Half of the treatments were not soaked after cooking, while the other half were soaked in the cooking solution for a 12-hour period.

Statistical analysis of the data and correlations calculated showed that the phytic acid content decreased significantly during the nixtamalization process, affected by the cooking time and the level of lime used, reaching levels of reduction of around 35%. Both the ionizable iron and calcium level increased up to 52-77% and 400-478% respectively. The amount of calcium present in the cooked corn as the result of the lime cooking process, is significantly higher in comparison with the phytic acid content, which may be easily saturated and thus, unavailable to bind iron.

An inverse relationship was found between phytic acid and bioavailable iron and its absorption percentage. On the other hand, soaking time did not significantly affect the phytic acid and available iron, although it contributed to a slightly higher Ca accumulation. The amount of ionizable iron was higher at higher levels of lime, which suggested that the nixtamalization process would favor the biological utilization of iron in lime-cooked corn and provide calcium to the diet.

### INTRODUCCION

El maíz constituye un alimento de gran importancia en la alimentación y nutrición de la población en América Latina. En algunos países su consumo es como tortilla, un alimento producido a nivel del hogar y a nivel industrial, a través de la cocción del grano de maíz utilizando hidróxido de calcio. Este proceso se conoce en la actualidad como proceso de nixtamalización (1,2).

La transformación del grano de maíz en masa y luego en tortilla y en otros alimentos, producidos de la masa o de la harina, induce cambios tanto en los aspectos físicos y químicos del grano, como en aspectos nutricionales. (1,2). Desde el punto de vista físico el proceso de nixtamalización ayuda a la eliminación de la cáscara del maíz, reduciendo de esta manera la cantidad de fibra dietética. (3,4,5). Asimismo, la cocción induce una gelatinización parcial de los almidones (6,5) y también induce cambios en la solubilidad de la proteína, afectando significativamente la de las prolaminas (8,9). Durante el

período de cocción y de remojo ocurren también pérdidas de sólidos que se han asociado a la calidad de grano y al tipo de grano que se utiliza (1,2)

Desde el punto de vista químico, el proceso de cocción alcalina induce pérdidas importantes de varios nutrientes, en particular de las vitaminas del complejo B y de carotenos en maíz amarillo y también ocurren cambios en el contenido mineral. (10) Sin embargo, el proceso induce cambios que son favorables con respecto a algunos nutrientes y no altera el valor de la calidad de la proteína del maíz, la cual, como bien se sabe, es baja (1,2).

Uno de los cambios de interés nutricional es la reducción en fibra dietética. Esta se ha asociado a la disminución de la biodisponibilidad de varios minerales y otros nutrientes, como por ejemplo del hierro (11,12,13,14). Por el contrario, el uso de hidróxido de calcio se traduce en un incremento significativo en el contenido de calcio de la masa y de la tortilla que puede alcanzar hasta un 400% con respecto al maíz crudo (1,2). Estudios biológicos en ratas han demostrado que este calcio es prácticamente todo biodisponible. Además mejora sustancialmente la relación calcio/fósforo en el alimento (15,16,17)

Un compuesto químico que se ha asociado a reducir la biodisponibilidad del hierro y de otros minerales es el ácido fítico. (18) Este compuesto se encuentra en relativas altas concentraciones en el germen del maíz (18) fracción física del grano que no se elimina durante la cocción alcalina del grano (1,2). A pesar de que se han

1 Graduada en Ingeniería de Alimentos, Universidad del Valle de Guatemala

2 Investigador del Instituto de Investigaciones de la Universidad del Valle de Guatemala

informado datos sobre el contenido de ácido fítico en el maíz nixtamalizado (14,19,20) el cual es menor al contenido en el grano crudo, no se ha informado sobre el efecto de algunas variables de procesamiento por nixtamalización sobre el contenido de ácido fítico, como tampoco sobre el efecto que podría existir sobre la biodisponibilidad del hierro.

El presente estudio trata de ampliar los conocimientos sobre el proceso de nixtamalización del maíz con el fin de establecer su efecto sobre el contenido de ácido fítico y el contenido y biodisponibilidad del hierro y el contenido total de calcio.

### MATERIALES Y METODOS

El maíz utilizado en el presente estudio fue donado por Industria Nacional de Harinas S.A. (INHSA), siendo de color blanco y de grano semiduro, comúnmente utilizado por la industria donante para la producción de harina nixtamalizada de maíz. La cal utilizada fue también donada por INHSA.

**Nixtamalización:** En todos los tratamientos se utilizó 200 g de grano de maíz, el cual fue lavado con agua dos veces para eliminar basura, granos dañados y pedazos de olote. Ene la cocción alcalina se utilizó una relación de agua a maíz de 3 a 1, para todos los tratamientos. El nivel de cal, tiempo de cocción y tiempo de remojo antes del lavado del grano cocido se hizo de acuerdo al diseño experimental descrito en la Tabla 1. La cocción se llevó a cabo a temperatura de

ebullición usando 0 - 0,4 - 0,8 y 1,2% de cal en base a 200 g de maíz, con tiempo de cocción para cada nivel de 55, 65 y 75 minutos. La mitad de los tratamientos permanecieron en remojo por 12 hrs. con el fin de conocer si este tratamiento podría afectar la concentración de ácido fítico. Después de la cocción sin tiempo de remojo y con 12 hrs de remojo, el maíz cocido fue lavado 4 veces con agua, con lo cual se logró la remoción de gran parte del pericarpio del maíz. Las muestras fueron luego deshidratadas y molidas para sus respectivos análisis químicos.

La humedad se midió por deshidratación de acuerdo al método de la AOAC (21) para cereales y harinas. El contenido de calcio se obtuvo a través de absorción atómica, diluyendo a 10 ml la solución de cenizas con 0.1% de cloruro de lantano al 2%. El hierro total se obtuvo por el método de la AOAC (21) usando

$\alpha$  -  $\alpha$  dipiridil. El hierro ionizable se estimó a través del método descrito por Narasinga Rao y Prabhavathi (22) por medio del cual la muestra fue incubada con pepsina simulando las condiciones de estómago. El hierro liberado fue determinado por medio de espectrofotometría de llama a pH 7.5. Usando estos datos se calculó la biodisponibilidad teórica in vivo a partir de la medición desarrollada por Narasinga Rao y Prabhavathi (22). El ácido fítico se midió por espectrofotometría siguiendo el método propuesto por Haug y Lantzach (23).

Los resultados de los experimentos indicados se analizaron estadísticamente por ANDEVA, regresión lineal Microsoft Excel-Lotoss 1,2,3 y coeficientes de correlación

TABLA 1

Resultados promedio de la nixtamalización del maíz utilizando tres variables: nivel de cal, tiempo de cocción y tiempo de remojo

Tratamiento O #	Nivel de cal %	Tiempo de cocción min	Tiempo de remojo hrs	Calcio mg/100g	Acido fítico mg/100g	Hierro total ppm	Hierro ionizable ppm pH 7.5
1	0	55	0	39,11	1037,29	19,47	0,92
2			12	38,61	1071,98	20,48	0,89
3		65	0	37,19	1046,82	20,45	0,91
4			12	42,57	988,96	20,66	1,06
5		75	0	43,57	1025,56	20,56	0,98
6			12	40,61	1018,83	20,48	0,96
7	0,4	55	0	54,16	993,29	21,40	1,03
8			12	107,99	991,08	21,55	1,08
9		45	0	92,07	971,11	21,65	1,13
10			12	115,87	975,47	21,24	1,12
11		75	0	100,23	972,04	21,78	1,19
12			12	117,34	945,92	21,36	1,21
13	0,8	55	0	128,90	883,72	21,93	1,29
14			12	142,59	877,78	22,28	1,30
15		65	0	143,82	873,18	22,17	1,34
16			12	146,41	853,47	22,64	1,37
17		75	0	150,66	836,12	22,40	1,38
18			12	167,95	813,95	23,69	1,40
19	1,2	55	0	217,42	828,35	23,16	1,38
20			12	223,14	804,64	22,65	1,50
21		65	0	227,09	800,89	23,20	1,47
22			12	230,36	797,74	22,88	1,52
23		75	0	232,30	751,11	24,42	1,56
24			12	240,10	727,37	25,43	1,63

Cada cifra representa el promedio de 3 análisis independientes

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se muestran los datos de ácido fólico, calcio, hierro total y hierro ionizable obtenidos de los análisis realizados al nixtamal de los diferentes tratamientos de nixtamalización. De acuerdo a las diferentes correlaciones que se deseaban de cada una de las variables, los datos se agruparon adecuadamente para ser analizados y presentarse así los resultados sobre a) el efecto del nivel de cal y del tiempo de cocción sobre el contenido de Ca en el nixtamal; b) el efecto del tiempo de cocción sobre el contenido de ácido fólico, hierro total y hierro ionizable; c) la relación entre el calcio, ácido fólico, hierro total y hierro ionizable, d) el efecto del remojo sobre el ácido fólico, hierro ionizable y hierro total y, e) otras correlaciones entre el ácido fólico, porcentaje de hierro ionizable y la biodisponibilidad del hierro a través del porcentaje de absorción de hierro in vivo en adultos utilizando la ecuación de Narasinga Rao y Prabhavathi (22).

**a. Efecto del nivel de cal y del tiempo de cocción sobre el contenido de Ca en el nixtamal:** Los datos presentados en la Tabla 1 claramente muestran que el nivel de cal usado para la cocción del maíz influyó sobre el contenido de Ca en el nixtamal a los diferentes tiempos de cocción 55,65 y 75 minutos, así como después de 12 horas de remojo. Cuando no se utilizó cal para la cocción no hubo aumento en el contenido de Ca a los diferentes tiempos de cocción, ni después de 12 horas de remojo. El aumento en el contenido de Ca en el nixtamal después de 12 horas de remojo fue relativamente mayor con 0,4% de cal con 0,8 a 1,2% con respecto al nivel de calcio en las muestras sin remojo. Los datos de este estudio confirman datos publicados por Gómez y col (24). En estos estudios se encontró que a cualquier tiempo la mayor concentración del calcio ocurría en el germen, luego en el grano entero y niveles significativamente más bajos en el endospermo. Este hallazgo es de interés ya que el germen es la porción física del grano de maíz con la mayor cantidad de ácido fólico (18).

**b. Efecto del nivel de cal y del tiempo de cocción sobre el contenido de ácido fólico, hierro total y hierro ionizable:** Los datos experimentales se describen en la Tabla 1. Aún cuando en la literatura se señala que el tratamiento térmico no es altamente significativo en el comportamiento de ácido fólico éste sí puede ser un factor incidente y se relaciona directamente con el tiempo de exposición del producto al tiempo que es sometido a cocción. Del análisis de datos realizado a los tratamientos para determinar el efecto del tiempo de cocción sobre las diferentes variables se obtuvo que este es un factor influyente en la reducción del ácido fólico de 1031,6 a 785,0 mg % y en el aumento del contenido de hierro ionizable a pH 7,5 de 0,94 a 1,51 ppm; sin embargo, su significancia es mayor a niveles altos de cal. Por el contrario, el pequeño pero no significativo aumento que se observa en hierro total de 0 a 1,2% de cal es probable que sea debido a contaminación por la cal, ya que los valores promedio para 0 - 0,4 - 0,8 y 1,2 % de cal fueron 20,35 - 21,50 - 22,52 y 23,62 ppm, respectivamente. El análisis de varianza para medir la diferencia entre estas variables se hizo dejando constante el tiempo de remojo y el nivel de cal y variando únicamente el tiempo de cocción (Tabla 2). En la mayoría de los grupos de datos analizados y con la excepción de los tratamientos sin cal, el F experimental fue mayor que el F crítico, lo que indicó una diferencia significativa entre tratamientos a diferentes tiempos de cocción. Asimismo, para relacionar las variables se efectuó una regresión lineal entre el tiempo y el ácido fólico, y entre el tiempo y el hierro ionizable. En general las ecuaciones obtenidas mostraron una relación directa lineal entre las variables, lo cual se puede notar en la Tabla 3 y presentaron coeficientes de correlación mayores al 0,95. Las que mostraron valores menores son aquellas en donde no se utilizó la cal para la cocción. En relación al contenido de ácido fólico, este se reduce desde un 8 % en los niveles bajos de cal, hasta un 30-45 % en los niveles altos de cal; el de calcio aumenta hasta un 470 % (Tabla 4), mientras que el contenido de hierro ionizable aumenta desde un 8 % hasta un 78%.

TABLA 2  
Resultados del análisis de varianza entre los diferentes tiempos de cocción a un nivel constante de cal y remojo\* y del contenido de ácido fólico y hierro ionizable

Tratamientos comparados	F crítica**	Acido fólico		Hierro ionizable		
		relación	F experimental	relación	F experimental	resultado
T1, T3, T5	10,92	>	0,34	>	0,19	NS
T2, T4, T6	10,92	>	5,80	>	7,43	NS
T7, T9, T11	10,92	>	2,19	>	7,30	NS
T8, T10, T12	10,92	<	19,98	<	17,12	S
T13, T15, T17	10,92	<	26,68	<	12,75	S
T14, T16, T18	10,92	<	58,44	<	12,21	S
T19, T21, T23	10,92	<	27,64	<	14,61	S
T20, T22, T24	10,92	<	25,75	<	11,96	S

\* Para el análisis de varianza se agruparon los tratamientos de acuerdo al nivel de cal y tiempo de remojo constantes y variando únicamente el tiempo de cocción.

\*\* F crítica  $v_1 = 2y$   $v_2 = 6$ ,  $p = 3$  y  $n = 9$  (Mendenhall, 1992) a un 0.01 % de nivel de nivel de confianza

TABLE 3  
Relación entre el tiempo de cocción sobre el ácido fítico y hierro ionizable a un nivel constante de cal

Nivel de cal	Horas de remojo	Relación de variable	
0	0	AF = 1075 - 0,6 (t)	0,324
	Fe i = 7,42 + 0,03 (t)	0,628	
0	12	AF = 1202 - 2,7 (t)	0,429
	Fe i = 7,42 + 0,04 (t)	0,168	
0,4	0	AF = 1047 - 1,1 (t)	0,964
	Fe = 5,97 + 0,08 (t)	0,980	
	AF = 1120 - 2,3 (t)	0,970	
0,4	12	Fe i = 7,15 + 0,065 (t)	1,000
0,8	0	AF = 1020 - 2,4 (t)	0,995
	Fe i = 10,44 + 0,045 (t)	0,996	
0,8	12	Af = 1063 - 3,3 (t)	0,985
	Fe i = 10,32 + 0,05 (t)	0,949	
	0	AF = 1020 - 3,5 (t)	0,988
1,2	0	AF = 1020 - 3,5 (t)	0,988
	Fe i = 8,85 + 0,09 (t)	1,000	
1,2	12	AF = 1030 - 3,9 (t)	0,970
	Fe i = 11,86 + 0,06 (t)	0,881	

TABLE 4  
Porcentaje de reducción o aumento\* del ácido fítico, hierro ionizable y calcio en los diferentes tratamientos

Maíz	Acido fítico 1113,33 mg/100g	Calcio 41,5 mg/100g	Hierro ionizable 0,9 ppm
Nixtamal* #	Acido fítico % reducción**	Calcio % aumento**	Hierro ionizable % aumento**
1	6,83	-4,52	1,10
2	3,71	-6,96	-2,20
3	5,97	-10,39	0,00
4	11,17	2,82	16,48
5	7,88	4,99	7,69
6	8,49	-2,14	5,49
7	10,78	102,80	13,19
8	10,98	160,22	18,68
9	12,77	121,86	24,18
10	12,38	179,20	23,08
11	12,69	142,24	30,77
12	15,04	182,75	32,97
13	20,62	210,60	41,76
14	21,16	243,40	42,86
15	21,57	246,55	47,25
16	23,34	252,80	50,55
17	24,90	263,04	51,65
18	26,89	304,70	53,85
19	25,60	423,90	51,65
20	27,73	437,69	64,84
21	28,06	447,20	61,54
22	28,35	455,08	67,03
23	32,58	459,78	71,43
24	34,67	478,55	76,92

\* Normal correspondiente a cada uno de los diferentes 24 tratamientos.

\*\* Porcentaje de aumento y reducción está en base a la cantidad inicial en el grano.

TABLA 5

Resultados del análisis de varianza entre los diferentes niveles de cal a un tiempo constante de cocción y remojo y el contenido de ácido fítico y hierro ionizable\*

Tratamientos comparados	Acido fítico		Hierro ionizable		
	F crítica**	relación	F experimental	relación	resultado
T1,T7,T13,T19	7,59	<	40,14	<	S
T2,T8,T14,T20	7,59	<	242,20	<	S
T3,T9,T15,T21	7,59	<	223,81	<	S
T4,T10,T16,T22	7,59	<	185,39	<	S
T5,T11,T17,T23	7,59	<	76,35	<	S
T6,T12,T18,T24	7,59	<	101,74	<	S

\* Para el análisis de varianza se agruparon los tratamientos de acuerdo a tiempo de cocción y remojo constante y variando únicamente el nivel de cal (0- 0,4 - 0,8 - 1,2)

\*\* F crítica  $v_1 = 3$  y  $v_2 = 8$ ,  $p = 4$  y  $n = 12$  (Mendenhall, 1992) a un 0,01 % de nivel de nivel de confianza

TABLA 6

Relación entre el nivel de calcio y remojo sobre el ácido fítico y hierro ionizable\* a un tiempo constante de cocción

t min	remojo hrs	relación variables	r
55	0	AF = 1030 - 1.0 (Ca)	0.904
		Fe.i = 9.48 - 0.02 (Ca)	0.842
	12	AF = 1127 - 1.5 (Ca)	0.955
		Fe.i = 7.63 + 0.03 (Ca)	0.973
65	0	AF = 1088 - 1.3 (Ca)	0.975
		Fe.i = 8.42 + 0.03 (Ca)	0.949
	12	AF = 1051 - 1.1 (Ca)	0.871
		Fe.i = 9.18 + 0.03 (Ca)	0.886
75	0	AF = 1099 - 1.5 (Ca)	0.961
		Fe.i = 8.71 + 0.03 (Ca)	0.982
	12	AF = 1092 - 1.5 (Ca)	0.967
		Fe.i = 8.30 + 0.03 (Ca)	0.998

La reducción en ácido fítico puede atribuirse a la labilidad del compuesto al calor y a una mayor reducción al aumentar el tiempo de cocción, sin embargo, existen otros factores que pueden contribuir a la disminución del compuesto. Por ejemplo, durante el proceso de nixtamalización se tiene una operación de lavado del nixtamal en el cual se remueve el exceso de cal y partes físicas del grano como el pericarpio y una pequeña parte del germen. La literatura indica que en el germen el contenido de ácido fítico es alto (18) por lo que el nivel de remoción de éste durante esta operación puede influir en la disminución del ácido fítico; sin embargo, en el lavado los estudios muestran que es muy poco el germen que se pierde en el agua que se descarta. Probablemente un lavado más intenso podría tener un mayor efecto, aún así esto puede afectar las características y funcionalidad del producto final por lo que debe evaluarse su efecto más detenidamente. En este estudio no se analizó el agua de lavado, sin embargo es interesante señalar que el contenido de ácido fítico en

este puede ser un factor importante para establecer una de las posibles causas de la pérdida del compuesto. Vale la pena señalar que para un estudio posterior puede incluirse esta muestra para definir un balance de masa del AF y definir con mayor certeza el comportamiento del mismo. Por otro lado, es importante indicar que para los 24 diferentes tratamientos del estudio, la operación de lavado fue igual para evitar que ésta fuese una variable y pudiera causar cambios.

**c. La relación entre el nivel de Ca sobre el ácido fítico y el hierro ionizable a un tiempo constante de cocción y remojo:** El análisis de varianza entre los niveles de cal a un tiempo constante de cocción y remojo sobre el ácido fítico y el hierro ionizable se muestran en la Tabla 5. Se observan diferencias significativas en todos los tratamientos y en todos los casos el F crítico fue menos que el experimental, y al calcular las regresiones lineales todos los casos presentaron una relación directa (Tabla 6). El ácido fítico de acuerdo a su estructura, tiene la capacidad de formar quelatos y ligar metales como el calcio (Ca+2) y hierro (Fe+3, Fe+2). Teóricamente, una molécula de fitato (aún de ácido fítico) tiene la capacidad de enlazar 6 moléculas de calcio; por lo que 0,364 mg de Ca+2 saturarían 1 mg de AF. Durante los diferentes tratamientos de nixtamalización, la cantidad de calcio que se detectaron es considerablemente mayor que la cantidad de ácido fítico presente en el grano, por lo que éste puede ser fácilmente saturado por el ion calcio, el cual ocupa todo los sitios activos del ácido fítico, evitándose así que el compuesto enlace al hierro y permita que éste esté libre para ser biodisponible. El ácido fítico en cereales está presente como un compuesto con 6 moléculas de fósforo que podrían intercambiarse con el calcio. La literatura reporta (4, 10) que los valores de fósforo durante el proceso de nixtamalización varían del grano original al nixtamal, sin embargo esto no es una evidencia total de que ese fósforo sea originario de ácido fítico. La primera respuesta sería por tanto, más real y como se mencionó anteriormente, serían varios los factores que inciden en la disminución del ácido fítico durante el proceso, ya que puede notarse que es en los mayores niveles de cal donde se presenta la mayor reducción del compuesto y el mayor incremento en el hierro ionizable.

**d. Efecto del remojo:** El tiempo de remojo fue una variable que no presentó algún efecto sobre las variables en estudio. En un

experimento preliminar se estudió el ácido fítico y el hierro ionizable en un proceso industrial y en un proceso casero tradicional, los cuales varían significativamente en su tiempo de remojo, ya que en el industrial por razones de costo y tiempo, no se tiene un tiempo de remojo, sino que el grano se somete a un proceso de nixtamalización continuo; mientras que en el proceso tradicional o casero, éste sí fue sometido a 12 hrs de reposo. Para representar esto en el estudio, se procesaron muestras de 0 horas de remojo y otras a 12 hrs. Para medir el efecto del tiempo de remojo sobre el contenido de ácido fítico y hierro ionizable se hizo un análisis de varianza entre estas variables. Resultados obtenidos no mostraron una diferencia significativa entre los tratamientos sin remojo y los tratamientos con remojo. Al tomar este parámetro como una variable del proceso, se esperaba que ésta tuviera un efecto significativo en los resultados, así como lo tiene en las características organolépticas del proceso. Teóricamente, se esperaba que en el proceso con tiempo de remojo los niveles de calcio y hierro ionizable fueran mucho mayores y que la reducción en ácido fítico fuera alta, dado que durante ese tiempo se permite suavizar más el grano, que éste desprenda más pericarpio y que la penetración de calcio sea mayor y, por lo que tanto, el contenido de ácido fítico sea más bajo.

**e. Relación de las variables independientes con el ácido fítico y hierro ionizable:** Para relacionar todas las variables independientes (tiempo de cocción, tiempo de remojo y nivel de cal) con el contenido de ácido fítico y hierro ionizable durante el proceso de nixtamalización se realizó un análisis estadístico en el cual a través del método de los mínimos cuadrados y el programa estadístico Excel se obtuvo una regresión múltiple que correlacionó todas las variables y además presentó el coeficiente de correlación y prueba F de los datos. Se obtuvo una recta en la que se asociaron las diferentes variables independientes con la dependiente (ácido fítico o hierro). Pudo notarse que las constantes correspondientes al tiempo de remojo en cada caso eran relativamente menores a las otras dos: la del tiempo de cocción y nivel de cal ( $0,0567 \ll 1,5$ ) en la ecuación del ácido fítico (AF) y ( $0,0006 \ll 0,003$ ) en la ecuación del hierro ionizable (Fei); por lo que su influencia en el resultado final (AF o Fei) no era detectable, sin embargo era directamente proporcional a las variables independientes. Por el contrario, las constantes del tiempo de cocción y nivel de cal eran similares y significativas en la predicción del valor de y. En el caso de la ecuación del ácido fítico ( $y = -1,5273 x_1 + 0,567x_2 - 1,3743x_3 + 1188,9841$ ), estas eran inversamente proporcionales y en el hierro ionizable (Fei) ( $y = 0,0035 x_1 + 0,0006 x_2 + 0,0030 x_3 + 0,617$ ) una relación directa. A través de los resultados y por medio de los coeficientes de correlación de cada uno de los grupos de datos ( $r_2 = 0,94$  y  $0,95 > 0,90$ ) se pudo determinar que existe una estrecha relación entre las variables independientes, el ácido fítico, y el hierro ionizable en cada uno de los casos y que estas influyen en el comportamiento de ambos factores. Al obtener en este análisis el estadístico F, se pudo definir y establecer que al ser el F experimental mayor que el crítico en ambos casos ( $90,6$  y  $118,9 > 3,10$  ( $0,05$ ) y  $4,94$  ( $0,01$ )) y a un nivel de confianza del 95 y 99 %, la ecuación lineal obtenida de la regresión múltiple es útil para predecir el comportamiento del ácido fítico y del hierro ionizable en el proceso de nixtamalización a un tiempo de cocción, un tiempo de remojo y un nivel de cal dado.

En lo que se refiere al porcentaje de absorción de hierro, se utilizó la ecuación propuesta por Narashing Rao y Prabhavathi (22) aceptando las limitaciones en su uso. Esta ecuación fue % hierro absorbido=

$0,4827 + 0,4707X$ . El promedio de hierro absorbido fue de 2,65 % para el maíz crudo, de 2,69 % para el maíz cocido sin el agregado de cal, de 2,95 % para el maíz cocido con 0,4 % de cal, de 3,24 % para la cocción con 0,8 % de cal y de 3,48 % cuando el maíz fue procesado con 1,2 % de cal. Esto representa un aumento en absorción del 24 % aproximadamente debido a la cocción con cal con la destrucción parcial del ácido fítico. Se ha indicado que el calcio podría interferir con la biodisponibilidad del hierro; sin embargo, éste aparentemente no ocurrió a los niveles de calcio presentes en el maíz nixtamalizado de este estudio, por lo que sería necesario analizar esa relación con maíz nixtamalizado con niveles de calcio arriba de 240 mg %, lo cual se lograría con una cocción con más de 1,2 % de cal y usando evaluaciones in vivo.

## CONCLUSIONES

Los resultados anteriores evidencian claramente la relación entre las variables estudiadas que se puede resumir de la siguiente forma:

- El contenido de ácido fítico disminuye significativamente durante el proceso de nixtamalización y esta reducción está afectada altamente por el tiempo de cocción y por el nivel de cal que se emplea durante el proceso. De la misma forma el hierro ionizable y el contenido de calcio aumentaron, con respecto al grano crudo a niveles altos de cal y tiempos altos de cocción.
- La cantidad de calcio presente durante el procesamiento es tan alta, comparada con la cantidad de ácido fítico existente en el maíz, que el compuesto fácilmente puede ser saturado con el ion calcio y formar así un quelato con el mismo, de tal forma que los sitios reactivos quedan ocupados y el hierro está libre para ser absorbido.
- El ácido fítico es inversamente proporcional al contenido de hierro disponible y al porcentaje de absorción del mismo. A medida que disminuye el contenido de ácido fítico presente en el nixtamal, aumenta la disponibilidad del hierro.
- El aumento de la disponibilidad de hierro en el grano nixtamalizado con respecto a la disponibilidad de hierro del grano crudo es mayor a niveles altos de cal y a tiempos mayores de cocción.
- Al contrario de lo anterior, el tiempo de remojo no presentó ningún efecto significativo sobre los resultados, aún cuando se esperaba que éste fuera un factor altamente incidente.
- El ácido fítico muestra una relación totalmente lineal con el tiempo de cocción y con el nivel de cal, ya que del análisis de regresión lineal se obtuvieron coeficientes de correlación mayores que 0,96. Puede agregarse que además de lo establecido anteriormente, es probable que existan otras fuentes, tanto de proceso como del grano en sí, que pueden influir en los resultados obtenidos y que deben estudiarse posteriormente para ampliar los conocimientos del proceso de nixtamalización y los beneficios que dicho proceso puede acarrear. Un ejemplo es que la fibra dietética puede ser factor adverso hacia la biodisponibilidad de los elementos, una correlación entre el contenido de ácido fítico y la fibra puede verificar dicho enunciado. Varios estudios (3,4,5) señalan que la fibra se reduce significativamente (hasta un 50 % del valor inicial) durante la transformación del grano a nixtamal, por lo que dicha reducción puede ser un factor, que al igual que la reducción del ácido fítico, influyen en la biodisponibilidad del hierro.

## REFERENCIAS

1. Bressani R. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Revs. Intl* 6:225-264 (A review), 1990.
2. Serna-Saldívar S.O., Gómez M.H. & Rooney L.W. The chemistry, technology and nutritional value of alkaline cooked corn products. *Adv. Cereal Chem & Technol* 10:243-307, 1990.
3. Bressani R., Benavides V., Acevedo E. & Ortíz M.A. Changes in selected nutrient content and in protein quality of normal and quality protein maize during tortilla preparation. *Cereal Chem.* 67:515-518, 1990.
4. Bressani R., Breuner M. & Ortíz M.A. Contenido de fibra ácido-detergente y minerales traza en maíz y en tortilla. *Arch. Lat. Amer. Nutr.* 39:382-391, 1989.
5. Reinhold J.G. & García J.S. Fiber of the maize tortilla. *Amer. J. Clin Nutr* 32:1326-1329, 1979.
6. Robles R.R., Murray E.D. & Paredes-López O. Physics chemical changes of maize starch during the lime-heat treatment for tortilla making. *Intl. J. Food Sci. & Tech.* 23:91-98, 1988.
7. Morad M.M., Iskander F.Y., Rooney L.W. & Earp C.F. Physico-chemical properties of alkali-cooked corn using traditional and pre-soaking procedures. *Cereal Chem.* 63:255-259, 1986.
8. Bressani R. & Scrimshaw N.S. Effect of lime treatment on in vitro availability of essential amino acids and solubility of protein fractions in corn. *J. Ag. Food Chem.* 6:774-778, 1958.
9. Ortega E.I., Villegas E. & Vasal J.K. A comparative study of protein changes in normal and quality protein maize during tortilla making. *Cereal Chem.* 63:446-451, 1986.
10. Bressani R., Paz y Paz R. & Scrimshaw N.S. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. *J. Agr. & Food Chem.* 6:770-778, 1958.
11. Martínez-Torres C., Taylor P., Leets I. Tropper E. & Ramírez J. Iron absorption from maize bread. *Food & Nutr Bull* 9(4):64-69, 1987.
12. García-López S. & Wyatt C.J. Effect of fiber in corn tortillas and cooked beans on iron availability. *J. Agr. Food Chem* 30:724-727, 1982.
13. Reihold J.G., García L.J.S. & Garzón P. Binding of iron by fiber of wheat and maize. *Amer J Clin Nutr* 34:1384-1391, 1981.
14. Wyatt C.J. & Triana-Tejas A. Soluble and insoluble Fe, Zn, Ca and Phytates in foods commonly consumed in Northern Mexico. *J. Agr. Food Chem.* 42:2204-2209, 1994.
15. Braham J.E. & Bressani R. Utilización del calcio del maíz tratado con cal. *Nutr Bromalt Toxicol* 5:14-19, 1966.
16. Poneros A.G. & Erdman Jr. J.W. Bioavailability of calcium from Tofu, Tortillas, Non-fat Dry Milk and Mozzarella cheese in rats. Effect of supplemental ascorbic acid. *J. Food Sci.* 53:208-210, 230, 1988.
17. Serna-Saldívar J.O., Rooney L.W. & Green L.W. Effect of lime-treated on the availability of calcium in diets of tortillas and beans. Rat growth and balance studies. *Cereal Chem.* 68:565-570, 1981.
18. O'Dell B.L., de Boland A.R., Kairyohann S.R. Distribution of phytate on nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J. Agr. Food Chem* 20:718-723, 1972.
19. Khan N., Zaman R. & Elahi M. Effect of heat treatment on the phytic acid content of maize products. *J. Sci. Food Agric.* 54:153-156, 1991.
20. Gómez-Aldapa C.A., Martínez-Bustos F., de D. Figueroa-Cárdenas J. & Ordorico-Falomir C.A. y González-Hernández J. Cambios en algunos componentes químicos y nutricionales durante la preparación de tortillas de maíz elaborado con harinas instantáneas obtenidas por extrusión continua. *Arch. Lat. Amer Nutr.* 46:315-319, 1996.
21. AOAC Official Methods of Analysis, 14th Ed. Arlington, VA, U.S. 1984.
22. Naragazinga Rao B.S. & Prabhavathi T. An in vitro method for predicting the bioavailability of iron in foods. *Amer. J. Clin. Nutr.* 31:169-175, 1978.
23. Haug W. & Lantzsch H-J. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agr.* 34:1423-1426, 1983.

Recibido: 27-11-1996

Aceptado: 19-06-1997

## Comportamiento microbiano y obstáculos en alimentos venezolanos de humedad intermedia

L. Elguezal, M. Daly, P. Navarro y M. E. Jreige

Dpto. Biología Aplicada, Tecnología de Alimentos. Instituto Universitario de Tecnología de Cumaná, Venezuela

**RESUMEN.** Se caracterizaron dieciséis Alimentos venezolanos de Humedad Intermedia (AHI) venezolanos de diferentes categorías, lácteos, cárnicos, marinos y de origen vegetal, tomando en cuenta, la actividad de agua, pH, humedad, acidez y humectantes utilizados. Paralelamente se estableció el perfil microbiano para cada AHI, siguiendo su evolución en función de las condiciones domésticas de almacenamiento y tiempo. Esta caracterización y comportamiento microbiano se relacionó con los obstáculos y nos permitió explicar los diferentes grados de estabilidad a temperatura ambiente de los AHI estudiados y sugerir mejoras que alarguen su vida útil. El valor del Aw, por sí solo, no es suficiente para garantizar la estabilidad del alimento si no es acompañado de un embalaje apropiado que limite las migraciones del agua, especialmente en nuestros países tropicales.

**SUMMARY.** Microbial comportment and hurdles in Venezuelan Intermediate Moisture Food. Sixteen Venezuelan IMF, dairy products, dry-salted fish products, meat products and vegetable products (specially fruit products) were characterized; water activity, pH, moisture, acidity and humectants were determined, allowing us to identify the main hurdles. Paralelly the microbial profile and her evolution for each IMF were established in function of time and storage conditions. This information permits us to explain the different stability comportments for our IMF; simple modifications that will increase their stability are suggested. Water activity is not enough as a hurdle if it is not accompanied by an appropriate packaging, specially in tropical countries, that would limit water migrations

### INTRODUCCION

En el lapso 1989-1992 se realizó en Iberoamérica, en el marco del programa Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), Subprograma Conservación de los Alimentos un inventario de los Alimentos de Humedad Intermedia (AHI) de la Región. La información requerida estribaba fundamentalmente en los valores de la actividad de agua (Aw), el pH, el contenido en agua, depresores de Aw utilizados, técnicas de preparación y costo como lo señala Aguilera et al. (1). Se entiende por AHI, de acuerdo a Multon (2), «aquellos alimentos de textura blanda que sufren uno o más tratamientos tecnológicos, que se conservan sin preparación previa y poseen estabilidad, sin necesidad de tratamientos térmicos, congelación o refrigeración, sino mediante el ajuste adecuado del pH, aditivos y principalmente su Aw, que se ubica aproximadamente entre 0,60 y 0,90». Como resultado de dicho inventario se registraron más de 300 productos diferentes como lo señala Welti et al. (3), estos productos fueron agrupados de acuerdo a su origen en diferentes categorías; frutícolas, lácteos, cárnicos, marinos y misceláneos, y en ellos se identifican los principales factores de estabilidad microbiana (obstáculos) tal como lo indica Tapia de Daza et al. (4). Este conjunto de factores de estabilidad se ubica en lo se, denomina Tecnología de Obstáculos de acuerdo a Leistner (5). Esta identificación y posterior clasificación en factores primarios y secundarios, los refieren para cada uno de los alimentos y categorías seleccionados, pero no los relacionan con el comportamiento microbiano de cada producto. Nuestro laboratorio participó y participa activamente en los programas de CYTED, Elguezal et al. (6), nuestra evaluación incluía información sobre la flora microbiana presente y su evolución durante el almacenamiento en condiciones tradicionales. Nuestro objetivo es el de relacionar el comportamiento microbiano de los AHI venezolanos estudiados en sus diferentes categorías y relacionarlos

con los factores de estabilidad identificados y tratar de explicar la vida útil de los mismos.

### MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron cuatro categorías de alimentos; Cárnicos (Jamón serrano, chorizo ahumado y cochino salpreso), Marinos secosalados [Lamparosa (*Vomer setapiris*), Roncador (*Microphaga furnieri*), Merluza (*Merluccius albidus*)], Lácteos (Queso fundido sucedáneo, Queso fundido y una crema achocolatada) y Azucarados (dulce de toronja, dulce de papaya, dulce de batata, jalea de guayaba, pulpa de tamarindo, bola de cacao y gofio). Estos productos, tres lotes, se adquirieron en el mercado local, en el momento de su llegada al punto de venta y se analizaron por duplicado en el momento de la compra y después de almacenarse a temperatura ambiente por lapsos de diferente duración (10-15 y 20 días) según las características de cada producto (incluido el tipo de embalaje).

**Análisis físico-químicos:** La Actividad de agua (Aw) se determinó por el método higrométrico (Lufft-Aw-messer, Stuttgart, Alemania) y punto de rocío (DECAGON CX-1, Devices Corporation); pH: con un pHmetro ORION CX-50, previamente calibrado a 4 y 7; Humedad: mediante el método gravimétrico, en estufa MEMMERT, a 100 °C 1 °C hasta peso constante en desecador; Azúcares Totales: método de Felhing; Cloruro: método de Mohr; Acidez: por titulación con NaOH 0,1N con fenoltaleina como indicador. Todas las pruebas se realizaron por duplicado para tres muestras diferentes, estableciéndose el perfil inicial para cada producto.

**Análisis microbiológico:** De acuerdo a las particularidades de cada producto se realizaron las siguientes determinaciones, siempre por duplicado en dos muestras por producto para cada tiempo de

almacenamiento: Aerobios Mesófilos (Agar para recuento, 30 °C x 48 horas), Mohos y Levaduras (Agar patata dextrosa, acidificado con ac. tartárico, 25 °C x 2-5 días) en estufa refrigerada UWR modelo 200S, Staphylococcus (Agar Baid Parker, 37 °C x 24-48 h.), *Clostridium* Sulfito-reductores (Agar Sulfito polimixina sulfadiazina, 37 °C x 24 h.), Coliformes totales (Agar bilis violeta rojo neutro, 37 °C x 24 h.), *Salmonella* (Enriquecimiento en caldo selenito cistina, 37 °C x 24 h. y Aislamiento en Agar S-S, 37 °C x 24 h.), Halófilos (Agar peptona extracto de carne con 7,5% de NaCl), esporulados totales aerobios y anaerobios (Mesófilos y Termófilos) a 37 °C y 55 °C por 24-48 h., previa activación térmica a 100 °C x 5 minutos en Agar dextrosa Triptona púrpura de bromocresol y caldo trioglicolato con tapón de parafina respectivamente. Al agua peptonada utilizada como diluyente se le agregó sacarosa (4 %) o NaCl (2 %) para limitar el shock osmótico. También se practicó una revivificación a 20 °C, por 30 minutos, con la excepción de los análisis de las formas esporuladas.

### RESULTADOS Y DISCUSION

En las Tablas 1 y 2 se observa que desde la óptica del  $A_w$ , existe un grupo de doce alimentos con valores inferiores a 0,77, la cual es

limitante para la mayoría de los microorganismos, excepción hecha de levaduras osmófilas, mohos xerófilos y limitadas bacterias halófilas según señala ICMSF (7). En este grupo de AHI se ubican los tres productos marinos y uno cárnico conservados por saturación salina, pero con valores de pH cercanos a la neutralidad; los productos azucarados (siete), especialmente los frutícolas con pH ácido o muy ácido que va desde 2,60 hasta 5,10 y uno de los productos lácteo con pH de 6,90. Los cuatro AHI restantes ubican su  $A_w$  entre 0,88 y 0,96, escapando así algunos de ellos a la definición formal de AHI anteriormente citada; con excepción del jamón tipo serrano y el chorizo ahumado que presentan Nitrito y ahumado como sustancias antimicrobianas respectivamente, los restantes AHI carecen de aditivos. Cinco de los siete AHI azucarados sufren algún tipo de tratamiento térmico (cocción) al igual que los tres lácteos (temperatura de pasteurización); ni los productos cárnicos ni los productos marinos reciben algún tipo de tratamiento térmico. La mayoría de los productos marinos y cárnicos no presentan embalaje, excepción del chorizo embutido en tripa natural, en cambio todos los AHI lácteos y la mayoría de los azucarados (6/7) poseen algún tipo de embalaje o envasado, no necesariamente hermético (vidrio, plástico, celofán, etc).

TABLA 1  
Perfil físico-químico para AHI venezolanos

Tipo	Producto	$A_w$	pH	H <sub>2</sub> O	Az Tot	Acidez (g.Ac.Cit/ 100g Prod)	NaCl
Azucarados	Dulce de batata	0,74	5,20	20,40	51,00	0,22	
	Dulce de toronja	0,77	4,30	21,80	50,80	1,06	
	Dulce de papaya	0,77	5,00	18,20	54,42	0,39	
	Golfo	0,71	5,10	18,80	46,50	0,26	
	Jalea de guayaba	0,74	3,40	21,40	27,72	0,55	
	Pulpa de tamarindo	0,64	2,60	19,60	26,48	1,25	
	Bola de cacao	0,74	4,80	9,30	12,79	0,28	
Cárnicos	Jamón serrano	0,88	6,30	47,34	-	-	8,86
	Chorizo ahumado	0,92	6,80	37,19	-	-	3,50
	Cochino salpreso	0,74	6,40	45,38	-	-	14,63
Lácteos	Crema achocolatada	0,74	6,90	19,30	26,01	-	-
	Queso fundido	0,96	6,40	38,76	-	-	1,04
	Queso fundido sucedáneo	0,94	5,60	52,77	5,60	-	2,17
Marinos	Lamparosa	0,75	6,90	46,50	-	-	17,80
	Roncador	0,74	7,40	47,50	-	-	16,50
	Merluza	0,75	7,50	46,80	-	-	19,70

(-) no se realiza

TABLA 2  
Factores importantes de conservación en AHI venezolanos

Tipo	Producto	Aw	pH	Factores Conservación				OBS. IMP.			Observación	Elaboración
				A	TT	TA	FC	Emb.	Irios.	2rios		
Azucarados	Dulce de batata	0,74	5,20	Neg	+	Amb	Neg	Celofán	Aw	pH, Tc, Emb.	Estable	Artisanal
	Dulce de toronja	0,77	4,30	Neg	+	Amb	Neg	Vidrio	Aw-pH	pH, Tc, Emb.	Muy estable	Artisanal
	Dulce de papaya	0,77	4,30	Neg	+	Amb	Neg	Vidrio	Aw	pH, Tc, Emb.	Muy estable	Artisanal
	Gofio	0,71	5,10	Neg	+	Amb	Neg	Celofán	Aw	pH, Tc, Emb.	Estable	Artisanal
	Jalea de guayaba	0,74	3,40	Neg	+	Amb	Neg	Celofán	Aw-pH	TT, Emb.	Estable	Artisanal
	Pulpa de tamarindo	0,64	2,60	Neg	Neg	Amb	Neg	Celofán	Aw-pH	Emb.	Estable	Artisanal
	Bola de cacao	0,74	4,80	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw-pH	-	Muy estable	Artisanal
Cárnicos	Jamón serrano	0,88	6,30	Nit	Neg	Amb	Nat	Neg	Aw	Nit	Estable	Industrial
	Chorizo ahumado	0,92	6,80	Ahu	Neg	Amb	Neg	Tripa	Aw	Ahum.	Poco estable	Artisanal
	Cochino salpreso	0,74	6,40	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw	-	Poco estable	Artisanal
Lácteos	Crema achocolatada	0,74	6,90	Neg	+	Amb	Neg	Plast	Aw	TT, Emb	Muy estable	Industrial
	Queso fundido	0,96	6,40	Neg	+	Amb	Neg	Vidrio	Aw	TT, Emb	Muy estable	Industrial
	Queso fundido sucedáneo	0,94	5,60	Neg	+	Amb	Neg	Vidrio	Aw	TT, Emb	Muy estable	Industrial
Marinos	Lamparosa	0,75	6,90	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw	-	Poco estable	Artisanal
	Roncador	0,74	7,40	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw	-	Poco estable	Artisanal
	Merluza	0,75	7,50	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw	-	Poco estable	Artisanal

A=Antimicrobiano; TT=Tratamiento o cocción; TA=T. Almacén; FC=Flora competitiva; Emb.= Embalaje  
Muy estable= más de 3 meses; Estable= 15 días-3 meses; Poco estable= Menos de 15 días.

En particular los AHI azucarados presentan una gran estabilidad debido entre otras cosas a valores bajos de Aw acompañados en todos los casos de pH ácidos o muy ácidos, los cuales, además, reciben un tratamiento de cocción durante su elaboración que conjuntamente con el embalaje, siendo su vida de anaquel, a temperatura ambiente superior a los productos cárnicos y marinos. La flora aerobia mesófila (Tabla 3) al igual que la acidófila y las esporas totales permanecen con recuentos muy bajos durante los lapsos estudiados, excepción de las esporas del producto Bola de Cacao que presenta un número medianamente alto de  $2,9 \times 10^4$  a  $1,1 \times 10^4$  esporas totales por gramo, hecho atribuible a su composición básicamente farinácea. La flora micótica se mantiene prácticamente constante ( $10^2 \rightarrow 10^6$  por gramo) o con incrementos muy importantes como en dulce de papaya ( $10^2$ ;  $10^3$  por gramo) y leves para dulce de toronja y batata ( $10^4 \rightarrow 10^5$  y  $10^5 \rightarrow 10^7$ ) para un tiempo de almacenamiento de 20 días.

Al observar la Tabla 4 y relacionarla con las Tablas 1 y 2, se corrobora que la mayoría de los productos marinos y cárnicos a pesar de poseer los Aw más bajos (0,74-0,75) y las concentraciones más altas de sal (14-19%) similares a las reportadas por Gómez y Fernández Salguero (8), y Fernández Salguero (9) para productos marinos y cárnicos españoles, presentan baja estabilidad; nuestros alimentos, crudos, con exceso de sal, sin embalaje alguno, almacenados a temperatura ambiente, manipulados y distribuidos deficientemente son definitivamente poco estables, deteriorándose rápidamente, con la excepción del jamón serrano el cual con un Aw de 0,88 presentó mayor estabilidad que sus análogos cárnicos o marinos, aquí el nitrito como aditivo y la flora competitiva natural obviamente juegan un rol importante, como obstáculos secundarios.

TABLA 3  
Resultados microbianos en AHI azucarados

Vegetales	Días	Aero. Mesófil/g	Mohos- Lev/g	Esp.Tot/g	Acidófilos/ g
Dulce de papaya	1	$10^2$	$2,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	-
	10	$7,3 \times 10^2$	$9,8 \times 10^2$	$2,2 \times 10^2$	-
	20	$1,6 \times 10^3$	$1,5 \times 10^6$	$2,8 \times 10^3$	-
Dulce de toronja	1	$10^2$	$9,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^2$	-
	10	$1,3 \times 10^2$	$9,6 \times 10^4$	$1,3 \times 10^2$	-
	20	$3,0 \times 10^2$	$1,8 \times 10^5$	$2,5 \times 10^2$	-
Jalea de guayaba	1	$5,0 \times 10^2$	$7,2 \times 10^2$	-	4,10
	16	$1,9 \times 10^2$	$6,4 \times 10^2$	-	2,10
Pulpa de tamarindo	1	$3,8 \times 10^2$	$2,0 \times 10^3$	-	$9,2 \times 10^2$
	16	$2,3 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$	-	$4,5 \times 10^2$
Bola de cacao	1	$1,4 \times 10^4$	$3,4 \times 10^3$	$2,9 \times 10^4$	-
	16	$6,0 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	-
Dulce de batata	1	$3,0 \times 10^2$	$8,9 \times 10^5$	$8,5 \times 10$	-
	10	$3,9 \times 10^2$	$1,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^2$	-
	20	$6,4 \times 10^2$	$1,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^2$	-
Gofio	1	8x10	$5,2 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$	-
	10	$1,2 \times 10^2$	$6,7 \times 10^3$	$1,9 \times 10^2$	-
	20	$2,1 \times 10^2$	$8,2 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$	-

(-) no se realiza

TABLA 4  
Resultados microbianos en AHI de origen animal

TIPO	Producto	Días	Aer.Mes /g	Mohos y Lev./g	Salmonella/25 g	Clostridium SR/g	Staphylococcus/g	Col. Tot./g	Halófilos/g	Esp.Tot/g
Cármicos	Chorizo ahumado	1	5,3x10 <sup>5</sup>	9,0x10 <sup>2</sup>	Aus.	<10	<10 <sup>2</sup>	<10	-	-
		15	6,8x10 <sup>7</sup>	1,5x10 <sup>3</sup>	Aus.	<10	<10 <sup>2</sup>	<10	-	-
	Jamón Serrano	1	6,2x10 <sup>5</sup>	<10 <sup>2</sup>	Aus.	<10	2,5x10 <sup>3</sup>	<10	-	-
		15	3,0x10 <sup>7</sup>	<10 <sup>2</sup>	Aus.	<10	1,1x10 <sup>4</sup>	<10	-	-
	Cochino Salpreso Lamparosa	1	6,2x10 <sup>5</sup>	2,0x10 <sup>2</sup>	Aus.	<10	<10 <sup>2</sup>	<10	-	-
		15	3,4x10 <sup>5</sup>	5,0x10 <sup>4</sup>	Aus.	<10	<10 <sup>2</sup>	<10	-	-
		1	2,8x10 <sup>3</sup>	3,0x10 <sup>4</sup>	Aus.	102	<10 <sup>2</sup>	-	6,8x10 <sup>4</sup>	-
Marinos	Roncador	1	2,3x10 <sup>3</sup>	<10 <sup>2</sup>	Aus.	<10	<10 <sup>2</sup>	-	7,2x10 <sup>4</sup>	-
		15	4,8x10 <sup>2</sup>	5,10 <sup>2</sup>	Aus.	102	<10 <sup>2</sup>	-	2,6x10 <sup>4</sup>	-
	Merluza	1	10 <sup>5</sup>	3x10 <sup>3</sup>	Aus.	102	<10 <sup>2</sup>	-	>3x10 <sup>5</sup>	-
		15	10 <sup>4</sup>	3x10 <sup>3</sup>	Aus.	4x10	<10 <sup>2</sup>	-	>3x10 <sup>5</sup>	-
	Crema Achocolatada	1	9,0x10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	Aus.	4x10	<10 <sup>2</sup>	-	>3x10 <sup>5</sup>	-
		1	3,6x10 <sup>4</sup>	7,8x10 <sup>3</sup>	-	-	<10 <sup>2</sup>	-	-	6,5x10 <sup>3</sup>
		10	7,4x10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	-	-	<10 <sup>2</sup>	-	-	1,1x10 <sup>4</sup>
Lácteos	Queso Fundido	20	7,4x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>4</sup>	-	-	<10 <sup>2</sup>	-	-	1,2x10 <sup>4</sup>
		1	1,5x10 <sup>2</sup>	<10 <sup>2</sup>	-	-	2,5x10 <sup>2</sup>	-	-	3,0x10 <sup>2</sup>
		10	1,2x10 <sup>3</sup>	3x10 <sup>2</sup>	-	-	2,5x10 <sup>2</sup>	-	-	3,9x10 <sup>2</sup>
	Queso Fundido Sucedáneo	20	2,9x10 <sup>3</sup>	7x10 <sup>2</sup>	-	-	6,0x10 <sup>3</sup>	-	-	3,9x10 <sup>2</sup>
		1	2,0x10 <sup>6</sup>	2x10 <sup>2</sup>	-	-	3x10 <sup>4</sup>	-	-	1,3x10 <sup>3</sup>
		10	3,8x10 <sup>3</sup>	2x10 <sup>2</sup>	-	-	3x10 <sup>4</sup>	-	-	3,9x10 <sup>2</sup>
32	3,5x10 <sup>3</sup>	<10 <sup>2</sup>	-	-	3x10 <sup>2</sup>	-	-	10 <sup>3</sup>		

(-) no se realiza

A pesar de esto, los muestreos microbianos no indican presencia de flora toxi-infecciosa tipo *Salmonella spp.* o *Staphylococcus aureus*, por cuanto su Aw (0,74) está alejado de los Aw mínimos de crecimiento para cada uno de estos, siendo 0,94 y 0,86 respectivamente los Aw mínimos de acuerdo a Troller (10). Los valores del pH encontrados en estos productos no contribuyen en la inhibición bacteriana. La única flora resaltante es la halófila que fluctúa entre  $2,6 \times 10^4/g$  y  $> 3 \times 10^5/g$  en los productos marinos. La excepción en referencia a microorganismos potencialmente toxinógenos presentes, se observa en el jamón serrano con un número de *Staphylococcus aureus* que se incrementa en casi un ciclo log en 15 días, aunque de acuerdo con Troller (11, 12), no existe riesgo de formación de enterotoxina estafilococcica por debajo de Aw 0,91. Tampoco hay presencia de *Clostridium* sulfitorreductores, ni de indicadores de contaminación. En general estos productos con Aw tan bajos podrían tener una vida útil mayor si se les embalsase apropiadamente, restringiéndose la migración interdiaria, interna y externa que influye sobre el Aw como destaca Mossel (13), problema este que se agudiza para los productos en países tropicales tal como lo indica Quast y Texeira (14).

Los productos lácteos evaluados: crema achocolatada, queso fundido y sucedáneo de queso fundido presentan respectivamente Aw de 0,74, 0,96 y 0,94, uno en el rango contemplado definido de AHI (0,70-0,90) y dos superiores a 0,90, con pH no limitantes para el crecimiento microbiano, sin aditivos, almacenados a temperatura ambiente, envasados apropiadamente, resultando ser productos estables, con presencia de esporas totales, en números estables en los quesos fundidos, y con un incremento leve en la crema achocolatada (1/2 ciclo log) en 20 días. Igualmente, un ligero incremento de mohos en la crema achocolatada y estabilidad en el número de mohos en ambos quesos fundidos. Presencia de *Staphylococcus aureus*, en ambos quesos e incremento de más de un ciclo log en el queso

fundido, al cabo de veinte días de almacenamiento, aunque en número inferior al señalado para producir niveles de enterotoxinas significativos de acuerdo a Troller (10, 11, 12), pero potencialmente peligroso para almacenamientos más prolongados.

Los cinco AHI menos estables de acuerdo al los valores de la Tabla 2 tienen en común ausencia de algún tipo de embalaje y cuatro de cinco presentan la Aw como único obstáculo importante y ningún obstáculo secundario. Contrariamente los seis AHI de mayor estabilidad tienen en común la Aw sola o combinada con el pH, como obstáculos primarios, y dos o más obstáculos secundarios, con la excepción del producto Bola de Cacao que no presenta obstáculos secundarios.

Como conclusión podemos señalar que la actividad de agua, como obstáculo microbiano, corresponde a un concepto dinámico, por lo tanto puede variar dependiendo del ambiente en el cual se ubica el alimento, especialmente la Humedad Relativa Ambiental (HRA) y la temperatura del almacenamiento, por ello es necesario interponer barreras entre el alimento y su entorno que restrinjan dicho intercambio, tipo películas plásticas o equivalentes o controlar ambas variables, HRA y T en el almacén, esta propuesta de modificación iría en contra del almacenamiento a temperatura ambiente definida para los AHI. Algunos de nuestros AHI pudieran clasificarse como alimentos autoestables tipo Aw y otros simplemente como alimentos autoestables tipo Métodos Combinados, en estos últimos son varios los factores que participan en su estabilidad, Aw, pH, TT y embalaje de acuerdo a los postulados de Leistner (5, 15). Para Sofos (16) un sistema dinámico de conservación de alimentos será exitoso cuando su efecto total es inhibitorio de la proliferación microbiana durante la vida útil del alimento.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al programa CYTED-D y sus coordinadores el apoyo brindado. Igualmente al SIAT del I.U.T. Cumaná el soporte financiero, y de la misma manera al Prof. Hernani Gabor.

### REFERENCIAS

1. Aguilera J. M., Chirife J., Tapia de Daza M., Welti J. y Parada E. Inventario de Productos de Humedad Intermedia en Iberoamérica. CYTED-D, México. Ins. Polit. Nacional. 1990
2. Multon J. L. L'état actuel des travaux de la commission «Aliments a Humidité Intermediaire» du CNERMA. Ind. Alim. Agric. 98:291. 1981
3. Welti J., Tapia de Daza M., Aguilera J. M., Chirife J., Parada E., López Malo A., López L. y Corte P. Clasificación de AHI consumidos en Iberoamérica. Rev. Esp. Cienc. Tecn. Alim. 34(1):53-63. 1994
4. Tapia de Daza M., Aguilera J. M., Chirife J., Parada E. y Welti J. Identification of microbial stability factors in traditional foods from Iberoamérica. Rev. Esp. Cienc. Tecn. Alim. 34(2):145-163. 1994
5. Leistner L. Shelf stable products and intermediate moisture food based on meat. In L.B. Rockland and L.R. Beuchat (Eds). Water activity: Theory and applications to food. New York. Marcel Decker Inc., pp. 295-337. 1987
6. Elguezabal L., Navarro P., Daly M., Chirinos C., Blohm N., Jreige M. y Hoyos G. Caracterización proximal y perfil microbiano de 68 productos de Aw modificado distribuidos en el Estado Sucre, Venezuela. Memorias CICTA-3. La Habana, Cuba. pp. 1113-1115. 1992
7. ICMSF. Ecología microbiana de Alimentos. Ed. ACRIBIA, Zaragoza, España. 1980
8. Gómez R. y Fernández-Salguero J. Water activity of spanish intermediate moisture fish products. Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Alim., 33(6):651-656. 1993
9. Fernández-Salguero J. Conservación de Productos Cárnicos por aplicación de método combinados. Productos españoles de humedad intermedia y alta. Rev. Esp. Cienc. Tecn. Alim. 35 (3) pp 233 - 246. 1995.
10. Troller J. A. Effect of water activity on enterotoxin B production and growth of *S. aureus*. Appl. Microbiol., 21:435-439. 1971
11. Troller J. A. Effect of water activity on enterotoxin A production and growth of *S. aureus*. Appl. Microbiol., 24:440-443. 1972
12. Troller J.A. The water relations of food borne bacterial pathogens. A review, Journ. Milk. Food Techn., 36:276-288. 1973
13. Mossel D.A. Water and microorganism in food. A synthesis in «Water relations of food». Dockworth, R. B., Ed. Acad. Press, Londres, 347-361. 1976
14. Quast D.G. & Texeira N. Moisture problems of foods in tropical climates. Food Technol., 30:98-105. 1976
15. Leistner L. Food Preservation by combined methods. Food Res. International, 25:151-158. 1992
16. Sofos J.N. Current microbiological considerations in foods preservation. Int. Journ. of Food Microbiology. 19:87-108. 1993

Recibido: 26-02-1996

Aceptado: 13-05-1997

## Envejecimiento del pan. Efecto combinado de $\alpha$ -amilasa bacteriana y emulsificante en la textura y en las características amilográficas de la miga

María Victoria Eiras Grossmann<sup>1</sup>, y Carmen Benedito de Barber<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Se estudió el efecto simultáneo de una  $\alpha$ -amilasa bacteriana y de un emulsificante (monoglicérido) en la textura y en las características amilográficas de la miga del pan, durante el almacenamiento. Los panes que contenían esos aditivos endurecieron menos y más lentamente que el control. Tanto la enzima como el emulsificante afectaron significativamente la textura, pero el emulsificante disminuyó el efecto anti-envejecimiento de la enzima. Esta acción reguladora del emulgente también fue observada en las características amilográficas de la miga (viscosidad en el pico, viscosidad a 50 °C y «setback»).

**SUMMARY.** Bread staling. Simultaneous effect of bacterial  $\alpha$ -amylase and emulsifier on firmness and pasting properties of bread crumb. The effect of bacterial  $\alpha$ -amylase and an emulsifier on firmness and amylograph characteristics of bread crumb during storage was studied. The bread which contained these additives was less firm and staled more slowly than the control. The enzyme and the emulsifier retarded firmness but the emulsifier inhibited the action of the  $\alpha$ -amylase. The regulatory action of the emulsifier also was observed on amylograph characteristics of bread crumb (peak viscosity, cool viscosity and setback).

### INTRODUCCION

El envejecimiento del pan es un fenómeno complejo, todavía no bien explicado, y que envuelve todas las modificaciones, excepto microbiológicas, que ocurren a partir de la salida del pan del horno. La velocidad en que se da depende de varios factores, incluyendo la formulación, el proceso de panificación y las condiciones de almacenamiento (1). La mayor parte de los estudios hechos al respecto del envejecimiento del pan apuntan la retrogradación del almidón como principal responsable por este fenómeno (2,3).

Más recientemente, el papel de la retrogradación del almidón en el endurecimiento del pan ha sido cuestionado. Dragsdorf y Varriano-Marston (4), a través de estudios de difracción de rayos X demostraron que no había correlación entre la retrogradación del almidón y el envejecimiento del pan y propusieron que este ocurría debido a una interacción entre almidón y proteínas. Las investigaciones realizadas empleando calorimetría diferencial de barradura también refuerzan esa constatación (5). Martin et al (6) y Martin y Hosney (7) propusieron un mecanismo que explica el endurecimiento del pan a través de la interacción almidón-proteína. De cualquier manera, tanto la retrogradación como la interacción proteína-almidón son afectadas por modificaciones causadas a este último.

Uno de los métodos más empleados en la industria para retardar el envejecimiento del pan es la adición de emulsificantes (8). Los estudios sobre la funcionalidad de los emulsificantes como agentes anti-envejecimiento destacan modificaciones en la viscosidad de suspensiones de almidón y la habilidad de complejar con la amilosa. Morad & D'Appolonia (9) estudiaron el efecto de emulsificantes en las propiedades de pasta de la miga de pan, en diferentes tiempos de

almacenamiento, y constataron aumento de la temperatura de pasta y de la viscosidad a 50 °C. Xu et al (10) también estudiaron la correlación entre acción de emulsificantes, características de la miga y endurecimiento del pan.

Las  $\alpha$ -amilasas (de cereales, fúngicas o bacterianas) también pueden ser empleadas para retardar el envejecimiento del pan pues, al degradar el almidón, afectan su capacidad de interacción.

La disminución de la velocidad de endurecimiento del pan con el uso de  $\alpha$ -amilasas bacterianas fue descrita por Dragsdorf y Varriano-Marston (4).

Lin y Lineback (3) suplementaron panes con alfa-amilasa bacteriana, con la finalidad de caracterizar los carbohidratos formados por degradación del almidón. Verificaron que se forman principalmente polímeros de bajo peso molecular y con cadena ramificada que, de alguna manera, interfieren en el proceso de envejecimiento del pan, aumentando su vida útil.

Frente a estas nuevas proposiciones, el objetivo de este trabajo fue investigar el efecto combinado de  $\alpha$ -amilasa bacteriana y emulsificante en la textura del pan y en las propiedades amilográficas de la miga, después de un tiempo de almacenamiento

### MATERIALES Y METODOS

**Materiales:** En la elaboración de los panes se utilizó harina de trigo comercial (humedad= 14,14%; características alveográficas; W=334.10<sup>3</sup> ergios; P/L=1,15) y levadura fresca. Los aditivos empleados fueron la enzima comercial Ceremyl 15.000 MG (amilasa bacteriana, mezcla de  $\alpha$ -amilasa y pululanasa de Novo Nordisk, Dinamarca) y el monoestearato de glicerina (Mosa Alimentaria S.A., España), como emulsificante.

### Método:

**Elaboración de los panes:** Se utilizó el proceso de masa directa para la elaboración de pan tipo francés, según la formulación presentada en la Tabla 1. La concentración de enzima (E) y emulsificante

1. Universidad Estadual de Londrina, Cx, Postal 6001 Londrina Brasil.  
2. Laboratorio de Cereales del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Valencia, España

(Em) adicionada en cada ensayo varió de acuerdo con el diseño experimental. Esas concentraciones fueron determinadas de acuerdo a las recomendaciones del fabricante, para la enzima, y a las cantidades más usuales, para el emulsificante. En el control no se empleó estos aditivos.

Después de horneadas, los panes se enfriaron a temperatura ambiente, por 1 h, se envasaron en bolsas de polipropileno coextrusionado biorientado, y se almacenaron a  $25 \pm 1$  °C. Antes de envasar, los panes fueron rociados externamente con etanol al 70%, para prevenir la proliferación microbiana.

TABLA 1  
Formulación de los panes

Ingredientes	% <sup>a</sup>
Harina	100,0
Levadura fresca	2,5
Sal	2,0
Agua <sup>b</sup>	57,5
$\alpha$ -amilasa	variable <sup>c</sup>
Emulsificante	variable <sup>c</sup>

a- en relación a la harina

b- de acuerdo con la determinación en el Farinógrafo

c- de acuerdo con el diseño experimental

Tiempo de amasado: 17 min

Fermentación en masa: hasta un incremento de vol. de 2, a 28 °C, 80 % H.R.

División: en porciones de 100g

Descanso intermedio: 10 min

Moldaje: mecánico

Fermentación en tablas: hasta un incremento de 2,28 °C, 80 % H.R.

Cocción: 23 min a 200 °C

**Textura de los panes:** En los días 0, 1, 3, 5 y 7 de almacenamiento, tres panes de cada ensayo fueron cortado en rebanadas de 2 cm. de espesor y las medidas de textura se hicieron en las 2 rodajas centrales. Se utilizó una prensa Instron (Instron Food Testing Machine, mod. 1140, Inglaterra) con un cabezal de 500-5000 g, velocidad de descenso del émbolo: 100 mm/min., diámetro del émbolo: 17 mm, velocidad del papel: 200 mm/min y distintas sensibilidades, en función de la muestra y del tiempo de almacenamiento. Se consideró como consistencia la fuerza (g) requerida para comprimir la rebanada hasta 0,5 cm de espesor (75%), medida en la altura de la curva de compresión.

**Características amilográficas de la miga:** Para determinar las características amilográficas de la miga de los panes almacenados durante 7 días, se removió la corteza de los panes y la miga fue liofilizada y molida para pasar en cedazo de 60 mesh. Los ensayos fueron realizados en amilógrafo Brabender (modelo Sew, Duisburg, Alemania), empleando 70 g de miga y 435 ml de agua. Se adicionó 15 ml de solución 25  $\mu$ M de AgNO<sub>3</sub> para eliminar cualquier posible actividad amilolítica residual (11).

Los parámetros evaluados fueron: viscosidad máxima en el ciclo de calentamiento (VM), viscosidad a 50 °C en el enfriamiento (V-50) y «setback» (diferencia entre la viscosidad a 50 °C y la viscosidad al final del ciclo de temperatura constante).

**Diseño estadístico:** La formulación de los panes siguió un

diseño factorial completo ( $2^3$ ), siendo el experimento totalmente al azar. Las variables y sus niveles son presentados en la Tabla 2. Los datos obtenidos para cada variable dependiente fueron tratados por análisis de regresión múltiple, según el programa SAS (12).

TABLA 2  
Concentraciones de enzima y emulsificante empleados en la formulación de los panes

Aditivo	Concentración		
	-1	0	1
Enzima (ppm) <sup>a</sup>	50 (75NU) <sup>b</sup>	75 (112,5NU) <sup>b</sup>	100 (150NU) <sup>b</sup>
Emulsificante (%) <sup>a</sup>	0,0	0,5	1,0

a En relación al peso de harina

b NU= Unidades Novo de alfa-amilasa= cantidad de enzima que degrada 5,26 mg de almidón soluble por hora, a 37 °C, pH 5,6 de acuerdo con Novo-Nordisk, Dinamarca

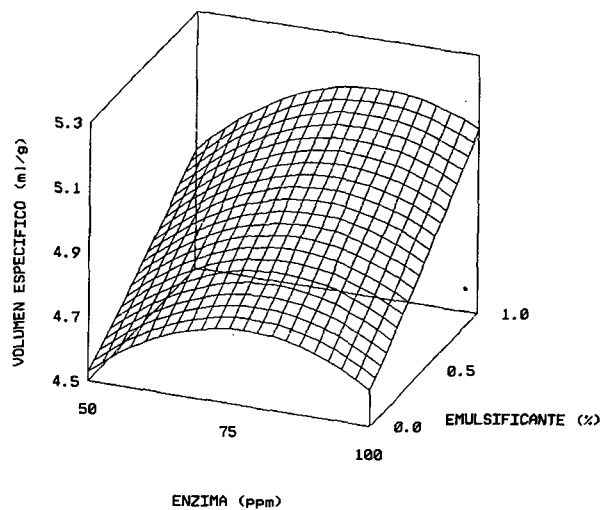
## RESULTADOS Y DISCUSION

**Volumen específico:** Mientras el pan control (sin los aditivos) presentó un volumen específico de 4,19 ml/g, todas las muestras con aditivos tuvieron valores superiores a 4,50 ml/g ( $p < 0.05$ ).

El volumen específico fue influenciado solamente por el efecto lineal de la concentración del emulsificante (Em) como se observa en la Tabla 3. En la gráfica (Figura 1) generada a partir del modelo de regresión ajustado a los datos experimentales (Tabla 3) se observa que el volumen específico aumentó con el aumento de la concentración de Em.

FIGURA 1

Volumen específico de los panes, en función de la concentración de enzima y emulsificante



**TABLA 3**  
Coeficientes<sup>a</sup> de la ecuación de regresión para las variables respuesta

	Volumen específico	Textura 7 <sup>o</sup> día	Viscosidad máxima	Viscosidad «Setback» a 50 °C
Intercepto	4,92	2363,42	161,36	308,95
Enzima	n.s.	265,33 <sup>a,b</sup>	86,67 <sup>***b</sup>	-180,00 <sup>***</sup>
Emulsificante	0,20*	327,67*	n.s.	80,00*
Enzima x enzima	n.s.	n.s.	46,58 <sup>**b</sup>	n.s.
Emulsifi. x Emulsif.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Enzima x emulsif..	n.s.	n.s.	23,75 <sup>**</sup>	n.s.
R <sup>2</sup>	0,7625	0,8136	0,9855	0,9155

a De las variables codificadas  
b \*\*\*, \*\*, \*, significativos a P < 0,001, P < 0,01, y P < 0,05, respectivamente  
c No significativo a P < 0,05

Respecto a la acción de α-amilasa, esta no influyó el volumen. Kuracina et al (11) encontraron que este aumentaba con la adición de la enzima. Probablemente la discrepancia se explica en función de los diferentes niveles de enzima empleados.

Los resultados de volumen específico no presentaron correlación con la textura de los panes (Tabla 4). Valjakka et al (18) tampoco observaron efecto de α-amilasa, bacteriana sobre el volumen específico ni correlación de este con la consistencia.

**TABLA 4**  
Correlación entre textura de los panes con 7 días de almacenamiento y otras variables

Coeficientes de Correlación (r)	
Consistencia x	
Volumen específico	0,471
Parámetros amilográficos	
Viscosidad máxima	0,864 <sup>***</sup>
Viscosidad a 50 °C	0,904 <sup>***</sup>
«Setback»	0,906 <sup>***</sup>

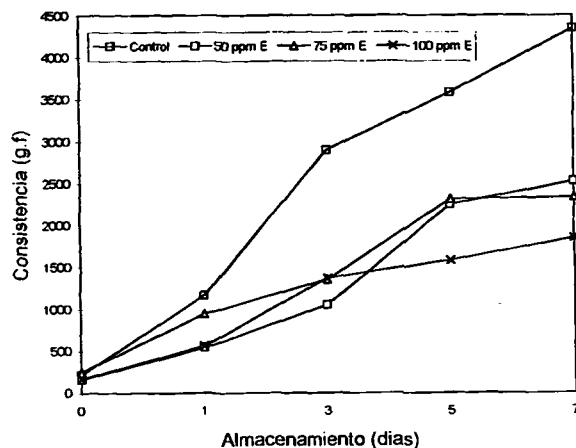
\*\*\* Significativo a P < 0,001

**Textura de los panes:** Tanto E como Em afectaron la textura de los panes durante el almacenamiento (Tabla 3).

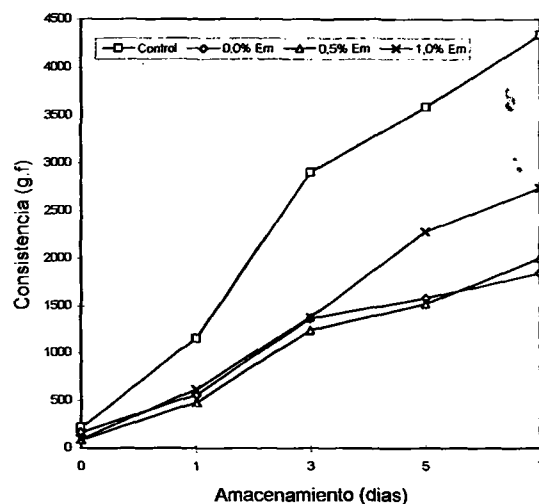
La velocidad de endurecimiento de los panes que contenían E fue menor que la del control. Lo mismo sucedió con la consistencia al final de 7 días de almacenamiento (Fig. 2). Hasta el 3<sup>o</sup> día de almacenamiento, la muestra que tenía menos E (50 ppm) endureció menos que las que presentaban más enzima. De ahí en adelante, ocurrió lo que era esperado, o sea, cuanto más alta la concentración de E más blandos se conservaron los panes. No sabemos como explicar la inversión ocurrida en los tres primeros días. Dragsdorf y Varriano-Marston (4) también observaron disminución de la consistencia de los panes con el empleo de α-amilasa bacteriana, desde el primero hasta el séptimo día de almacenamiento.

En la Figura 3 está representado el efecto del Em en formulaciones que contenían la concentración máxima de E (100 ppm), comparadas al control. Este fue el que endureció más y con mayor velocidad. En los primeros tres días de almacenamiento no se observó diferencia significativa entre el efecto de la amilasa sola (0 % Em) o asociada a cualquiera de las concentraciones de emulsificante empleadas. Sin embargo, a partir del tercer día, la muestra que contenía E y 1% de Em endureció más y, al final de 7 días, las dos muestras que contenían Em estaban más duras que la que contenía solo E.

**FIGURA 2**  
Efecto de la enzima en el endurecimiento del pan durante el almacenamiento



**FIGURA 3**  
Efecto del emulsificante en el endurecimiento de panes conteniendo 100 ppm de enzima



El análisis estadístico de los datos experimentales relativos a la consistencia de los panes en el séptimo día de almacenamiento mostró que no ocurre una interacción significativa entre E y Em (Tabla 3). El modelo matemático ajustado explica 81,36% de la variación (R<sup>2</sup>=0,8136) y presenta como significativos sólo los efectos lineales de las dos variables estudiadas.

En el diagrama de superficie correspondiente al modelo matemático (Fig. 4) se observa que con mayor concentración de E los panes se conservaron más blandos. Por otro lado, la asociación de E con Em fue perjudicial, aumentando la consistencia de los panes, a medida que la concentración de Em aumentó.

FIGURA 4  
Efecto de la enzima y del emulsificante en la consistencia de los panes con 7 días de almacenamiento

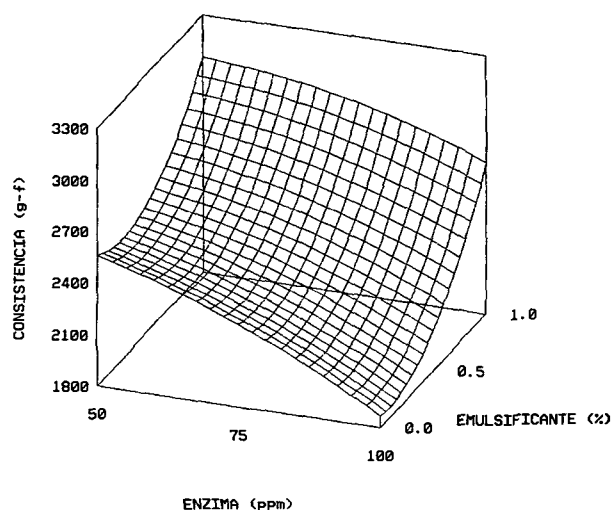
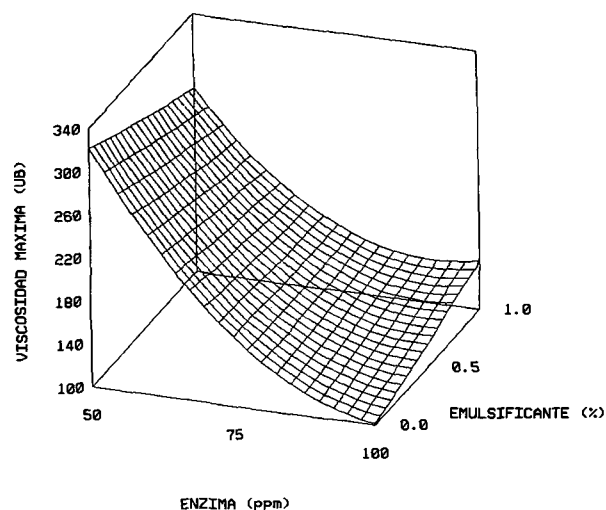


FIGURA 5  
Efecto de la enzima y del emulsificante en la viscosidad máxima (en amilógrafo Brabender) de la miga de los panes



Es sabido que los emulsificantes (monoglicéridos) disminuyen la gelatinización del almidón, porque se adhieren a la superficie de los gránulos, impidiendo la penetración del agua (9). En consecuencia, en presencia de Em, sería inhibida parcialmente la acción de E, ocasionando la formación de menos dextrinas de bajo peso molecular las que, según Martin y Hosney (7), ejercen un papel importante en la conservación del frescor del pan.

El antagonismo entre E y Em verificado en este estudio es aceptable si se considera que el mecanismo de acción del Em promueve condiciones adversas para la acción de E. Con todo, estos resultados contrarían los reportados por Valjakka et al (13) que observaron una acción aditiva entre emulsificante y  $\alpha$ -amilasa, bacteriana y también las reportadas por Martin (1989), citado por Valjakka et al (13), que detectó un efecto sinérgico entre los dos aditivos.

**Características amilográficas de la miga:** Las curvas amilográficas de las migas de pan presentaron forma similar a las obtenidas por otros investigadores (14).

- **Viscosidad máxima en el ciclo de calentamiento (VM):** Comparadas con el control, que presentó una VM superior a 1000 UB (Unidades Brabender), todas las muestras que contenían los aditivos tuvieron una disminución acentuada en la viscosidad.

La VM fue afectada significativamente por los efectos lineal y cuadrático de la concentración de E y por la interacción E x Em (Tabla 3). En la Figura 5 se verifica que la VM disminuyó con el aumento de la concentración de E, para cualquier concentración de Em. Al mismo tiempo, el aumento de Em aumentó la VM cuando la concentración de E fue alta (próximo a 100 ppm), pero, en concentraciones menores, el efecto de Em no fue significativo.

De acuerdo con Dragsdorf y Varriano-Marston (4) el almidón de la miga es parcialmente gelatinizado durante el proceso de panificación. Por esa razón, conserva aún capacidad de hinchamiento en el amilógrafo, siendo entonces responsable por el pico de viscosidad en la fase de calentamiento. Xu et al (14) atribuyeron ese pico al hinchamiento del complejo formado por el almidón y otros ingredientes del pan.

La menor VM cuando se utiliza E se explica porque esta, al degradar el almidón, disminuye su capacidad de asociación y de hinchamiento. Cuando la fórmula contiene Em, este hace que la gelatinización ocurra en menor grado durante el horneado del pan. De esta manera, el almidón preserva una mayor capacidad de hinchar en el amilógrafo (9), justificando valores más altos para la viscosidad.

Xu et al (10) observaron correlación negativa entre VM y consistencia de la miga, en panes que contenían Em, lo que se explicaba porque la acción complejante del aditivo al mismo tiempo evitaba el endurecimiento dando bajos valores de consistencia y preservaba la capacidad de hinchamiento del almidón, dando altos valores de viscosidad.

En este estudio, la situación fue diferente. Se observó una alta correlación positiva entre VM y consistencia (Tabla 4). La discrepancia se explica porque el Em fue utilizado juntamente con E, haciendo que su acción inhibiera la acción de esta última y provocando, al mismo tiempo, aumento de VM en el amilógrafo y aumento de la consistencia del pan.

- **Viscosidad a 50 °C:** De acuerdo al análisis de variancia, la V-50 fue influenciada significativamente por los efectos lineales de E y Em (Tabla 3).

Al igual que lo que sucedió en la VM, los aditivos produjeron una reducción en la V-50, en comparación al control, que tuvo un valor superior a 1000 UB. Cuanto más alto el tenor de E, mejor fue la V-50 (Figura 6), pero la asociación E-Em ocasionó un aumento de esa viscosidad. Como se explicó anteriormente, Em inhibe la acción de E, preservando estructuras del almidón con mayor peso molecular y mayor capacidad de complejarse a los otros ingredientes/aditivos presentes en la miga del pan, resultando una viscosidad más alta al final del ciclo de resfriamiento.

En la Tabla 4 se observa que la V-50 presentó correlación directa con la consistencia, también en desacuerdo con lo observado por Xu et al (10). La razón de esto es la misma ya explicada para la VM.

Según Xu et al (14), la V-50 es provocada por la asociación entre la amilosa solubilizada y lípidos polares (presentes en la harina o adicionados) y también por los complejos amilosa-emulsificante.

Como en este estudio el Em parece haber inhibido la acción de E durante la panificación, las cadenas de amilosa se preservarían con mayor tamaño y mayor capacidad de complejar y ocasionar alta viscosidad al final del ciclo de resfriamiento.

«Setback»: Dependiente de los efectos lineales de las dos variables estudiadas (Tabla 3), el diagrama de superficie correspondiente al «setback» (Figura 7) presentó el mismo perfil que el de la viscosidad a 50 °C.

En este caso también se observó una correlación positiva con la consistencia (Tabla 4).

FIGURA 6  
Viscosidad a 50 °C (en el ciclo de resfriamiento en amilógrafo Brabender) de la miga de los panes

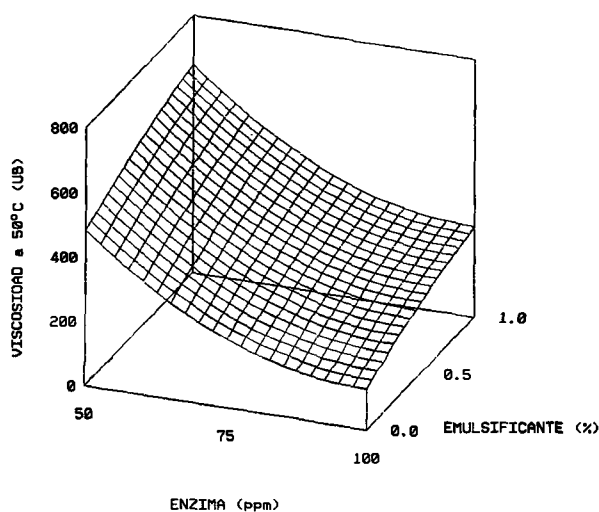
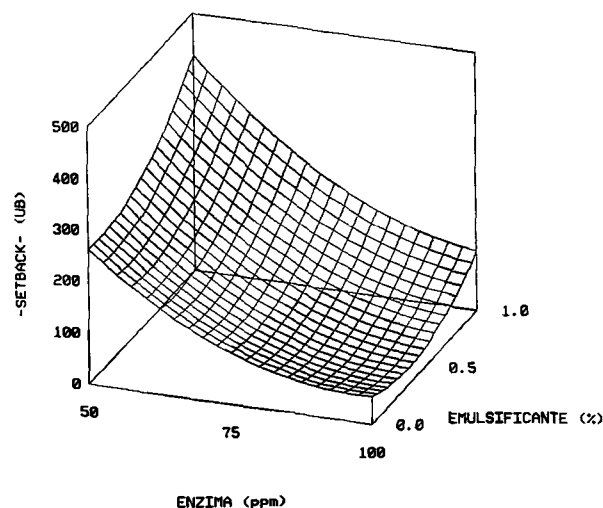


FIGURA 7  
Efecto de la enzima y del emulsificante en el «setback» de la miga de los panes (en amilógrafo Brabender)



CONCLUSIONES

Este estudio demostró la ocurrencia de un efecto antagónico entre  $\alpha$ -amilasa bacteriana y emulsificante en la acción retardadora de envejecimiento del pan y en las características amilográficas de la miga. Estos resultados son discrepantes con los obtenidos por otros investigadores y las diferencias se deben, probablemente, al empleo de enzimas de fuentes diferentes, con concentraciones diversas y asociadas también a variadas concentraciones de emulsificante. Así parece ser necesaria la realización de nuevos estudios, para determinar los límites para ocurrencia de sinergismo, efecto aditivo o antagonismo, cuando se emplea los dos aditivos simultáneamente. A parte de eso, las características tecnológicas de las harinas también pueden ser responsables por la diversidad de las observaciones.

REFERENCIAS

1. Stollmann U. & Lundgren B. Texture changes in white bread: effect of processing and storage. *Cereal Chem.* 64(4): 230-236, 1987.
2. Hebeda R.E., Bowles L.K. y Teagle W.M. Development in enzymes for retarding staling of baked goods. *Cereal Foods World* 35(5):453-457, 1990.
3. Lin W. y Lineback D.R. Changes in carbohydrate fractions in enzyme supplemented bread and the potential relationship to staling. *Starch*, 42(10):385-389, 1990.
4. Dragsdorf R.D. y Varriano-Marston E. Bread staling: X-ray diffraction studies on bread supplemented with alpha-amylases from different sources. *Cereal Chem.* 57(5):310-314, 1980.
5. Ghiasi K., Hosney R.C., Zelesnak K., Rogers D.E. Effect of waxy barley starch and reheating on firmness of bread crumb. *Cereal Chem.* 61(4):281-285, 1984.
6. Martin M.L., Zelesnak K.J. y Hosney R.C. A mechanism of bread firming. II. Role of starch swelling. *Cereal Chem.* 68(5):498-503, 1991.
7. Martin M.L., y Hosney R.C. A mechanism of bread firming. II. Role of starch hydrolyzing enzymes. *Cereal Chem.* 68(5):503-507, 1991.
8. Knightly W.H. Surfactants in baked foods: current practice and future trends. *Cereal Foods World*, 33(5):405-412, 1988.
9. Morad M.M. y D'Appolonia B.L. Effect of baking procedure and surfactants on the pasting properties of bread crumb. *Cereal Chem.* 57(4):239-241, 1980.
10. Xu A., Chung O.K. y Ponte J.G. Jr. Bread crumb amylograph studies. I Effects of storage time, shortening, flour lipids and surfactants. *Cereal Chem.* 69:495-501, 1992.
11. Kuracina T.A., Lorenz K. y Kulp K. Starch functionality as affected by amylases from different sources. *Cereal Chem.* 64(3):182-186, 1987.
12. SAS Institute. Guide for Personal Computers. Cary N.C.: SAS Institute Inc. 1988.
13. Valjakka T.T., Ponte J.G. Jr. y Kulp K. Studies on a raw-starch digesting enzyme. I. Comparison to fungal and bacterial enzymes and an emulsifier in white pan bread. *Cereal Chem.* 71(2):139-144, 1994.
14. Xu A., Ponte J.G. Jr. y Chung O.K. Bread crumb amylograph studies. II. Cause of unique properties, *Cereal Chem.* 69(5):502-507, 1992.

Recibido: 29-03-1996

Aceptado: 12-06-1997

## Características químicas y nutricionales del grano de cinco (5) genotipos de *Canavalia ensiformis*

Alejandra O. Ramírez M. y Ligia Ortiz de Bertorelli

Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela

**RESUMEN.** Se realizó la caracterización del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*, mediante la determinación de la composición química proximal, presencia de factores antinutricionales (Canavalia y título hemaglutinante) y digestibilidad proteica *in vitro*. Los genotipos estudiados fueron: Original, Yaracuy, Valle de la Pascua, U-02 y Tovar. Los resultados de la composición química proximal mostraron diferencias significativas entre los genotipos a excepción de la humedad, encontrándose los siguientes promedios: Proteína: 31,37%, fibra: 8,10%, cenizas: 2,93%, grasa: 2,97% y humedad: 11,68%. El contenido de canavanina de los genotipos fue variable, oscilando los valores entre 2,02 a 4,86% presentando el genotipo U-02 el valor mayor, respecto al título hemaglutinante varió entre +2 y +5. La digestibilidad proteica *in vitro* de las harinas arrojó diferencias significativas entre los genotipos, la cual varió entre 47,51% y 51,84%, valores muy por debajo al mostrado por la caseína (97,3%).

**SUMMARY.** Chemical and nutritional characteristics from grains of five genotypes of *Canavalia ensiformis*. This study evaluated the raw meals from grains of five genotypes of *Canavalia ensiformis*, by means of the chemical composition, the presence of antinutritional factors (Canavanine and hemagglutination activity) and *in vitro* protein digestibility. The genotypes studied were: Original, Yaracuy, Tovar, Valle de la Pascua and U-02. The results of chemical composition, showed significance difference between them, except moisture content, found the following average values: Protein 31.37%, fiber: 8.10%, ash: 2.93% and moisture: 11.68%. The canavanine content of the genotypes was variable oscillating between 2.02 and 4.86%, the genotype U-02 presented the higher value, respect to the hemagglutination title changed between: +2 and +5. The *in vitro* protein digestibility of the raw meals showed significance differences between the genotype, it changed between 47.51% and 51.84%, these values were lower than the casein (97.3%).

### INTRODUCCION

Las leguminosas representan una alternativa a nivel mundial de gran importancia desde el punto de vista nutricional, ya que poseen un alto contenido de proteínas, carbohidratos, vitaminas y en algunos casos también grasas. En América Latina estos cultivos constituyen un 10% de la dieta, mientras que en ciertas regiones de la India representan entre 30-50% (1). Dentro de estas leguminosas se encuentra la *Canavalia ensiformis* la cual es conocida vulgarmente como haba o haba de burro en los países de habla española, Jack Bean en países de habla inglesa como Feve Jacques o Pois sabre en países de habla francesa. La canavalia presenta un alto valor nutritivo, encontrándose en sus granos entre 28,5 y 29,4% de proteína. Actualmente existen numerosos reportes sobre el uso de la canavalia en la alimentación animal, los cuales han contribuido a resaltar el papel que esta planta podría jugar como componente de la dieta para animales en los trópicos. En cuanto a su utilización en la alimentación humana, ésta es casi inexistente, estando restringida a pequeñas áreas del mundo. En Venezuela se ha reportado que los indios del Alto Orinoco consumen este grano con regularidad. La *Canavalia ensiformis* es una leguminosa de gran potencial por su alto contenido de nutrientes y por ser una planta rústica con altos rendimientos de granos y forraje capaz de proveer alimento en áreas marginales, donde el cultivo de otras leguminosas no tendría éxito (2). Por ello se

han desarrollado genotipos venezolanos de buenas características agronómicas como: U-02, Yaracuy, Valle de la Pascua, Original y Tovar, de los cuales se hace necesario conocer las características bioquímicas y nutricionales de sus harinas, con el fin de mejorar el cultivo para su utilización como recurso alimenticio, debido a la baja digestibilidad de sus proteínas y la presencia de factores antinutricionales tales como: Canavanina, Concanavalina A, ureasa (3,4,5).

### MATERIALES Y METODOS

**Materiales:** Los granos de *Canavalia ensiformis* analizados, correspondieron a los genotipos venezolanos U-02, Yaracuy, Valle de la Pascua, Original y Tovar, los cuales fueron donados por el Profesor Julio Viera del Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela.

**Preparación de la harinas:** Los granos de *Canavalia ensiformis*, fueron lavados con agua y dejados secar durante una noche a 37 °C en estufa de aire y luego molidos, en un molino de malla de 0,5 mm. Las harinas se almacenaron a una temperatura entre 8 y 10 °C para su posterior análisis.

**Composición química proximal:** A las harinas obtenidas se les determinó: humedad, grasa, cenizas y fibra, según los métodos del A.O.A.C. (6). El contenido de nitrógeno fue estimado por el método microkjeldal A.O.A.C. (6), usando como catalizador 0,5 g de mezcla reactiva de selenio; el nitrógeno obtenido se multiplicó por el factor 6,25 (7).

**Factores antinutricionales:**

- **Canavanina:** Fue determinada por método colorimétrico de Bell (8), usando el reactivo pentacianoaminoferrato al 1%.
- **Título hemaglutinante:** Se realizó el método de Jaffé (9), utilizando sangre de conejo y citrato de sodio como anticoagulante
- **Digestibilidad proteica *in vitro*:** Se procedió según el método de Akenson y Stahman (10), utilizando caseína como proteína patrón.

**Análisis Estadísticos:** Los resultados obtenidos en la composición química próxima y la digestibilidad proteica *in vitro* de las harinas se sometieron a un análisis de varianza a un nivel de significación del 5%, complementado con una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey.

**RESULTADOS Y DISCUSION**

La composición química próxima de las harinas del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis* se detalla en la Tabla 1. Según estos resultados, la canavalia presentó en promedio 11,68% de humedad, 2,97% de grasa, 2,93% de cenizas, 8,10% de fibra y 31,37% de proteína, difiriendo la composición entre los genotipos. El contenido de grasa varió entre 2,59% (U-02) y 3,23% (Original), el de cenizas entre 2,52% (Yaracuy) y 3,35% (Valle de la Pascua), el de fibra entre 7,27 (Valle de la Pascua) y 8,65% (U-02) y el de proteína entre 28,44% (Original) y 33,05% (U-02). Entre los genotipos analizados se destacó el Original por presentar altos porcentajes de grasa y cenizas y bajo porcentaje de proteína, y el U-02 con bajo porcentaje de grasa y cenizas y alto contenido de proteína. De acuerdo con esta composición química, la harina de los granos de canavalia es una buena fuente de proteína, fibra y cenizas. Los valores de proteína concordaron con el rango señalado en la literatura citada, mientras que el de los otros componentes fue diferente (3,11,12). Los resultados obtenidos, en la determinación de los factores antinutricionales (canavanina y título hemaglutinante) de las harinas crudas de los granos de canavalia analizados, se muestran en la Tabla 2, donde se observa que el contenido de canavanina varió entre los genotipos en un rango de 2,02 y 4,86%, correspondiendo el menor valor al genotipo Original y el de mayor valor al genotipo U-02. Estos resultados son similares a los reportados por otros autores (13,14,15). El título hemaglutinante osciló entre +2 y +5, siendo el genotipo Original el que presentó el valor menor y el genotipo Tovar el valor mayor, estos valores son menores a los reportados para cultivarse de esta especie (13,14,15). Estas diferencias pueden deberse al método de análisis utilizado y/o a las condiciones ambientales que prevalecieron durante el desarrollo de los cultivares. Respecto a dichos factores es de señalar que el genotipo Original presentó la menor concentración de canavanina y el menor título hemaglutinante, en cambio el genotipo U-02 mostró una alta concentración de canavanina y un alto título hemaglutinante. La digestibilidad proteica *in vitro* de las harinas crudas de los granos de canavalia y de la caseína se indican en la Tabla 3, en la cual se observan diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos. Los valores oscilaron entre 47,5% y 51,8% presentando el genotipo Yaracuy la digestibilidad más baja y el genotipo Valle de la Pascua la más alta, mientras que la caseína tuvo un valor de 97,3%; estos resultados coinciden con los reportados por Gómez (4), quien obtuvo un 50% de digestibilidad *in vitro* en la harina cruda de la variedad Original, la baja digestibilidad proteica de la harina de canavalia al igual que la de otras leguminosas, es

debido en parte, a su resistencia al ataque proteolítico, al secuestro de las enzimas digestivas por estas proteínas y a la presencia de factores inhibidores de proteasa (4). Cabe mencionar que los nuevos genotipos U-02, Yaracuy, Tovar y Valle de la Pascua tienen mayor concentración de proteína que el Original. Además el Valle de la Pascua presentó una digestibilidad *in vitro* y una concentración de canavanina semejante al Original.

**TABLA 1**  
Composición química proximal de la harina del grano de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipo	Humedad (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	Fibra (%)	Proteína (%)
U-02	12,10 <sup>a</sup>	2,59 <sup>e</sup>	2,55 <sup>fc</sup>	8,65 <sup>a</sup>	33,05 <sup>a</sup>
Yaracuy	11,35 <sup>a</sup>	3,14 <sup>b</sup>	2,52 <sup>c</sup>	8,60 <sup>a</sup>	30,91 <sup>b</sup>
Tovar	11,18 <sup>a</sup>	3,05 <sup>c</sup>	2,90 <sup>b</sup>	8,52 <sup>ab</sup>	32,70 <sup>a</sup>
Original	12,08 <sup>a</sup>	3,23 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>	7,46 <sup>ab</sup>	28,44 <sup>c</sup>
Valle de la Pascua	11,70 <sup>a</sup>	2,86 <sup>d</sup>	3,35 <sup>a</sup>	7,27 <sup>b</sup>	31,73 <sup>ab</sup>
Promedio	11,68	2,97	2,93	8,10	31,37

\* Base seca  
Los promedios en columna que presentan letras comunes no alcanzan diferencias estadísticamente significativas entre sí al 5%

**TABLA 2**  
Concentración de Canavanina y título hemaglutinante en las harinas de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Canavanina	Título
U-02	4,86	+4
Yaracuy	2,42	+3
Tovar	2,93	+5
Original	2,02	+2
Valle de la Pascua	2,44	+4

**TABLA 3**  
Digestibilidad proteica *in vitro* de las harinas de cinco genotipos de *Canavalia ensiformis*

Genotipos	Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)*
U-02	50,99 ab
Yaracuy	47,51 c
Tovar	48,02 bc
Original	50,98 ab
Valle de la Pascua	51,84 a

\* Gramos de proteína digerida / 100 g de proteína  
Los promedios que presentan letras comunes no alcanzan diferencias significativas al 5%.

En conclusión el alto contenido proteico (28,44% - 33,05%) encontrado en la harina de los granos de los diferentes genotipos de canavalia estudiados, especialmente en el U-02 (33,05%), evidencian la potencialidad de este cultivo como recurso alimenticio, no

obstante esta utilización queda supeditada a la presencia de algunos factores antinutricionales como la canavanina, la medida del título hemaglutinante y ala baja digestibilidad proteica *in vitro* observada; por lo cual se hace necesario continuar los estudios en dicha área para su incorporación en la alimentación animal y/o humana.

### AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su reconocimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (C.D.C.H.) por el financiamiento de esta investigación (Proyecto N° 01.37.2873.92).

### REFERENCIAS

1. Deshpande S. Food Legumes: Chemistry and Technology. Chapter 3. En: *Advances in Cereal Science and Technology*. Vol. X, Y. Pomeranz. Ed. Am Assoc. Cereal Chemis. St. Paul Mn. 1990.
2. Viera J. y Díaz Y. El cultivo de Canavalia. *Agronomía al Día*. 1:1. U.C.V. Maracay. 1988.
3. Bressani R., Gómez R., García A. y Elías L. Chemical composition aminoacid content and protein quality of Canavalia spp. seeds. *J. Sci. Food and Agric.* 40(1) 17-23. 1987.
4. Gómez A. Efectos de tratamientos físicos y químicos sobre los factores antinutricionales presentes en las semillas de *Canavalia ensiformis*. Digestibilidad *in vivo e in vitro*. Tesis Doctoral: Universidad Central de Venezuela. Caracas, 1990.
5. Angulo I., Picard M., Carre B., Derovet L. y Harscoat J. Proximate and aminoacid composition of seeds of *Canavalia ensiformis*. *Toxicity. Ann Zootech.* 38. 1989.
6. Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C.). *Official Methods of Analysis*. 13th Ed. Washington D.C. The Association, 1990.
7. Rodríguez B. y Martín E. *Análisis de Alimentos*. Tomo I: Organización de Bienestar Estudiantil (O.B.E.). Universidad Central de Venezuela. 1980.
8. Bell E. Canavanine and related compounds in leguminosae. *The Biochemical Journal* 70:617. 1958.
9. Jaffé W. Hemaglutinins toxic constituents of plant foodstuffs. Ed. I.E. Liener Academic Press. New York. 1969.
10. Akenson W. y Stahman M. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *J. Nutrition* 83:257-261. 1964.
11. Vierma C. Efectos de varios tratamientos sobre factores antinutricionales de *Canavalia ensiformis* incluidas en dietas para pollos en crecimiento. Trabajo de Ascenso. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1984.
12. Delgado E. Obtención de aislados proteínicos a partir de harinas crudas integrales de tres variedades de *Canavalia ensiformis*. Trabajo de Ascenso. Facultad de Agronomía. U.C.V. Maracay 1990.
13. Vierma C., Viera J. y Montilla J. Valores de canavanina y título hemaglutinante de 6 cultivares de *Canavalia ensiformis*. Informe anual I.P.A. 1983. Facultad de Agronomía U.C.V. Maracay. 1984.
14. Campos J. Evaluación de las tecnologías de tostado y extrusión para la destoxificación y utilización industrial de la *Canavalia ensiformis* (L) D.C. en la alimentación de pollos de engorde. Tesis de Maestría. Postgrado en Producción Animal. Facultad de Agronomía. U.C.V. Maracay. 1994.
15. León T. y Reina N. Evaluación biológica y cuantificación de factores antinutricionales en cuatro cultivares de *Canavalia ensiformis*. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. U.C.V. Maracay 1987.

Recibido: 11-08-1995

Aceptado: 06-06-1997

## Pigmentation of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with oil-extracted astaxanthin from the langostilla (*Pleuroncodes planipes*)

Gladis Coral Hinostriza<sup>1</sup>, Alberto Huberman W.<sup>2</sup>, Guadalupe de la Lanza<sup>3</sup>, José Monroy-Ruiz<sup>1</sup>

Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán

**SUMMARY.** The effect of oil-extracted astaxanthin from the red crab or langostilla (*Pleuroncodes planipes*) on the growth and pigmentation of forty five rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*) was investigated by feeding a test diet supplemented with 75 mg/kg of astaxanthin during six weeks and compared with a control diet. The oil-extraction process of the pigment is described. Weight, flesh astaxanthin concentration, and color (L\*, a\*, b\*) of the flesh were measured at 0, 3, and 6 weeks. No apparent effect of astaxanthin supplementation was observed on fish development. In spite of the low free astaxanthin amount in the diet (8%), an acceptable carotenoid concentration in the flesh ( $3,60 \pm 0,78$  mg/kg, w/w), and a red hue ( $H^{\circ}_{ab} = 44,13 \pm 2,36$ ) were obtained at the end of the study. The red hue was strongly correlated with the carotenoid concentration ( $r=0,98$ ).

**RESUMEN.** Astaxantina de la langostilla, *Pleuroncodes planipes*, extraída con aceite y su uso en la pigmentación de la trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss*. Se investigó el efecto de la astaxantina de la langostilla (*Pleuroncodes planipes*) en el desarrollo y pigmentación de 45 ejemplares de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). El grupo experimental ingirió una dieta suplementada con 75 mg/kg de pigmento del crustáceo durante seis semanas y fue comparado con un grupo testigo. Se describe el proceso de extracción del pigmento en aceite. Al inicio, a las tres y a las seis semanas se hicieron mediciones de peso, contenido muscular de astaxantina y color (L\*, a\*, b\*). No se observó ningún efecto del carotenoide sobre el desarrollo de los organismos. A pesar del bajo contenido de astaxantina libre en la dieta (8%), al finalizar el estudio los peces presentaron buena concentración de astaxantina en el músculo ( $3,60 \pm 0,78$  mg/kg) y tonalidad roja ( $H^{\circ}_{ab} = 44,13 \pm 2,36$ ). La tonalidad y la concentración del pigmento mostraron alta correlación ( $r=0,98$ ).

### INTRODUCTION

Astaxanthin (Ax) (3,3'-dihydroxy-b,b-carotene-4,4'-dione) is the main natural pigment responsible for the typical red coloration of salmonid muscle (1). This oxycarotenoid and mainly the free form is more efficiently utilized by these fish than other pigments (2). Since Ax can not be synthesized by salmonids (3), they depend on the natural feed intake source or it needs to be included as a feed ingredient in reared organisms. Apart from its important value as a pigmenter in imparting a desirable pink-red color to salmonid flesh, numerous other biological roles of dietary Ax have been proposed (4,5,6,7).

Most of the farmed fish is pigmented with synthetic Ax and canthaxanthin. However; attention has been concentrated during the last two decades on obtaining red-colored muscle with natural sources. As crustaceans are a rich supply of Ax (8), different species have been tested including shrimp, red crab, crayfish and krill, to induce pigmentation in reared rainbow trout and salmon (9,10,11,12,13,14).

With the purpose of obtaining a more suitable and economic

pigmentation process, in some cases whole organisms have been added to the salmonid's feed, resulting in a low pigmentation (13,15,16) as a consequence of the high content of chitin and mineral salts that limit good food digestibility in fish (17). To avoid this inconvenience, the pigment extraction with oil has been efficiently tested (11,18,19,20). The patented method (20) can be considered a suitable process mainly because it avoids organic solvents residues in the extracts. The extraction process results in a pigmented oil rich in omega-3 fatty acids and sterols, enhancing its value as fish feed ingredient (19).

In order to find a suitable utilization of the Mexican red crab or langostilla, *Pleuroncodes planipes* (Stimpson) for aquaculture purposes, the present study was carried out with the aim of evaluating the effect of the mainly esterified oil-extracted Ax from this crustacean, on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) pigmentation and growth.

The langostilla, *Pleuroncodes planipes*, is an anomuran (Crustacea: Decapoda: Galatheididae) which occurs mostly along the western coast of Baja California Peninsula, Mexico. Its greatest standing stock (460.000 MT/km<sup>2</sup>) has been calculated during winter-spring (21). At these seasons, they occupy all depth strata of the inner continental shelf including the shallow waters of Magdalena Bay (22) and they can even be beached by wave action, allowing an easier collection. At present, this species represents the focus of important studies, mainly on applied technology (23,24,25).

### MATERIALS AND METHODS

**Organisms:** The langostilla, *Pleuroncodes planipes*, with a carapace length ranging from 19 to 26 mm, was collected live in the beach of Magdalena Bay, Baja California, Mexico. They were light-

1. Ph. D. candidate, Faculty of Science, Universidad Nacional Autónoma de México.
2. Head, Department of Biochemistry. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán
3. Research scientist, Department of Zoology, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
4. Research scientist, Department of Nutrition, Universidad Iberoamericana, México.

protected with black plastic bags and transported frozen at -15 °C to the laboratory. Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, «kamloops» variety, were purchased from the El Pedregal fish farm, State of Mexico, Mexico.

**Experimental design and diets:** Ninety fishes were allotted to two groups: pigmented (I) and control (II), of three tanks each, with 15 organisms per tank. Fishes were previously acclimatized for four weeks with astaxanthin-free feed. They were individually weighed at the beginning (average weight 218±7 g), at the middle and at the end of the experiment. The animals were reared indoors in 600 L fibreglass tanks supplied with fresh running water at an average temperature of 9.5 °C and 8 ppm of oxygen.

The experimental diets were prepared by pelleting (4 mm diameter in a California pelletizer) the unpelleted rainbow trout feed purchased from Alimentos El Pedregal (Toluca, State of Mexico) as a standard feed (38% protein, 10% fat) under license from Silver Cup (Salt Lake, Utah, USA). Diet for group I, was made by adding the pigmented oil (6% w/w) to the pellets (mixing in a bowl by hand rotation). Diet for group II, had the same preparation but coated with cod oil (6%, w/w) instead of Ax pigmented oil.

**Feeding and sampling:** Before starting the experiment ten fishes were sampled, sacrificed and filleted for initial analysis (flesh pigment content and color). Fishes were fed twice a day at a feeding rate of 1,5% body weight/day during 6 weeks. The daily ration was corrected on the third week. At this time, three fishes per tank were randomly sampled for analysis. At the end of the study ten organisms from each tank were weighed, sacrificed and filleted. Two fillets were removed from each organism (approximately 30 cm<sup>2</sup> each, under the dorsal fin), one for pigment analysis which was protected against light with black plastic bags and frozen at -20 °C and another for color measuring that was promptly done in fresh.

**Pigment extraction:** All extractions and analyses were performed, as far as possible, at reduced light and under a nitrogen stream, with analytical grade solvents. To extract total pigment from the fresh langostilla they were ground in a blender. Ten g of the «puree» sample were mixed with the same amount of anhydrous sodium sulfate in order to reduce humidity. The pigments were extracted with acetone until remove all pigments.

Oil pigment extraction was performed with cod oil. Previously, the normal langostilla humidity (80%) was reduced to 46% in an air-circulating oven (APEX type 48 BE) at 60 °C for 4 h in order to facilitate grinding. Organisms were then ground in a mill (Hobart-Dayton, 84181-DG) to pass through a 2 mm mesh screen. After restoring the humidity to 80%, cod oil (10%, w/w) was added as extractant and ethoxyquin (6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline) (0,05%, w/w) as antioxidant (11). A single-stage heat extraction was made at 90 °C/30 min with regular stirring (19) in darkness and then a coarse separation by hand pressing was done before centrifugation at 11.000 g/10 min/0 °C (18). The pigmented oil extracts were analyzed, sealed and frozen at -20 °C until utilization.

To extract the Ax from rainbow trout muscle, 10 g of tissue were ground in a mortar and extracted with acetone until colorless. Four parts of water and one part of petroleum ether (PE) were added to the acetone solution in order to remove all pigments to PE. The aqueous phase was drained from the upper pigmented ether phase in a separatory funnel. The pigmented solution was then filtered through a medium porosity fritted-glass funnel containing a 1,5 cm bed of

anhydrous sodium sulfate rinsing with PE until colorless.

**Chemical analyses:** Proximate analyses were performed after preparation of diets. Crude protein was calculated by the method 976.05, crude fat by 920.39, ash by 942.05, moisture by 934.01 and crude fiber by (962.09), as described by AOAC (26). Gross energy content was determined directly by bomb calorimetry using a Parr adiabatic oxygen bomb according to the manufacturer's instructions (Parr Instrument Co., Moline, IL).

**Carotenoid analyses:** Identification of the Ax and its esters were performed by: 1) spectral analysis in the visible range, 2) thin layer chromatography (TLC) and 3) calculating Rf values. Each analysis was made in parallel with reference Ax. To this end, synthetic Ax (Carophyll Pink, 8% formulation, F. Hoffmann-La Roche, Ltd, Basle, Switzerland) was re-purified by TLC.

Total Ax in whole langostilla organisms was determined with a UV-VIS Beckman DU-64 spectrophotometer set at  $\lambda_{max}=475$  nm, the maximum absorption spectrum of Ax in acetone (27). Calculation was made by utilizing 1900 as extinction coefficient ( $E_{1\%}^{1cm}$ ) of Ax in acetone (3). Total Ax in the oil extract was estimated by measuring its concentration at the maximum absorbance  $\lambda_{max}=472$  nm in hexane (27) and 1930 as extinction coefficient ( $E_{1\%}^{1cm}$ ). The Ax content in PE solutions from fish flesh was measured at  $\lambda_{max}=469$  nm (28) and 1910 as extinction coefficient ( $E_{1\%}^{1cm}$ ) (5).

For thin layer chromatography (TLC), solvent extracts were cooled to -20 °C to precipitate lipids, 5 ml of the upper layer of acetone and PE solution were submitted to determination of relative amounts of Ax and its esters. To this end, the extracts were concentrated under a stream of N<sub>2</sub> and redissolved in hexane for chromatographic separation. TLC was made on 20x20 activated (in a vacuum drier at 120 °C/1 h) aluminium silica gel sheets (60 F254, E. Merck). The pigment was chromatographed with acetone-hexane (30:70, v/v). Each fraction was scraped off and redissolved in acetone for spectrophotometric analysis.

The carotenoid concentration of diets were calculated by the method of No and Storebakken (29) and chromatographic separation was done as above.

**Relative flesh astaxanthin retention:** Relative flesh astaxanthin retention was obtained by the formula: Ax in flesh (mg/kg)/Ax in diet (mg/kg) according to Torrissen (16) expressed as percentage.

**Specific growth rate:** Specific growth rates (SGR) were obtained according to the formula:

$$SGR = [(\ln W_1 - \ln W_0) / (\#d)] \times 100,$$

where  $\ln$  = natural logarithm,  $W_0$  = initial weight,  $W_1$  = final weight and  $\#d$  = days of feeding (30).

**Flesh color measurement:** Flesh color was measured with a Hunter Lab (D25-PC2) colorimeter using the tristimuli CIE (1976)  $L^*a^*b^*$ . From  $a^*$  and  $b^*$  values, the hue ( $H^\circ ab = \tan^{-1} b^*/a^*$ ;  $H^\circ ab = 0^\circ$  for red and  $90^\circ$  for yellow) and chroma [ $C^* ab = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ] were measured according to Choubert et al., (31).

**Statistical analysis:** Groups I and II were compared by t-Student tests using as response variables fish weight, flesh hue, chroma and Ax concentration. At 3 and 6 weeks of experimentation a regression

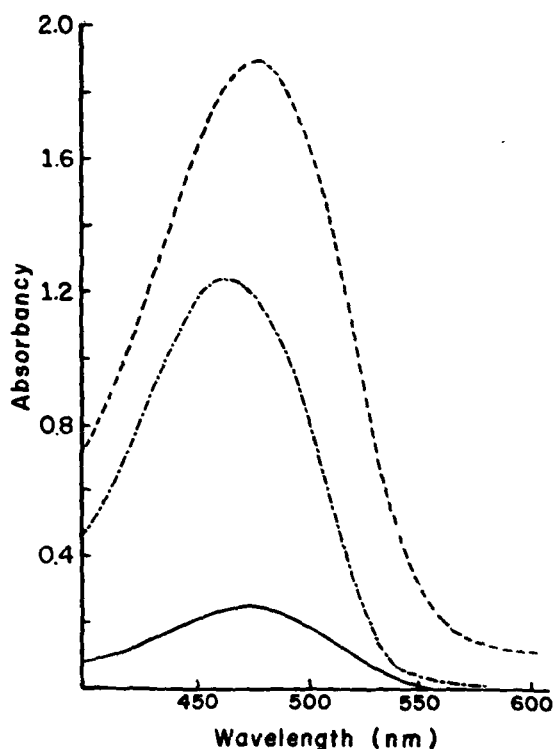
analysis was made where the independent variable was the Ax concentration and as a dependent variables the hue and chroma values. The Statgraphics and Statistical graphics software version 7.0 was used in every case.

**RESULTS AND DISCUSSION**

The proximate chemical composition and energy content of the two diets were about the same along the experiment (Table 1). According to the identification criteria, the only carotenoid identified in the langostilla *Pleuroncodes planipes* was Ax (Fig.1) mainly esterified (Table 2). The total concentration of the carotenoid in the entire organism was 145 mg/kg (wet weight), higher than that reported by Wilkie (32) who besides found b-carotene as an other pigment constituent which was not the case in our findings.

FIG. 1.

Light absorption spectra of the astaxanthin from *Pleuroncodes planipes* (—) in acetone, of reference Ax (Carophyll pink) (---) in petroleum ether and of rainbow trout flesh extracts (\_\_\_\_) in acetone.



The utilized oil extraction process yielded an Ax oil extract of 61 mg/kg, equivalent to 42% of total pigment amount, which means that an Ax rich solid fraction remains after extraction that can have other applications in aquaculture. Some of the pigmented oil could have been retained with the solids during hand pressing separation or it might be influenced by the type of oil. Meyers et al. (33) have shown that different oils have different Ax extraction efficiencies whereas Omara-Alwala et al. (19), demonstrated that the Ax content in the recovered oil is highly enhanced through the extraction process.

**TABLE 1**  
Chemical analysis and carotenoids content of diets after preparation<sup>1</sup>

Component g/100g	Test Diet	Control
Moisture	12,30±0,18	9,56±0,17
Crude protein (Nx6.25)	36,24±0,21	36,70±0,16
Crude fat	11,20±0,06	10,90±0,09
Ash	6,50±0,05	6,46±0,03
Crude fibre	2,66±0,23	2,81±0,20
Gross energy (Kcal/100)	397,4±0,22	415,5±0,25
Ax (mg/kg)	75,00±0,21	
Other carotenoids (mg/kg)	0,90±0,17	0,90±0,20

<sup>1</sup> Data presented as mean of duplicate analyses ±s.d.

**TABLE 2**  
Astaxanthin composition after thin layer chromatography analysis<sup>1</sup>

Source	Fraction of Ax	R <sub>f</sub> value	max (nm)	Amount (%)
Langostilla	free	0,35-0,38	472	24
	monoester	0,64	470	40
	diester	0,83	476	36
Pigmented oil	free	0,36	470	8
	monoester	0,65	470-480	20
	diester	0,80-0,82	470-475	72
Test diet	free	0,36	475	8
	monoester	0,60	475-480	22
	diester	0,82-0,84	475-480	70
Trout muscle <sup>2</sup>	free	0,40	475	100
Reference Ax	free	0,37	475	100

<sup>1</sup> All spectrophotometric evaluations were made in acetone

<sup>2</sup> Mean of five fish.

The mean carotenoid content in the test diet during the experiment was 72 mg/kg (dry weight). On the basis of the Ax fractions content in the whole langostilla, these were clearly modified in the oil-pigmented diet (Table 2). This predominance of esterified forms in the oil are in accordance with previous results (19) suggesting that the esters are preferentially extracted by the oils. Also, it can be suspected that Ax could undergo esterification during heat oil extraction by chemical process.

The basal formula contained 0,9 mg/kg of carotenoids other than Ax, probably derived from the component feedstuffs. Lutein, zeaxanthin and b-carotene can be present in commercial formula (10).

Organisms of group I did not accept easily the test diet during the first four days, after which they took it well. The reluctance might have been caused by natural soluble crustacean compounds with a characteristic odor. At the end of the experiment, specific growth rates (SGR) were 0,89 and 0,91 for the experimental and control group, respectively. Both trials showed no significant difference (P>0,05) in mean weights (Table 3) and SGR. Thus, no apparent effect of Ax oil supplementation was observed on fish development throughout the experiment. Water temperature might have affected

pigment metabolism and growth as referred by No and Storebakken (29).

On the tenth day, a bright pink color was observed along the lateral line of fish that were provided with pigmented diet. This color was intensified from the second week on and spread to the fins. The Ax was deposited in flesh at a rate of 0,06 mg/kg/day during the first three weeks, with a resultant pink color of fillets. This rate increased towards the end of the experiment to 0,10 mg/kg/day. This increase and the even flesh coloration of the experimented group obtained at the end of the study, suggests that there was a good utilization of pigmented oil by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and could probably reach greater levels of pigmentation extending the feeding period to 8 weeks. In spite of the low free Ax amount in the diet, a final flesh Ax concentration of 3,60 mg/kg was achieved which is significantly higher than the minimum required for satisfactory pink-red color in rainbow trout (2-3 mg/kg) (14) and in the range established by Torrissen et al. (34) for commercial salmonids. The astaxanthin taken up from the feed might have followed two metabolic pathways in the trout: 1) it was either deposited directly as the free form, with an estimated deposition of 62%, or 2) the two fractions of Ax (free and esterified) were used prior to hydrolysis of the esterified compound as supported by Kamata and Simpson (10) and Storebakken and No (35) with an estimated deposition of 5% as free Ax in muscle.

Control group did not present any particular external pigmentation and the flesh color after six weeks was pale-gray with 0,4 mg/kg of carotenoids which were not distinguished as Ax by TLC.

Astaxanthin content and hue of rainbow muscle (Table 3) showed a significant correlation where  $r=0,988$ . According to hue values, chroma and Ax content as response variable at 3 and 6 weeks, pigmented and control group were significantly different ( $P<0,001$ ). This obtained hue is comparable with that reported by Seurman et al., (12) and corresponds to 8 (according to a scale ranging from 0 to 8, 0 = means no visible pigmentation and 8 = maximum red) (3).

TABLE 3  
Body weight increase and effect of dietary astaxanthin on flesh astaxanthin content and color of rainbow trout<sup>1</sup>

Trial	Weeks	Weight (g)	Ax content (mg/kg)	Hue angle ( $\tan^{-1}b^*/a^*$ )	Chroma ( $a^{*2}+b^{*2}$ )
Experimental group (I)	0	218±7	0,20±0,05 <sup>2</sup>	82,50±3,21 <sup>2</sup>	9,36±1,00 <sup>2</sup>
	3	261±8	1,55±0,25	50,27±2,95	17,52±2,73
	6	316±19	3,60±0,78	44,13±2,36	25,90±2,51
Control(II)	0	220±7	0,20±0,05 <sup>2</sup>	82,50±3,21 <sup>2</sup>	9,36±1,00 <sup>2</sup>
	3	254±11	0,27±0,05	70,69±2,22	10,42±2,85
	6	325±23	0,40±0,10 <sup>2</sup>	77,76±5,45	16,17±4,86

1 Mean ± s.d. of replicate groups.

2 Values of ten fishes for both groups at time zero.

3 Pigment not identified as Ax.

In view of our results, we conclude that although the oil extraction method was not an advantageous procedure (42% efficiency), the oil-pigmented feed did not have any deleterious effect on fish growth and was palatable enough for the rainbow trout which obtained a good flesh Ax content (3,60±0,78 mg/kg ww), a red hue ( $H^*_{ab}=44,13\pm2,36$ ) and chroma ( $C^*_{ab}=25,90\pm2,51$ ) to be considered as a marketable item.

## ACKNOWLEDGMENTS

Thanks to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología for a fellowship to G.C. and a research grant to A.H.; to Virgilio Arenas (ICML) and the crew of oceanographic cruise SIMSUP-IV as much as Roberto Civera and personnel of Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) for collecting and transporting the langostilla samples to Mexico City; to Juan Antonio Pérez and Alfredo Gutiérrez for allowing the use of the wet laboratory in the «El Zarco» Trout Hatchery (SEMARNAP) and the technical support provided; to Fernando Pérez-Gil and Josefina Morales for the technical facilities provided at the Laboratory of Food Technology of INNSZ, is gratefully acknowledged.

## REFERENCES

- Schiedt K, Leuenberger FK., Vecchi M. & Glinz M. Absorption, retention and metabolic transformations of carotenoids in rainbow trout, salmon and chicken. *Pure & Appl. Chem.* 57(5):685-692, 1985.
- Foss P, Storebakken T., Austreng E. & Liaaen-Jensen S. Carotenoids in diets for salmonids. V. Pigmentation of rainbow trout and sea trout with astaxanthin and astaxanthin dipalmitate in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture*, 65:293-305, 1987.
- Foss P., Storebakken T., Schiedt K., Liaaen-Jensen S., Austreng E. & Streiff K. Carotenoids in diets for salmonids. I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture*, 41:213-226, 1984.
- Torrissen OJ. Pigmentation of salmonids-effect of carotenoids in eggs and start-feeding diet on survival and growth rate. *Aquaculture*, 43:185-193, 1984.
- Al-Khalifa AS. & Simpson K. Metabolism of astaxanthin in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 91B(3):563-568, 1988.
- Segner H., Arent P., Von Poeppinghausen K. & Schmidt H. The effect of feeding astaxanthin to *Oreochromis niloticus* and *Colisa labiosa* on the histology of the liver. *Aquaculture*, 79:381-390, 1989.
- Nakano T., Tosa M. & Takeuchi M. Improvement of biochemical features in fish health by red yeast and synthetic astaxanthin. *J. Agric. Food Chem.* 43:1570-1573, 1995.
- Goodwin TW. Crustacea. In: *The Biochemistry of the Carotenoids*, Vol. II, Animals. Chapman and Hall, London, 1984, p. 64.
- Spinelli J., Lehman L. & Wieg D. Composition, processing, and utilization of red crab (*Pleuroncodes planipes*) as an aquacultural feed ingredient. *J. Fish. Res. Board Can.* 31:1025-1029, 1974.
- Kamata T. & Simpson K. Utilization of recovered shrimp protein as a pigment source for salmonids. Master of Sci. Thesis. Univ. of Rhode Island, USA, 1977, p. 88.
- Spinelli J. & Mahnken C. Carotenoid deposition in pen-reared salmonids fed diets containing oil extracts of red crab (*Pleuroncodes planipes*). *Aquaculture*, 13:213-223, 1978.
- Scurman L., Martinsen C. & Little A. The effect of dietary lipid and pigment concentration in the feed of *Salmo gairdneri* on sensory characteristics and objective measurements of the fish muscle tissue. In: *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology*, Vol. 2, Halver JE & K Tiews (Ed.). H Heenemann GmbH & Co., Berlin 42, 1979, p. 401.
- Choubert Jr G. & Luquet P. Utilization of shrimp meal for rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) pigmentation. Influence of fat content of the diet. *Aquaculture*, 32:19-26, 1983.
- Chen HM., Meyers SP., Hardy RW. & Biede SL. Color stability of astaxanthin pigmented rainbow trout under various packaging conditions. *J. Food Sci.*, 49:1337-1340, 1984.
- Torrissen O, Tidemann E, Hansen F. & Raa J. Ensiling in acid - A method to stabilize astaxanthin in shrimp processing by-products and improve uptake of this pigment by rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 26:77-83, 1981/1982.

16. Torrissen OJ. Pigmentation of salmonids: factors affecting carotenoid deposition in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 46:133-142, 1985.
17. Simpson KL, Katayama T. & Chichester CO. Carotenoids in fish feeds. In: Carotenoids as colorant and vitamin A precursors. JC Bauernfeind (Ed.). Academic Press, New York, NY, 1981, p. 463.
18. Chen HM & Meyers SP. Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process. *J. Food Sci.*, 47:892-900, 1982.
19. Omara-Alwala TR., Chen HM., Ito Y., Simpson K. & Meyers SP. Carotenoid pigment and fatty acid analyses of crawfish oil extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 33:260-263, 1985.
20. Meyers SP. & Chen HM. Process for the utilization of shellfish waste. U.S. Patent 4,505,936, March 19, 1985.
21. Auriolos-Gamboa D. Distribución y abundancia de la langostilla bentónica (*Pleuroncodes planipes*) en la plataforma continental de la costa oeste de Baja California. In: La Langostilla: Biología, Ecología y Aprovechamiento. Auriolos-Gamboa D & Balart EF. (Ed.). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC, México, p. 59. 1995.
22. Auriolos-Gamboa D. Migración batimétrica de la langostilla bentónica en la plataforma continental del Pacífico de Baja California Sur. In: La Langostilla: Biología, Ecología y Aprovechamiento. Auriolos Gamboa D & EF Balart (Ed.). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC, México, p. 79. 1995.
23. Carrillo-Domínguez S., Pérez-Gil F., Avila-González E. & Castro-González MI. La langostilla en la avicultura. In: La Langostilla: Biología, Ecología y Aprovechamiento. Auriolos-Gamboa D. & Balart EF. (Ed.). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC, México, p. 193. 1995.
24. Villareal H., Civera R., Pasten J, Vega F., Rocha S. & Goytortua E. Effect of the partial and total substitution of shrimp meal, fish meal and soy meal for red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal in the growth of juvenile white shrimp *Penaeus vanamei*. II Simposio Centroamericano sobre Camarón Cultivado, Tegucigalpa, Honduras, 26-28 Abril, 1993, p. 184.
25. García-Carreño F, Hernández-Cortés MP & Haard N. Enzymes with peptidase and proteinase activity from the digestive systems of a freshwater and a marine decapod. *J. Agric. Food Chem.* 42:1456-1461, 1994.
26. Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, 1990.
27. Buchwald M & Jencks HP. Optical properties of astaxanthin solution and aggregates. *Biochem.* 7(2):834-843, 1968.
28. De Ritter E. & Purcell AE. Carotenoid analytical methods. In: Carotenoids as colorant and vitamin A precursors. JC Bauernfeind (Ed.). Academic Press, New York, NY, p. 815. 1981.
29. No HK. & Storebakken T. Pigmentation of rainbow trout with asthaxanthin at different water temperatures. *Aquaculture*, 97:203-216, 1991.
30. Torrissen OJ. Pigmentation of salmonids: Interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout. *Aquaculture*, 79:363-374, 1989.
31. Choubert G, Blanc JM. & Courvalin C. Muscle carotenoid content and colour of farmed rainbow trout fed astaxanthin or canthaxanthin as affected by cooking and smoke-curing procedures. *Intern. Jour. of Food Sci. and Tech.*, 27:277-284, 1992.
32. Wilkie DW. The carotenoid pigmentation of *Pleuroncodes planipes* Stimpson (Crustacea: Decapoda: Galatheidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 42B:731-734, 1972.
33. Meyers SP, Chen HM, No HK. & Lee KS. An integrated approach to recovery and utilization of Louisiana crawfish processing wastes. In: Proc. Intern. Conference on Fish By-products. Anchorage, Alaska, April 25-27, 1990.
34. Torrissen OJ, Hardy RW. & Shearer KD. Pigmentation of salmonids-Carotenoid deposition and metabolism. *CRC Crit. Rev. Aquat. Sci.*, 1:209-225, 1989.
35. Storebakken T. & No HK. Pigmentation of rainbow trout. *Aquaculture*, 100:209-229, 1992.

Recibido: 02-08-1996

Aceptado: 28-04-1997

## Uso de uma multimistura como suplementação alimentar: Estudo em ratos

Francisca Martins Bion<sup>1</sup>, Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa<sup>2</sup>, Maria Auxiliadora Gonçalves Lapa<sup>1</sup>,  
Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos<sup>2</sup>, Norma Lúcia Marinho Antunes<sup>3</sup>, Silvia Maria Limongi Lopes<sup>2</sup>

Departamento de Nutrição e Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Brasil

**RESUMO.** Estudo objetivando avaliar os efeitos de uma Multimistura (MM), composta por farinha de folha de macaxeira (*Manihot esculenta* Crantz), farelo de trigo (*Triticum aestivum* L.), pó de casca de ovo, farinhas das sementes de jerimum (*Cucurbita* SPP) e girassol (*Heliantus annuus*) e adicionada a uma associação alimentar de Feijão (*Phaseolus vulgaris*) a 7% e Arroz (*Oryza sativa*) a 3%. Ratos albinos (Wistar) recém-desmamados (n=60) foram distribuídos em 6 grupos: os grupos 1, 2 e 3 receberam Feijão + Arroz + Multimistura (F+A+MM), Feijão + Arroz (F+A) e Caseína a 10% respectivamente; os demais, após permanecerem sob uma dieta aprroteída (Ap) durante 14 dias, passaram a receber as dietas em estudo. Todas as amostras de MM foram submetidas a ensaios microbiológicos. Os coeficientes de digestibilidade (CD), de eficiência alimentar (FER), de eficiência proteica (PER), e utilização da proteína líquida (NPR), assim como os teores séricos de hemoglobina (Hb) e hematócrito (Ht) e lipídios totais da carcaça foram determinados. Após o sacrifício, removeram-se o fígado, cérebro, gônadas, testículos, baço e rim esquerdo para a determinação dos pesos úmido e seco. Amostras de fígado foram histologicamente examinadas. O teste de Mann-Whitney foi utilizado. O teor proteico da dieta F+A aumentou apenas ligeiramente após a adição da MM (0,23 g/100 g). Bolores e leveduras estavam presente em 3 de 4 amostras de MM. Os ratos do grupo com caseína e sem depleção proteica prévia apresentaram os valores mais elevados de FER, PER e NPR. Os pesos úmido e seco de todos os órgãos foram mais altos no grupo com caseína que também apresentou os maiores valores para a gordura da carcaça, Hb e Ht. A esteatose estava presente nos animais com e sem depleção proteica. Os dados sugerem que, pelo menos em nossas condições experimentais, o consumo de MM a curto ou a longo prazo não parecia exercer efeitos significativos sobre os parâmetros estudados.

**SUMMARY.** The use of a Multimistura as a dietary supplement: Study in rats. A Multimistura (MM) -sweet cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf flour, wheat bran (*Triticum aestivum* L.), egg shell powder, pumpkin (*Cucurbita* Spp) and sunflower (*Heliantus annuus*) seed flours -was added to a mixture of Beans, 7% (*Phaseolus vulgaris*) and Rice, 3% (*Oryza sativa*) and its effects, were assessed in weanling, male albino (Wistar) rats (n=60). Animals were divided into 6 groups: groups 1, 2 and 3 were fed beans + rice+ multimixture (B+R+MM), beans + rice (B+R) and 10% Casein, respectively; the remaining groups were maintained on a protein-free diet (PFD) for 14 d and then submitted to the same feeding protocol. Microbiological assays were performed in all MM samples. The Coefficient of Digestibility (CD), the Food Efficiency Ratio (FER), Protein Efficiency Ratio (PER), Net Protein Utilization (NPR), serum hemoglobin (Hb) and hematocrit (Ht), carcass total lipids were determined. Rats had their liver, brain, gonads, testes, spleen and left kidney removed for wet dry weights. Liver samples were histologically examined. The Mann-Whitney test was used. The protein content of B+R diet increased slightly after MM addition (0,23 g/100 g). Three out of four MM samples had moulds and yeasts. CD values were 90% and 70% for casein and B+R+MM-fed rats, respectively. The highest values for FER, PER and NPR were seen in the casein-fed rats without protein depletion. The casein-fed group had heavier organs (wet and dry weights) and higher values for carcass fat and serum Hb and Ht. Steatosis was present in both groups, with or without protein depletion. Short or long-term MM consumption, at least under our experimental conditions, had no significant effects on investigated parameters.

### INTRODUÇÃO

Em suas tentativas para combater o grave e crescente problema gerado pela fome -a desnutrição- que atinge enormes segmentos populacionais das áreas menos desenvolvidas do planeta, os estudiosos têm procurado utilizar fontes alternativas de alimentos, isoladas ou em associação, de baixo custo e nutricionalmente adequadas.

Inúmeras têm sido as associações alimentares desenvolvidas com essa finalidade, dentre elas as elaboradas à base de leguminosas e cereais, como feijão e arroz, produtos amplamente cultivados e de grande consumo, há longo tempo incorporados aos hábitos alimentares das populações. Em Pernambuco, Nordeste do Brasil, por exemplo,

30% das calorias consumidas se originam principalmente desses dois alimentos (1). O consumo médio de feijão em determinadas áreas rurais chega a alcançar 200 g/dia; em outras, a leguminosa contribui com até 30% da ingestão proteica per capita (2,3,4,5,6,7).

O feijão é rico em lisina e suas proteínas são complementares às de cereais reconhecidamente deficientes neste aminoácido, como o arroz (4,8,9), importante fonte de calorias e proteínas na alimentação.

Entre os cereais, o arroz é uma das principais fontes alimentares de mais da metade da população mundial (10). O Brasil teve uma produção de 2.558 kg/ha, em 1996, e Pernambuco 4.023 kg/ha, em 1994 (11). Vale salientar que ambos os alimentos são produtos da cesta básica do brasileiro. Preocupados com a situação alimentar e nutricional de segmentos populacionais carentes de nosso país, julgamos oportuno estudar o uso de uma multimistura (MM), elaborada à base de subprodutos nacionalmente conhecidos e utilizados como alimentação alternativa de diferentes grupos etários, a saber: farelo de trigo, pó de casca de ovo e farinhas de folha de macaxeira, de sementes de jerimum e girassol.

1. Professor Adjunto I  
2. Professor Adjunto IV  
3. Nutricionista

O farelo de trigo constitui uma excelente fonte de fibras alimentares, com grande capacidade de absorção de água, além de conter vitaminas (E e do complexo BB), cálcio, ferro e zinco em teores nutricionais adequados (12,13).

O pó da casca de ovo é muito rico em cálcio e sua utilização na alimentação infantil tem sido prática tradicional em várias comunidades do país, o que justifica plenamente a realização de estudos sobre sua composição química, fatores antinutricionais, toxidez e biodisponibilidade (12).

A macaxeira, também denominada de aipim, mandioca doce, mandioca manteiga (14), é um produto vegetal consumido em larga escala pela população de muitos países em desenvolvimento, inclusive o Brasil. Suas raízes têm um teor bastante reduzido de proteínas e vitaminas, sendo constituídas quase que exclusivamente de carboidratos (até 33%) na raiz fresca). Contudo, a parte aérea do vegetal é uma rica fonte de proteínas e de caroteno. É oportuno salientar que as ramas e folhas da macaxeira já são utilizadas como alimento em muitas regiões equatoriais e subtropicais do globo (15).

Importante oleaginosa originária da América do Norte, o girassol é cultivado nos climas temperados, subtropicais e tropicais. As sementes contêm entre 20 e 40% de óleo comestível que se utiliza em preparações culinárias. Seus teores de metionina e triptofano são elevados e a lisina, o aminoácido limitante. Vale ainda ressaltar que o azeite é rico em ácido linoléico e pobre em ácidos graxos saturados, o que faz com que seu uso seja recomendado em regimes especialmente indicados para reduzir níveis de colesterol no sangue (16).

A produção de jerimum no Brasil varia de 10 a 20 toneladas por hectare, e o rendimento de suas sementes é variável entre cultivares de uma mesma espécie, podendo apresentar uma produção de até 500 kg por hectare. Os teores de proteína das sementes de jerimum são de 37,6 g/100g (sem casca e cruas), 68,8 g/100 g (sem casca e cruas), 68,8 g/100g (sem casca e desengorduradas) e de 90,3 g/100 g para o isolado (17). O objetivo deste trabalho foi avaliar, através do crescimento e estado nutricional de ratos, o efeitos do consumo de uma associação vegetal (Feijão e Arroz) suplementada com a multimistura, ambas constituídas por produtos e subprodutos largamente utilizados no Nordeste brasileiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Dietas:** O feijão (*Phaseolus vulgaris*) e o arroz (*Oryza sativa*) foram obtidos nos mercados locais, utilizando-se as variedades de maior consumo pela população e sendo seus teores protéicos determinados através do método de Kjeldahl (18).

Os grãos foram cozidos em água, mais ou menos 2 horas, dessecados em estufa (60 °C) e pulverizados em moinho (Floor Grind Mill-Chuo Boeki Goshi Kaisha) separadamente. Os produtos resultantes foram passados em peneira de 60 mesh, obtendo-se as farinhas utilizadas nas dietas experimentais (Feijão + Arroz e Feijão + Arroz + MM), cuja composição centesimal é descrita na Tabela 1.

A multimistura, fornecida por uma instituição hospitalar que atende à comunidade do Bairro de Areias da cidade do Recife, foi usada na proporção de 1,2 g. A MM continha 0,23 g de proteína para cada 100 g de ração oferecida aos animais. Seu teor protéico estava assim distribuído (g/100 g): farelo de trigo (*Triticum aestivum* L.), 0,13; pó da casca de ovo, 0,002; farinhas de folha de macaxeira (*Manihot esculenta* Crantz), 0,03; sementes de jerimum (*Curcubita spp.*), 0,04 e girassol (*Heliantus annuus*), 0,03.

A dieta aprotéica continha teores balanceados de todos os outros nutrientes; a de caseína (Tabela 2) seguiu as normas preconizadas

pelo National Research Council (NRC) para o rato (19), sendo utilizada como controle.

TABELA 1  
Dieta Feijão + Arroz (g/100 g)

Constituintes	Quantidade	Proteína	Carboidratos	Gordura	Fibra	Sais Minerais
Feijão	36.08	7.00	23.92	0.59	1.32	1.23
Arroz	31.64	3.00	25.22	0.19	0.19	0.16
Oleo	8.20	-	-	8.20	-	-
Fibra	0.50	-	-	-	0.50	-
Amido	23.58	0.23	20.71	0.05	-	0.04
Total	100.00	10.23	69.85	9.03	2.00	1.43

TABELA 2  
Dieta Caseína (g/100 g)

Constituintes	Quantidade	Proteína	Carboidratos	Gordura	Fibra	Sais Minerais
Caseína	11.38	9.58	-	-	-	-
Oleo	8.00	-	-	8.00	-	-
Sais minerais	4.00	-	-	-	-	4.00
Fibra	2.00	-	-	-	2.00	-
Vit. lipossolúveis	1.00	-	-	1.00	-	-
Vit. hidrossolúveis	1.00	-	-	-	-	-
Metionina	0.15	-	-	-	-	-
Amido	72.47	0.72	63.66	0.14	-	0.11
Total	100.00	10.30	63.66	9.14	2.00	4.11

Misturas de vitaminas (20) e minerais (21), confeccionadas de acordo com as necessidades orgânicas dos animais em estudo, foram adicionadas às dietas controle e aprotéica.

O teor de minerais da MM foi determinado em uma amostra submetida à temperatura de 550 °C; as cinzas foram tratadas como o ácido clorídrico, sendo os elementos (Fe, Ca, Mg, Na, K, P, Cu, Mn, Zn) dosados pela técnica de absorção Perkin-Elmer 330 (22).

O ácido cianídrico foi obtido pela análise espectrofotométrica, segundo Smith (23). O método recomendado pelo AOAC (24) foi utilizado para determinação da composição centesimal das dietas, formuladas de modo a conter 10% de proteína.

O controle microbiológico de cada amostra da MM utilizada durante a pesquisa foi feito segundo as normas do Ministério da Saúde (25).

Os índices biológicos aferidos foram: o coeficiente de eficiência alimentar (FER), coeficiente de eficiência protéica (PER) e utilização da proteína líquida (NPR) (19).

As fezes foram recolhidas durante 28 dias, dessecadas e trituradas para determinação do nitrogênio pelo método de Kjeldahl (18).

**Animais:** Fizeram parte do experimento 60 ratos machos, albinos (Wistar), provenientes do Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, desmamados aos 21 dias e com pesos equilibrados (~= 50 g).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos; o primeiro recebeu F+A+MM, o segundo FF+A e o terceiro, a dieta controle (caseína). Os 3 grupos restantes permaneceram, durante 14 dias, na dieta aprotéica e após este período começaram a receber as rações acima.

Durante o período experimental, os ratos permaneceram em gaiolas individuais, sendo-lhes fornecida água e ração *ad libitum*. Semanalmente, houve controle do peso corporal e ingestão alimentar para se determinar o FER, o PER e a NPR.

O peso foi registrado até os 112 dias de idade, quando os animais foram anestesiados (éter etílico), sendo removidos o fígado, cérebro, testículos, rim esquerdo e baço. Os órgãos foram dessecados em estufa (100 °C) e pesados diariamente até valor constante a fim de que fosse determinado o peso seco.

Para o exame histológico, tomou-se uma outra amostra de fígado, que foi colocada em solução formalina a 10% para fixação durante uma semana, quando foi seccionada, embebida em parafina e corada em hematoxilina-eosina (26). No sangue, mediram-se as concentrações de hemoglobina e hematócrito (27); na carcaça, dosaram-se os teores de lipídios totais (28).

Aplicou-se o teste de Mann-Whitney para duas amostras independentes. O nível de rejeição da hipótese de nulidade foi de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor protéico da dieta F+A (Tabela 1) (10,23 g/100 g) foi apenas ligeiramente aumentado em 0,23 g/100 g após a adição da MM, totalizando 10,46 g/100 g. Esse teor adicional foi determinado na quantidade de MM usada neste estudo com base nas informações obtidas da comunidade que a consumia e adaptada à quantidade proporcional ingerida pelo rato.

Os componentes da MM eram relativamente pobres em minerais (g/100 g)\*: Fe, 0,087; Ca, 1,8; Mg, 0,2; Na, 0,0032; K, 0,45; P, 0,69; Cu, 0,0025; Mn, 0,009; Zn, 0,035. Apesar disso, é possível que estes teores possam desempenhar um papel regulador nas transformações metabólicas.

Os aminoácidos sulfurados (metionina + cistina) e o triptofano eram, respectivamente, o 1° e 2° aminoácidos limitantes da dieta em estudo. Na proporção utilizada, a MM não poderia melhorar o cômputo químico da dieta à qual foi adicionada, vez que seu perfil de aminoácidos essenciais estava abaixo das necessidades nutricionais dos ratos. Dados semelhantes foram encontrados por Pessoa et al (29), em ratos, com diferentes proporções de feijão e arroz.

Outro aspecto considerado foi o controle microbiológico da MM durante todo o período do estudo. Das 4 amostras utilizadas, as três primeiras apresentavam uma quantidade de bolores e leveduras incompatível com os padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde (25), ultrapassando o limite máximo de 10<sup>4</sup> Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g).

O Ministério da Saúde (25) chama a atenção para o fato de 20% das amostras de farelo de trigo apresentarem, antes do tratamento térmico, um grau de contaminação microbiológica acima dos valores aceitos para o consumo humano. O farelo de trigo contido na MM consumida pela população de Areias parecia ser o mesmo do utilizado na alimentação animal. Consequentemente, é recomendável seu tratamento térmico adequado, objetivando a esterilização do produto ingerido como suplementação alimentar.

Em relação às sementes de girassol e jerimum, existem poucos estudos (16,17) sobre sua composição química ou presença de substâncias tóxicas, fatores antinutricionais e carcinogênicos.

No pó da folha de macaxeira não foi detectada a presença de ácido cianídrico. Analisando-se a Tabela 2, observam-se valores mais elevados, em termos de consumo alimentar, de proteína e ganho em peso, nos animais mantidos com caseína do que naqueles que recebiam as dietas vegetais até 28 dias do experimento.

A adição de MM às dietas vegetais não aumentou o consumo alimentar, o que poderia ser atribuído à palatabilidade da ração, fator de grande influência, segundo Pellet & Young (30), da ingestão de dietas pelos animais de laboratório.

Quanto aos valores do FER o PER observa-se uma superioridade significativa nos ratos sem depleção protéica e alimentados com caseína em relação aos demais grupos. Entre os experimentais (F + A e F + A + MM), os valores são semelhantes (PER 1,63 e 1,56; FER 0,16 e 0,16, respectivamente) e inferiores quando comparados aos de Pessoa et al (29), que utilizaram a mesma associação alimentar com praticamente o mesmo teor protéico e obtiveram um FER de 0,20 e um PER de 2,69. Pode-se concluir, portanto, que no presente trabalho ocorreu uma redução de 40% para o PER no grupo F + A e de 42% no F + A + MM. O FER apresentou uma redução de 20%.

Assim, a MM parece não ter interferido nesses coeficientes, bem como no NPR, cujos resultados eram semelhantes nos ratos alimentados com as dietas experimentais e inferiores nos do grupo com caseína.

Os coeficientes de digestibilidade eram de aproximadamente 90% para os grupos caseína, conforme se poderia esperar, vez que a dieta é apropriada para a espécie em estudo, e de 70% para os que recebiam as dietas vegetais. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Sgarbieri & Galeazzi (31) e Beausset (32), os quais detectaram uma variação na digestibilidade das proteínas de origem vegetal da ordem de 60 a 80%.

Os teores de fibra das dietas F + A e F + A + MM eram de 2 g/100 g e de 0,07 g/100 g, respectivamente.

Apesar das fibras serem resistentes à hidrólise das enzimas digestivas, a microflora do intestino grosso é capaz de fermentar parcialmente seus constituintes, resultando em produtos que podem alterar o metabolismo da flora intestinal, alguns processo metabólicos do intestino grosso, principalmente a absorção ácidos graxos de cadeia curta, contribuindo, assim, para elevar o metabolismo energético (33,34). Daí, a preocupação quanto aos possíveis problemas que poderão advir em consequência do consumo de quantidades indiscriminadas dessa multimistura.

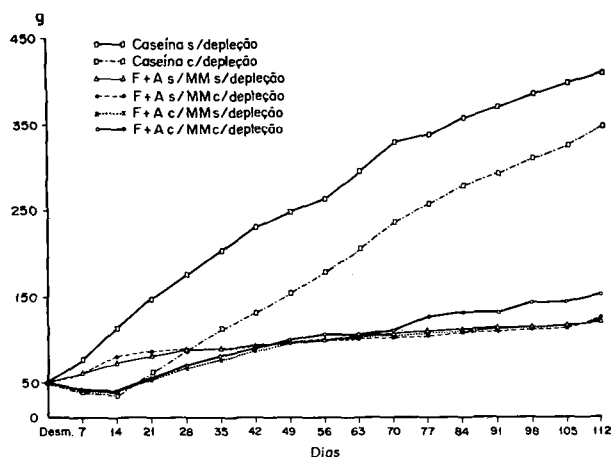
A curva ponderal dos animais do grupo controle até 112 dias (Figura 1) era superior a dos que recebiam F + A e F + A + MM. Vale ressaltar que entre os ratos dos grupos experimentais as curvas eram semelhantes. Conclui-se, assim, que os ratos observados durante curto e longo prazos (28 e 112 dias, respectivamente) não apresentavam efeitos provocados pela MM nas condições estudadas (com e sem depleção). Atente-se ainda para o melhor crescimento dos animais alimentados com caseína, a qual possui um perfil de aminoácidos equilibrado e melhor digestibilidade.

Os valores dos pesos úmido e seco de todos os órgãos estudados evidenciaram uma melhora significativa no grupo caseína em relação aos que receberam as dietas vegetais, com e sem depleção.

Os ratos alimentados com F + A + MM, sob depleção protéica, apresentavam valores mais elevados os pesos seco e úmido do baço e do rim, no peso úmido do fígado e no peso seco dos testículos. Os pesos seco e úmido do cérebro dos animais com e sem depleção protéica eram semelhantes em todos os grupos que recebiam as dietas vegetais em relação aos dos controle, o que confirma a superioridade da proteína animal para o crescimento e desenvolvimento do órgão (Tabela 3).

\* Fonte: Secretaria do Desenvolvimento Regional - Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste (certificado da análise N° 29/95-QM).

FIGURA 1  
Curva ponderal de ratos adultos, alimentados com as dietas experimentais e controle



Estudo realizado por Guedes (35) mostra que o cérebro é bem menos afetado pela desnutrição do que, por exemplo, o fígado, porém com uma diferença essencial: enquanto o fígado pode posteriormente se regenerar, o cérebro não consegue fazê-lo. Por outro lado, o efeito da desnutrição pode ser demonstrado mediante procedimentos relativamente simples como a determinação do peso deste órgão.

A transformação adiposa de hepatócitos foi detectada sob a forma de micro ou macrovacúolos citoplasmáticos. As frequências

de esteatose observadas nos grupos F + A + MM e F + A (sob depleção protéica) foram de 60% e 80% e de 40% e 30% nos F + A + MM e F + A (sem depleção), respectivamente (Tabela 4). Sabe-se que a transformação adiposa ou esteatose é resultante do acúmulo de triglicerídios no interior das células parenquimatosas, sendo observada na desnutrição protéica quando é secundária à síntese deficiente de apoproteínas no fígado (26,36,37). Nos animais estudados, a esteatose parece relacionar-se ao tipo de dieta (vegetal) e ao teor protéico (10%) fornecido aos animais até a idade adulta. Entretanto, é importante ressaltar que a adição de MM às dietas aparentemente não interferiu nesses resultados.

Quanto ao percentual de gordura da carcaça, os valores eram maiores nos ratos com e sem depleção do grupo controle (9 e 11 g/100g, respectivamente) e praticamente semelhantes nos demais (F + A + MM, 6 e 7 g/100 g e F + A, 5 e 6 g/100 g, respectivamente). Os níveis de hemoglobina e hematócrito não apresentaram diferenças entre os grupos (Tabela 5).

Em razão da escassez de dados analíticos sobre esses parâmetros, nas condições específicas deste estudo, tornou-se inviável comparar nossos achados com os da literatura.

A normalidade dos dados hematológicos não parece decorrer da adição da MM às dietas experimentais, vez que, segundo Prado et al (38), a prevenção e a cura de anemia em crianças desnutridas não foram alcançadas por meio do fornecimento do farelo de trigo, um dos constituintes da MM, como suplemento alimentar.

Nossos dados levam a concluir que o uso da MM, a curto e longo prazos, na proporção adicionada aos dois alimentos que compõem a cesta básica (feijão e arroz), não exerceu efeitos marcantes sobre os parâmetros estudados.

TABELA 3  
Parâmetros biológicos de ratos adultos alimentados durante 28 dias com as dietas experimentais e controle\*

Dietas	Consumo (g)		Ganho em peso (g)	Coeficiente de Eficiência Alimentar	Coeficiente de Eficiência Protéica	Coeficiente de Digestibilidade (g/100 g)	Utilização da Proteína Líquida
	Ração	Proteína					
Com depleção protéica <sup>1</sup>							
Caseína	131.64	13.55	-	-	-	93	-
	±36.52	±3.76					
Feijão+Arroz+MM	111.06	11.61	-	-	-	75	-
	±22.96	±2.40					
Feijão+Arroz	99.88	10.21	-	-	-	71	-
	±12.91	±1.32					
Sem depleção protéica <sup>2</sup>							
Caseína	348.14 <sup>ab</sup>	35.85 <sup>ab</sup>	126.47 <sup>ab</sup>	0.36 <sup>ab</sup>	3.52 <sup>ab</sup>	92	4.83 <sup>ab</sup>
	±43.73	±4.50	±24.90	±0.03	±0.32		±0.25
Feijão+Arroz+MM	225.01	23.53	36.85	0.16	1.56	73	2.90
	±26.64	±2.78	±7.53	±0.01	±0.15		±0.28
Feijão+Arroz	230.89	23.62	38.61	0.16	1.63	69	3.16
	±28.84	±2.95	±8.10	±0.01	±0.17		±0.46

MM= Multimistura

(\*) Valores médios ± Desvio Padrão; Comparação pelo teste de Mann-Whitney, n=10 animais por grupo

(1) Animais previamente submetidos à dieta aprotéica durante 14 dias

(2) Animais submetidos às dietas experimentais durante o ensaio

a: p<0.05 Caseína x Feijão + Arroz

b: p<0.05 Caseína x Feijão + MM

c: p<0.00 Caseína + Arroz x Feijão + Arroz + MM

TABELA 4  
Peso medio (g) de órgãos de ratos adultos alimentados com as dietas experimentais e controle\*

Dietas	Fígado		Cérebro		Baço		Rim Esquerdo		Testículos	
	úmido	seco	úmido	seco	úmido	seco	úmido	seco	úmido	seco
Com depleção protéica <sup>1</sup>										
Caseína	10.33 <sup>ab</sup>	3.09 <sup>ab</sup>	1.81 <sup>ab</sup>	0.39 <sup>b</sup>	0.70 <sup>ab</sup>	0.16 <sup>ab</sup>	0.92 <sup>ab</sup>	0.22 <sup>ab</sup>	2.78 <sup>ab</sup>	0.36 <sup>ab</sup>
	±1.86	±0.64	±0.10	±0.06	±0.31	±0.08	±0.07	±0.01	±0.58	±0.07
Feijão+Arroz+MM	4.69 <sup>c</sup>	1.52	1.57	0.35	0.31 <sup>c1</sup>	0.07	0.50 <sup>c</sup>	0.12 <sup>c</sup>	2.19	0.27 <sup>c</sup>
	±0.89	±0.48	±0.12	±0.05	±0.05	±0.01	±0.07	±0.02	±0.64	±0.09
Feijão + Arroz	3.66	1.15	1.54	0.39	0.26	0.06	0.42	0.11	1.73	0.21
	±0.61	±0.50	±0.11	±0.20	±0.04	±0.01	±0.05	±0.04	±0.74	±0.11
Sem depleção protéica <sup>2</sup>										
Caseína	11.63 <sup>ab</sup>	3.61 <sup>ab</sup>	1.86 <sup>ab</sup>	0.39 <sup>ab</sup>	0.59 <sup>ab</sup>	0.14 <sup>ab</sup>	1.03 <sup>ab</sup>	0.25 <sup>ab</sup>	2.57 <sup>ab</sup>	0.33 <sup>ab</sup>
	±1.654	±0.54	±0.13	±0.03	±0.07	±0.01	±0.08	±0.01	±0.096	±0.13
Feijão+Arroz+MM	3.93	1.17	1.57	0.33	0.24	0.05	0.46	0.11	1.12	0.13
	±0.78	±0.22	±0.06	±0.02	±0.03	±0.01	±0.08	±0.02	±0.47	±0.06
Feijão+Arroz	3.64	1.11	1.55	0.33	0.25	0.06	0.45	0.11	0.90	0.11
	±0.93	±0.36	±0.08	±0.01	±0.07	±0.02	±0.07	±0.02	±0.21	±0.02

MM= Multimistura

(\*) Valores médios ± Desvio Padrão; Comparação pelo teste de Mann-Whitney, n=10 animais por grupo

(1) Animais previamente submetidos à dieta aprotéica durante 14 dias

(2) Animais submetidos às dietas experimentais durante o ensaio

a: p<0.05 Caseína x Feijão + Arroz

b: p<0.05 Caseína x Feijão + MM

c: p<0.00 Caseína + Arroz x Feijão + Arroz + MM

TABELA 5

Aspecto histológico do fígado de ratos adultos alimentados com as dietas experimentais e controle\*

Dietas	Normal (%)	Com Esteatose (%)
Com depleção protéica <sup>1</sup>		
Caseína	100	0
Feijão + Arroz + MM	40	60
Feijão + Arroz	20	80
Sem depleção protéica <sup>2</sup>		
Caseína	100	0
Feijão + Arroz + MM	60	40
Feijão + Arroz	70	30

MM= Multimistura

(\*)n= 10 animais por grupo

(1) Animais previamente submetidos à dieta aprotéica durante 14 dias

(2) Animais submetidos às dietas experimentais durante o ensaio

TABELA 6

Valores hematológicos e de gordura da carcaça de ratos adultos alimentados com as dietas experimentais e controle\*

Dietas	Hematocrito (g/100ml)	Hemoglobina (g/dl)
Com depleção protéica <sup>1</sup>		
Caseína	44.40	13.72
	±2.41	±1.55
Feijão + Arroz + MM	43.70	13.42
	±2.89	±1.06
Feijão + Arroz	39.55	13.46
	±5.79	±1.23
Sem depleção protéica <sup>2</sup>		
Caseína	45.57	13.89
	±1.88	±1.42
Feijão + Arroz + MM	44.38	12.51
	±1.83	±0.58
Feijão + Arroz	44.39	13.38
	±2.46	±1.02

MM= Multimistura

(\*) Valores médios ± Desvio Padrão; Comparação pelo teste de Mann-Whitney, n= 10 animais por grupo

(1) Animais previamente submetidos à dieta aprotéica durante 14 dias

(2) Animais submetidos às dietas experimentais durante o ensaio

## REFERÊNCIAS

- Lucena M.A.F. de Romani, de A.M. S., Maia S.R. & de Albuquerque S.R.M.C.. Contribuições para a melhoria da situação alimentar e nutricional do Brasil - Dietas básicas regionais de custo mínimo (Estado de Pernambuco). Recife UFPE 48p. 1984.
- Antunes P.L. & Sgarbieri V.C. Influence of time and conditions of storage on technological and nutrition properties off a dry (*Phaseolus vulgaris* L.), variety Rosinha G. J Food Sci 44:1703-1706, 1979.
- Kies C., Williams E. & Fox H.M. Determination of first limiting nitrogenous factor in corn protein for nitrogen retention in human adults. J Nutr 86:350-356, 1965.
- Coelho RG. Qualidade protéica e biodisponibilidade de metionina em proteínas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L). Campinas, 179 p. (Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas), 1993.
- Sgarbieri V.C., Antunes P.L. & Almeida L.D. Nutritional evaluation of four varieties of dry bean (*Phaseolus vulgaris*, L) J Food Sci 44:1306-1309, 1979.
- Sgarbieri V.C., Antunes P.L. & Almeida L.D. Nutritional evaluation of four varieties of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J Food Sci 44:1306-1309, 1979.
- Sgarbieri V.C. Composition and nutritive value of beans (*Phaseolus vulgaris* L). World Rev Nutr & Diet 60:132-198, 1989.
- Coelho G.R. Considerações sobre as proteínas de feijão. Rev Nutr Puccamp 4: 122-145, 1991.
- Sánchez L.A., Santos Y.E. dos, Takamura K., Treptow R.M. de O. & Dutra de Oliveira J.E. Estudos nutricionais com arroz (*Oryza sativa* L.). Aliment e Nutr 5:37-48, 1993/1994.

10. Alencar M.L.C.B. de & Alvarenga M.G. Farelo de arroz. Composição química e seu potencial como alimento. Arq Bio Tecnol 34:95-108, 1991.
11. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro, v.9, n 1, p.3. 1997.
12. Ministério da Saúde Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. Conclusões do Grupo de Trabalho sobre «Alimentação Alternativa» Brasília, 11p. 1994.
13. Salgado S.M. Polpa de frutos congelada: efeito do processo sobre o conteúdo de fibra alimentar. Recife, 50p (Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco), 1995.
14. Franco G. Tabela de composição química do alimento, 9a ed. Rio de Janeiro, Ed Atheneu 307p. 1992.
15. Vitri P., Figueiredo I.B. & Angelucci E. Folhas de mandioca desidratada para fins de alimentação humana. Colet Inst Tecnol Alim 4:117-125, 1971/1972.
16. FAO. Utilización de Alimentos Tropicales semillas oleaginosas tropicales; compendio sobre los aspectos tecnológicos de la elaboración y la utilización de alimentos tropicales, tanto de origen animal como vegetal, con fines de capacitación y de referencia sobre el terreno. Roma, 92p. (Estudio FAO Alimentacion y Nutrición, 46/5) 1991.
17. Salgado M.Y. & Takashima M.K. Caracterização química e biológica da farinha e isolado proteico de semente de abóbora (*Cucurbita moschata*). Arch Latinoamer Nutr 42:443-450, 1992.
18. The Hengar Technique for the Kjeldahl procedure 8p. 1965.
19. Campbell J.A. Method for determination of PER & NPR. In: Committee on Protein Malnutrition. Food and Nutrition Board. Evaluation of protein quality. Washington p.31-32. 1963.
20. Fox M.R.S. & Briggs G.M. Salt mixtures for purified type diets. III. An improved salt mixture for chicks. J Nutr 72:242-250, 1960.
21. Pereira N.P.S. de. Proteína isolada da soja (*Glycine max*). Influência no metabolismo do ácido oleico verificada com o emprego do 125. São Paulo, 60 p. (Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo), 1973.
22. Analytical methods for atomic absorption spectrophotometric. Narwelk, Ed. Perkin-Elmer, p.25-37. 1966.
23. Smith R.G. A method for the quantitative determination of cyanide in small amounts. Quantitative Determination of Cyanide, v.51:p.1117-1174, 1992.
24. Horwitz W. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 3rd. ed. Washington, AOAC 1094p. 1975.
25. Ministério da Saúde. Portaria N°01-DINAL, Brasília, jan. 1987.
26. Conran R.S., Robbins S.L. & Kumar V. Robbins pathologic basis of disease. 5th ed. Philadelphia 1400 p. 1994
27. Janini P. & Janini P.F. Interpretação clínica do hemograma. 10a ed. São Paulo: Ed. Sarvier p.13-45. 1990.
28. Enteman C. General procedures for separating lipid components of tissue. In: Colowick S.P. & Kaplan N.O. Methods in enzymology. New York, Ed. Academic Press v.3, p.299-317. 1957.
29. Pessoa D.C.N. de P., Lago E.S., Freitas L.P. da C.G. de, Antunes N.L., Bion F.M. & Medeiros R.B. Mistura de feijão e arroz de alto valor nutritivo. Rev Bras Med 12:127-132, 1979.
30. Pellet P.L. & Young V.R. Nutritional evaluation of protein foods. Tokyo: The United Nations University, 136p. 1980.
31. Sgarbieri V.C. & Galeazzi M.A.M. Composition and nutritive value of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). World Rev Nutr Diet 60:132-198, 1989.
32. Beausset I. de. Estudio de las bases científicas para el uso de alimentos alternativos en la nutrición humana. Brasília, INAN/ UNICEF 56p. 1995.
33. Carraza F.R. Nutrição clínica em pediatria. São Paulo: Ed. Sarvier 320p. 1991.
34. Lajolo F.M. Considerações sobre carboidratos e fibra. Arch Latinoamer Nutr 38:519-539. 1988.
35. Guedes R.C.A. O cérebro desnutrido. Cien Hoje, 3:61-65, 1985.
36. Flores H., Sierralta W. & Monckberg F. Triglyceride transport in protein depleted rats. J Nutr 100:375-379, 1970.
37. Flores H., Seakins A., Brooke O.G. & Waterlow J.C. Serum and liver triglycerides in malnourished Jamaican children with fatty liver. Am J Clin Nutr 27:610-614, 1974.
38. Prado M. da S., Assis A.M.O., Franco V. de B., Araújo M. da P.N., Silva A., Faria J.A. & Martins M.C. Suplementação da dieta com farelo de trigo e recuperação da anemia em crianças de 1 a 6 anos de idade. R Nutr Puccamp 8: 145-163, 1995.

Recibido: 12-07-1996

Aceptado: 14-04-1997

# Conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de educación básica y media de diferentes niveles socioeconómicos<sup>1</sup>

Daniza Ivanovic M.<sup>2</sup>, Carmen Gloria Castro G.<sup>3</sup> y Rodolfo Ivanovic M.<sup>4</sup>

Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Unidad de Nutrición y Rendimiento Escolar. Santiago, Chile.

**RESUMEN.** El propósito de este estudio fue evaluar el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de Educación Básica y Media, de la Región Metropolitana de Chile y determinar el impacto relativo que ejercen sobre dichos conocimientos, variables socioeconómicas, socioculturales y demográficas. Se seleccionó una muestra representativa y proporcional de 4.509 escolares de la Región Metropolitana de Chile, de los cuales a 1985 de sus madres (44% de la muestra), fue posible determinarles el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales. La muestra fue estratificada de acuerdo al curso (I, II, IV, VI y VIII año básico y I y IV año medio), sexo, área geográfica y tipo de colegio. El nivel socioeconómico (NSE) se determinó mediante el Método de Graffar Modificado. El nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales se evaluó mediante un test basado en los objetivos específicos contemplados en los programas de estudio del Ministerio de Educación, para la Educación Básica, ya que el nivel de escolaridad promedio de las madres fue de  $9,7 \pm 4,0$  años, el cual fue sometido a adecuadas pruebas estadísticas, para su validez y fiabilidad. El estudio en terreno se efectuó el período 1986-1987. El análisis estadístico de los datos incluyó análisis de varianza, test de la «t» de Student, para comparación de medias, correlación y regresión múltiple stepwise. Los resultados mostraron que las madres manifestaron desconocimientos en el campo de la alimentación y nutrición, en aspectos fundamentales para mantener un estilo de vida saludable, tanto de ella, como de su familia. El nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales correlacionó directa y significativamente con el NSE, nivel de escolaridad y de ocupación de la madre, calidad y saneamiento básico de la vivienda y edad, e inversa y significativamente con el número de hijos y hacinamiento, además de ser significativamente superior en las madres del área urbana, en comparación con las del área rural. El nivel de escolaridad de la madre y el área geográfica fueron las variables independientes con el mayor poder explicatorio en la varianza de los conocimientos ( $r^2=0,1723$ ), en donde el nivel de escolaridad de la madre explica el 93,2% de la varianza explicada. Los resultados indican que es necesario implementar programas de educación en nutrición, en el curriculum escolar, focalizados a la madre y al educando, para mejorar la calidad de vida de la población.

**SUMMARY.** Food and nutrition knowledge of school-age children's mothers from elementary and high school. The objective of this study was to determine the degree of knowledge on food and nutrition of school-age children's mothers from Chile's Metropolitan Region and to measure the impact of socioeconomic, sociocultural and demographic variables on knowledge. A representative and proportional sample of 4,509 school-age children was chosen from Chile's Metropolitan Region and the degree of knowledge on food and nutrition on mothers of 1,985 of them was determined. The sample was stratified according to grade (I,II,IV, VI, VIII elementary school grades and I and IV high school grades), sex, type of school and geographic area. Socioeconomic status (SES) was determined through Graffar's modified method. The degree of knowledge on food and nutrition was assessed by a test based on the specific objectives pursued by the elementary school curriculum programs of the Ministry of Education and submitted to adequate statistical proofs for its content validity and reliability. Mother's schooling level mean was  $9.7 \pm 4.0$  y. The field study was carried out on 1986-1987. Statistical procedures included analysis of variance, Student «t» test for comparison of the means, correlation and regression. Results revealed that mothers did not know food and nutrition matters in fundamental aspects related to the observance of a healthy lifestyle, both, for themselves and their family. The degree of knowledge of food and nutrition significantly and positively correlated with SES, mother's schooling and occupation level, housing conditions (quality and sanitation) and age, and significantly and inversely correlated with the number of sons and crowding, besides of being significantly higher in urban than rural mothers. Mother's schooling level and geographic area were the independent variables with the greatest explanatory power in the food and nutrition knowledge variance ( $r^2=0,1723$ ), but mother's schooling level explains 93,2% of the explained variance. Results suggest the need to introduce, during school age, nutrition education programs focused on mother and children to improve the population life quality.

## INTRODUCCION

El considerable incremento de las enfermedades crónicas relacionadas con la dieta registrado en muchos países en desarrollo, entre

ellos Chile, subraya la necesidad de vincular los aspectos nutricionales con las políticas y los planes de desarrollo. Al respecto, la Conferencia Internacional sobre Nutrición, ha destacado a la educación nutricional, como la primera prioridad para lograr la promoción de dietas y modos de vida sanos. Igualmente, se ha puesto especial énfasis en el hecho que las mujeres y los niños figuran entre las primeras víctimas de la pobreza y la malnutrición, en situaciones en que las creencias vigentes legitiman su posición de inferioridad. Por otra parte, destaca que son muchas las formas en que las mujeres contribuyen al estado nutricional de todos los miembros del hogar y, de hecho, lo determinan. Si bien estas contribuciones son apreciables en todo el mundo, revisten especial importancia en las familias pobres. Por lo tanto, los conocimientos, aptitudes y prácticas alimentarias de la madre, determinan en gran medida el estado nutricional de la familia

1. Financiado mediante Grant 1164/1984 y 0818/1988 del Fondo de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) y Grant SS2169-924F, del Dpto. Técnico de Investigación de la Universidad de Chile
2. Profesor Asociado. Jefe Unidad de Nutrición y Rendimiento Escolar. INTA.
3. Laboratorista Químico. Ayudante Técnico.
4. Ayudante Primero. Sociólogo. Licenciado en Sociología. (Fallecido el 16-12-1991)

Los resultados de diversas investigaciones señalan que la madre es, para el niño de toda edad, la principal fuente de información en materia de alimentación y nutrición; no obstante, a pesar que su rol disminuye a medida que descendemos en el estrato socioeconómico, debido a su menor nivel de escolaridad, aún en estas circunstancias, es señalada en primera prioridad, por un elevado porcentaje de los niños (2,3).

En relación a lo anteriormente mencionado, en Chile a pesar que los programas de estudio que el Ministerio de Educación ha formulado para la Educación Básica, contemplan una serie de objetivos que dicen relación más bien con conceptos básicos de alimentación y nutrición, no es menos cierto que no existe una línea curricular tendiente a efectuar una adecuada promoción de dietas sanas para prevenir las gravísimas enfermedades crónicas relativas a la dieta. Esto se traduce en que el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de las madres, son también bajos. Más aún, hay áreas temáticas, como por ejemplo problemas nutricionales colectivos, fisiología nutricional y enfermedades crónicas de la dieta, que prácticamente no se tratan y muchas de ellas, no aparecen consignadas en los programas de estudio.

Los hallazgos de diversos autores han destacado la importancia de educar a la madre, con el objeto de lograr mejorías sustantivas en la salud del niño, ya que su nivel de conocimientos alimentarios afectaría significativamente la ingesta dietaria y, por ende, el estado nutricional del hijo (6-8). Al respecto, se ha sugerido, como una alternativa muy efectiva para mejorar el estado nutricional del hijo, que los programas de educación en nutrición en materias de seguridad alimentaria dirigidos a las madres, deberían estar integrados a los programas nacionales de alimentación del niño (9). Esta sugerencia se fundamenta en el hecho que algunos estudios han concluido que, el bajo nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de las madres es uno de los factores de riesgo importantes, para lograr cambios apropiados en la dieta del niño, y así, prevenir algunas patologías (10,11).

Diversos estudios se han efectuado, a nivel internacional, con positivos resultados, con el objeto de implementar programas de educación en nutrición, desde temprana edad, tendientes a incrementar el nivel de conocimientos alimentarios de los escolares y de sus padres, en especial el de la madre, con el objeto de mejorar su comportamiento alimentario-nutricional y de salud (12-14); no obstante, en Chile, esta situación no ocurre.

De todos los esfuerzos que se realizan para mejorar la nutrición, la promoción de mejores hábitos alimentarios y de un comportamiento positivo con respecto a la salud, es una de las tareas más difíciles. Además del aspecto relativo a la educación, las estrategias metodológicas destinadas a promover dietas sanas, deben incluir elementos que sirvan de estímulo y creen oportunidades para que la gente cambie su comportamiento. En Chile, no se cuenta con investigaciones relativas a conocer el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de las madres, por lo que no se cuenta con diagnósticos de esta realidad, que puedan servir de base para la implementación de programas de educación en nutrición focalizados, en especial, a los sectores de mayor pobreza, con el objeto de contribuir a mejorar su calidad de vida.

El propósito de este estudio fue conocer el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de Educación Básica y Media de la Región Metropolitana de Chile y determinar el impacto relativo que ejercen sobre dichos conocimientos, variables socioeconómicas, socioculturales y demográficas.

## MATERIAL Y METODOS

**Selección muestral:** El universo en estudio estuvo conformado por 523.158 escolares, matriculados en 1986 en la Región Metropolitana de Chile, en I, II, IV, VI y VIII Año Básico y I y IV año Medio. Se seleccionó una muestra representativa de 4.509 escolares, elegida por etapas múltiples, proporcional y estratificada de acuerdo al curso, sexo, tipo de colegio y área geográfica. El plan muestral se diseñó con el objeto de obtener una muestra equivalente al 1% del universo en estudio. El tamaño de la muestra en cada estrato, es proporcional al tamaño de dicho estrato en el colectivo y se calculó con 95% de confiabilidad y 5% de error. El estudio en terreno se efectuó el período 1986-1987 en 13 establecimientos educacionales, pertenecientes a 8 comunas de la Región Metropolitana de Chile. La muestra es representativa del 38% de la población escolar chilena, para los cursos seleccionados, ya que la Región Metropolitana de Chile agrupa a tal proporción de escolares. Se seleccionaron los cursos antes mencionados, debido a que representan el término de cada uno de los representativos subciclos, al cabo de los cuales el educando debería haber internalizado una serie de objetivos, los cuales son perfectamente evaluables. Sin embargo, el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales fue posible medirlo en 1985 madres (44% de la muestra total).

**Medición del nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales:** El nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de las madres se determinó mediante un test basado en los objetivos específicos que dicen relación con alimentación y nutrición, contemplados en los programas oficiales de estudio del Ministerio de Educación de Chile, en la asignaturas de Ciencias Naturales y Educación Técnico Manual de la Educación Básica (4). Se siguió esta metodología basándose en el promedio de escolaridad de las madres ( $9,7 \pm 4,0$  años). La validez de contenido del test se fundamenta en el hecho que está basado en los objetivos curriculares contemplados en los programas de estudio que para la Educación Básica, ha formulado el Ministerio de Educación, por los cuales se rigen todos los establecimientos educacionales del país (4), además de someterse a jueces. Se confeccionó una tabla de especificaciones, siguiendo la misma metodología empleada en estudios previos (5,15,16). Se efectuó un test piloto en 80 madres, en donde la fiabilidad se determinó por la correlación de Spearman con la corrección Spearman-Brown, siendo igual o superior a 0,75 en todos ellos, al comparar las preguntas pares con las impares; la consistencia item-test se determinó mediante la correlación de Pearson, entre el puntaje total y el acierto o no, en la respectiva pregunta, siendo igual o superior a 0,25 en todas las preguntas seleccionadas (17). Todas las preguntas con correlaciones inferiores a 0,25 se rechazaron. Se utilizó la correlación de Pearson, porque además de ser una estimación de la fiabilidad, permitía en lo particular, establecer el grado de discriminación del test, con mayor exactitud que la correlación biserial (17). Los contenidos del test fueron desagregados en áreas, las cuales fueron las mismas que se han utilizado en estudios internacionales, con el objeto de poder contrastar los resultados (18). El test se estructuró en base a 42 preguntas divididas en cuatro áreas: Área 1: Conceptos Básicos de Alimentación y Nutrición (17 preguntas), Área 2: Selección de los Alimentos (6 preguntas), Área 3: Prácticas Nutricionales (7 preguntas) y Área 4: Preparación de los Alimentos y Procesos de Conservación (12 preguntas). Las madres fueron citadas al establecimiento educacional, donde se les administró el test en una sala de clases.

**Estudio socioeconómico:** El nivel socioeconómico (NSE) se determinó mediante el Método de Graffar Modificado, que incluye escolaridad y ocupación del jefe del hogar y vivienda (calidad, tenencia, abastecimiento de agua, eliminación de excretas y bienes del hogar) (19), especialmente adaptada para estrato socioeconómico urbano y rural. La escala permite categorizar a la muestra en 6 estratos: 1=NSE alto-alto; 2=NSE medio-alto; 3=NSE medio; 4=NSE medio-bajo; 5=NSE bajo-bajo y 6=Miseria. En el presente estudio y siguiendo las instrucciones del método, se categorizó a la muestra en tres estratos: NSE alto (1+2), NSE medio (3) y NSE bajo (4+5+6).

**Análisis estadístico:** El análisis estadístico de los datos incluyó análisis de varianza, test de la «t» de Student para comparación de medias, correlación y regresión múltiple stepwise (17). Los datos fueron procesados mediante el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) (20).

## RESULTADOS

La Tabla 1 muestra la comparación de las condiciones socioeconómicas, socioculturales y demográficas de las madres que respondieron el test de conocimientos alimentarios y nutricionales, con las que no lo respondieron, faltando a la citación. Se constató que el porcentaje de madres que respondió el test de conocimientos alimentarios y nutricionales fue significativamente mayor en el NSE bajo, en el área rural, en las de menor edad, en los niveles de escolaridad básica incompleta a media incompleta, en los niveles más bajos de ocupación, a la vez que sus condiciones de vivienda eran más precarias, en comparación con las que no respondieron el test ( $p<0.0001$ ). El promedio de edad de las madres fue de  $31.4\pm 2.0$  años (media $\pm$ DE).

TABLA 1

Comparación de las condiciones socioeconómicas, socioculturales y demográficas de madres de escolares de educación básica y media que respondieron al Test de conocimientos alimentarios y nutricionales con las que no respondieron. Chile. Región Metropolitana. 1986-1987

Variables	No respon- dieron (2.524) -----%-----	Respondieron (1985)	Total	X <sup>2</sup>
Nivel socioeconómico				
Alto (1.122)	66.0	34.0	100.0	100.065
Medio (1.619)	58.2	41.8	100.0	2 gl $p<0.0001$
Bajo (1.768)	47.6	52.4	100.0	
Area Geográfica				
Urbana (3.858)	57.6	42.4	100.0	29.293
Rural (651)	46.2	53.8	100.0	1 gl $p<0.0001$
Edad (años)				
<25 (813)	38.0	62.0	100.0	
25-30 (729)	50.6	49.4	100.0	
31-35 (733)	43.2	56.8	100.0	407.765
36-40 (869)	55.6	44.4	100.0	6 gl $p<0.0001$
41-45 (545)	73.4	26.6	100.0	
46-50 (425)	75.3	24.7	100.0	
> 50 (395)	82.5	17.5	100.0	
Nivel de escolaridad				
Analfabetas (49)	59.2	40.8	100.0	
Básica incompleta (992)	45.2	54.8	100.0	
Básica completa (375)	44.8	55.2	100.0	90.875

Media incompleta (691)	43.6	56.4	100.0	6 gl $p<0.0001$
Media completa (1.315)	59.5	40.5	100.0	
Univer. incompleta (119)	50.4	49.6	100.0	
Univer. completa (483)	60.5	39.5	100.0	
Nivel de ocupación <sup>1</sup>				
Cargos directivos (6)	100.0	0.0	100.0	
Empleadas de gradación media (161)	59.0	41.0	100.0	
Obreras especializadas (701)	53.5	46.5	100.0	34.912
Obreras no especializa. (324)	43.5	56.5	100.0	4 gl $p<0.0001$
Cesante con auxilio de cesantía (23)	30.4	69.6	100.0	
Cesante sin auxilio de cesantía (6)	16.7	83.3	100.0	
Dueñas de casa (3.223)	57.3	42.7	100.0	
Número de niños				
1 (302)	49.3	50.7	100.0	
2-3 (2.687)	54.3	45.7	100.0	10.814
4-5 (1.026)	58.4	41.6	100.0	4 gl $p<0.05$
6-7 (173)	57.8	42.2	100.0	
> 7 (79)	60.8	39.2	100.0	
Jefe de hogar				
Padre (3.976)	56.4	43.6	100.0	2.411
Madre (347)	53.0	47.0	100.0	2 gl NS
Otra persona (161)	52.2	47.8	100.0	
Calidad de vivienda				
De lujo (647)	66.2	33.8	100.0	
De buena calidad (924)	66.1	33.9	100.0	
Poblaciones construidas por empresas (1.544)	49.9	50.1	100.0	115.044
Autoconstrucción modesta (1.034)	48.3	51.7	100.0	4 gl $p<0.0001$
Mejora (191)	51.3	48.7	100.0	
Tenencia de la vivienda				
Propietarios (2.919)	57.0	43.0	100.0	
Arrendatarios (815)	52.9	47.1	100.0	13.646
Usufructuarios (217)	57.1	42.9	100.0	4 gl $p<0.01$
Allegados (377)	48.0	52.0	100.0	
Toma de sitio (12)	58.3	41.7	100.0	
Eliminación de excretas				
Con alcantarillado (3.850)	56.5	43.5	100.0	16.151
Sin alcantarillado (490)	46.9	53.1	100.0	1 gl $p<0.0001$
Abastecimiento de agua potable				
Con agua potable (4.275)	55.5	44.5	100.0	0.805
Sin agua potable (66)	50.0	50.0	100.0	1 gl NS

Nota: El número de casos en cada grupo se indica entre paréntesis.

1 Para el cálculo de X<sup>2</sup> se usaron las categorías de cargos directivos + empleadas de gradación media y cesantes con y sin auxilio de cesantía

Las características socioeconómicas, socioculturales y demográficas de las madres que respondieron el test, según NSE, se ilustran en la Tabla 2. Se constató que el área rural concentró al 91.4% de las madres de NSE bajo, porcentaje que desciende a 37.1% en el área urbana ( $p<0.0001$ ), a la vez que en este estrato socioeconómico, las madres presentaron un significativo menor nivel de escolaridad, de ocupación y deterioradas condiciones de vivienda, tenían menor edad y mayor número de hijos, en comparación con los otros NSEs ( $p<0.001$ ). El nivel de escolaridad de la madre fue significativamente mayor en el NSE alto ( $14.3a \pm 2.7$ ) en relación al NSE medio ( $10.7b \pm 2.7$ ) y bajo ( $7.0c \pm 3.0$ ) ( $F=935.58$   $p<0.0001$ ).

La Tabla 3 presenta el comportamiento de la muestra de madres tanto en los resultados totales, como en las diversas áreas del test. Se observa que el porcentaje de respuesta correctas promedio fue de  $57.9\pm 2.5,0$  (media $\pm$ DE), observándose el porcentaje de logro más

bajo, en el Area 2, Selección de los Alimentos y, el más alto, en el Area 4, Preparación de los Alimentos y Procesos de Conservación.

**TABLA 2**  
Condiciones socioeconómicas, socioculturales y demográficas de madres de escolares de educación básica y media que respondieron el Test de conocimientos alimentarios y nutricionales según nivel socioeconómico. Chile. Región Metropolitana. 1986-1987

Variables	Nivel Socioeconómico			Total	χ <sup>2</sup>
	Alto (381)	Medio (677)	Bajo (927)		
-----%-----					
<b>Area Geográfica</b>					
Urbana (1.635)	23.2	39.7	37.1	100.0	343.721
Rural (350)	0.6	8.0	91.4	100.0	2 gl p<0.0001
<b>Edad (años)</b>					
<25 (504)	20.2	37.9	41.9	100.0	
25-30 (360)	9.2	36.6	54.2	100.0	
31-35 (416)	19.2	31.7	49.1	100.0	48.233
36-40 (386)	20.7	30.3	49.0	100.0	12 gl p<0.0001
41-45 (145)	26.9	31.7	41.4	100.0	
46-50 (105)	24.8	31.4	43.8	100.0	
> 50 (69)	30.4	37.7	31.9	100.0	
<b>Nivel de escolaridad</b>					
Analfabetas (20)	0.0	5.0	95.0	100.0	
Básica incompleta (544)	0.7	12.0	87.3	100.0	1311.376
Básica completa (207)	1.0	35.8	63.2	100.0	
Media incompleta (390)	3.9	47.7	48.4	100.0	
Media completa (532)	29.5	53.8	16.7	100.0	
Univer. incompleta (59)	59.3	39.0	1.7	100.0	
Univer. completa (191)	85.3	14.1	0.5	100.0	
<b>Nivel de ocupación<sup>1</sup></b>					
<b>Empleadas de gradación</b>					
media (66)	83.3	15.2	1.5	100.0	
Obreras especializadas (326)	35.6	54.0	10.4	100.0	
Obreras no especializa. (183)	0.0	17.5	82.5	100.0	478.368
<b>Cesante con auxilio de cesantía (16)</b>	0.0	12.5	87.5	100.0	
<b>Cesante sin auxilio de cesantía (5)</b>	40.0	40.0	20.0	100.0	
Dueñas de casa (1.377)	15.1	32.8	52.1	100.0	
<b>Número de niños</b>					
1 (153)	1.2	47.0	45.8	100.0	
2-3 (1.229)	22.0	35.5	42.5	100.0	52.742
4-5 (427)	18.0	28.8	53.2	100.0	18 gl p<0.0001
6-7 (73)	16.4	17.8	65.8	100.0	
> 7 (31)	9.7	25.8	64.5	100.0	
<b>Jefe de hogar</b>					
Padre (1.735)	20.6	34.7	44.7	100.0	23.929
Madre (163)	9.8	32.5	57.7	100.0	4 gl p<0.0001
Otra persona (77)	9.1	28.6	62.3	100.0	
<b>Calidad de vivienda</b>					
De lujo (219)	78.5	20.5	0.9	100.0	
De buena calidad (313)	51.2	43.4	5.4	100.0	
<b>Poblaciones construidas por empresas (774)</b>	5.2	49.4	45.4	100.0	1297.521
<b>Autoconstrucción</b>					
modesta (535)	0.8	15.7	83.5	100.0	8 gl p<0.0001
Mejora (93)	1.1	8.6	90.3	100.0	
<b>Tenencia de la vivienda</b>					
Propietarios (1.256)	21.7	33.9	44.4	100.0	
Arrendatarios (384)	22.7	40.1	37.2	100.0	87.884
Usufructuarios (93)	10.8	29.0	60.2	100.0	8 gl p<0.0001

Allegados (196)	3.6	25.0	71.4	100.0	
Toma de sitio (5)	0.0	0.0	100.0	100.0	
Eliminación de excretas					
Con alcantarillado (1.674)	22.4	38.6	39.0	100.0	296.170
Sin alcantarillado (260)	0.4	3.4	96.2	100.0	2 gl p<0.0001
Abastecimiento de agua potable					
Con agua potable (1.901)	19.8	34.5	45.7	100.0	38.412
Sin agua potable (33)	0.0	0.0	100.0	100.0	2 gl p<0.0001

Nota: El número de casos en cada grupo se indica entre paréntesis. 1 Para el cálculo de X<sup>2</sup> se unieron las categorías de cesantes con y sin auxilio de cesantía.

**TABLA 3**  
Conocimiento alimentarios y nutricionales de madres de escolares de Educación Básica y Media. Chile. Región Metropolitana. 1986-1987

Area de Medición	Puntaje Máximo Posible	Rango	Puntaje <sup>1</sup>	% de respuestas correctas <sup>1</sup>
Resultados totales	42	0-41	24.3 ± 10,5	57,9 ± 25,0
Area 1	17	0-17	9,6 ± 4,2	56,2 ± 24,9
Area 2	6	1-6	2,8 ± 1,8	46,5 ± 29,7
Area 3	7	0-7	3,9 ± 2,0	55,1 ± 28,5
Area 4	12	0-12	8,1 ± 3,6	67,7 ± 29,8

Nota: Los resultados están expresados como media ± desviación estándar. Area 1= Conceptos Básicos de Alimentación y Nutrición. Area 2= Selección de los Alimentos; Area 3= Prácticas Nutricionales; Area 4= Preparación de los Alimentos y Procesos de Conservación. n= 1985

El porcentaje de madres con respuestas correctas en las diversas preguntas del test, según área de medición, se muestra en la Tabla 4. Se puede constatar que, en el Area 1, un porcentaje importante de las madres manifiesta desconocer los grupos de alimentos, los nutrientes presentes en la leche y los nutrientes que son fuente de energía (preguntas 3 a la 5). Al mismo tiempo, no identifican a los aminoácidos como unidades estructurales de las proteínas (pregunta 7), al azúcar, como un carbohidrato (pregunta 8), los requerimientos nutricionales de un escolar (pregunta 10), la frecuencia de consumo de la carne (pregunta 13), los requerimientos nutricionales de la embarazada, la duración de la lactancia materna, como igualmente, las ventajas de ésta (preguntas 15 a la 17). En el Area 2, se observa en general, que un porcentaje importante de las madres desconoce las temáticas evaluadas y que dicen relación con la selección de raciones económicas y de buen valor nutritivo, identificación de un buen sustituto de la carne de vacuno, reconocimiento de alimentos ricos en hierro, identificación de un buen sustituto de la leche, selección de alimentos ricos en vitamina A, y reconocimiento del valor nutritivo del huevo (preguntas 18 a la 23). En el Area 3, un elevado porcentaje de las madres desconoce las consecuencias de la deficiencia de vitamina A (pregunta 25), de vitamina B (pregunta 27), de la ingestión de alcohol (pregunta 28) y de la ingesta excesiva de colesterol (pregunta 30). En el Area 4, a pesar que se observa un mejor rendimiento que en las otras áreas, un porcentaje importante de las madres desconoce que las altas temperaturas matan los parásitos de las carnes (pregunta 31), la importancia de la pasteurización de la leche (pregunta 33), las conservas en buen estado (pregunta 37) y las causas de la caries dentaria (pregunta 38).

TABLA 4

Porcentaje de madres de escolares de educación básica y media con respuestas correctas en el Test de conocimiento alimentario y nutricional según área de medición. Chile. Región Metropolitana. 1986-1987

Áreas de Medición y Número de la Pregunta	% de casos
<b>Area 1. Conceptos básicos de alimentación y nutrición.</b>	
1. Identificación del aparato digestivo como un lugar donde los alimentos se transforman y absorben.	77.7
2. Identificación de la sangre como un vehículo que transporta nutrientes.	76.6
3. Identificación de los grupos de alimentos.	58.4
4. Nutrientes presentes en la leche.	38.1
5. Reconocimiento de los nutrientes que son fuente de energía.	38.4
6. Minerales que participan en la formación de los huesos.	74.9
7. Reconocimiento de los aminoácidos como unidades estructurales de las proteínas.	31.5
8. Identificación del azúcar como un carbohidrato.	48.1
9. Características de una dieta equilibrada.	75.1
10. Requerimientos nutricionales de un escolar.	55.5
11. Identificación de grupos con mayores requerimientos nutricionales.	75.7
12. Frecuencia del consumo de la leche.	84.1
13. Frecuencia del consumo de la carne.	52.4
14. Frecuencia del consumo de verduras y frutas.	81.8
15. Requerimientos nutricionales de la embarazada.	19.7
16. Duración de la lactancia materna.	11.1
17. Ventajas de la lactancia materna.	56.7
<b>Area 2. Selección de los alimentos</b>	
18. Selección de raciones económicas y buen valor nutritivo.	49.5
19. Identificación de un buen sustituto de la carne de vacuno.	62.8
20. Reconocimiento de alimentos ricos en hierro.	26.8
21. Identificación de un buen sustituto de la leche.	25.7
22. Selección de alimentos ricos en vitamina A.	54.9
23. Reconocimiento del valor nutritivo del huevo.	59.3
<b>Area 3. Prácticas nutricionales</b>	
24. Consecuencias de la deficiencia de hierro.	80.5
25. Resultado de la deficiencia de vitamina A.	29.4
26. Características de la desnutrición.	70.9
27. Alteraciones provocadas por deficiencia de vitamina B.	32.5
28. Identificación del alcohol como un factor que reduce la capacidad defensiva del hombre.	30.6
29. Causas de la obesidad.	78.4
30. Relación del colesterol con enfermedades de los vasos sanguíneos.	63.7
<b>Area 4. Preparación de los alimentos y procesos de conservación</b>	
31. Reconocen que las altas temperaturas matan los parásitos de las carnes.	66.7
32. Consecuencias de lavar mal las verduras.	70.9
33. Importancia de la pasteurización de la leche.	64.0
34. Características del pescado fresco.	74.1
35. Reconocimiento de la forma correcta de lavar verduras.	74.6
36. Consecuencias de los parásitos intestinales.	76.5
37. Reconocimiento de conservas en buen estado.	29.3
38. Causas de la carie dentaria.	52.0

39. Reconocimiento de la importancia de eliminar las basuras.	72.8
40. Consecuencias de dejar la leche fuera del refrigerador.	71.8
41. Importancia del lavado de las manos antes de preparar los alimentos.	82.7
42. Identificación de un alimento que puede ser consumido crudo sin mayor riesgo.	77.6

El nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales fue significativamente mayor en las madres que viven en el área urbana, en comparación con las que viven en el área rural ( $p < 0.0001$ ) (Tabla 5) y en las que pertenecen a NSE alto, en comparación con los otros estratos socioeconómicos ( $p < 0.0001$ ) (Tabla 6).

TABLA 5

Conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de Educación Básica y Media según área de medición y área geográfica. Chile. Región Metropolitana, 1986-1987

Área de Medición	Área geográfica		Test de la «t» de Student
	Urbana (1.635) <sup>1</sup>	Rural (350)	
	— % de respuestas correctas —		
Resultados totales	61,02 ± 23,74	43,57 ± 25,77	12,291 ****
Area 1	59,18 ± 23,63	42,42 ± 25,92	11,835 ****
Area 2	50,35 ± 29,20	28,53 ± 24,85	13,007 ****
Area 3	58,08 ± 27,47	41,30 ± 28,98	9,920 ****
Area 4	70,68 ± 28,26	54,05 ± 32,74	9,705 ****

<sup>1</sup> Número de casos en cada grupo.

Nota: Los resultados están expresados como media ± desviación estándar. Area 1= Conceptos Básicos de Alimentación y Nutrición. Area 2= Selección de los Alimentos. Area 3= Prácticas Nutricionales. Area 4= Preparación de los Alimentos y Procesos de Conservación.

\*\*\*\*  $p < 0.0001$

TABLA 6

Conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de Educación Básica y Media según área de medición y nivel socioeconómico. Chile, Región Metropolitana, 1986-1987

Área de Medición	Nivel Socioeconómico			Test de la «t» de Student
	Alto(381) <sup>1</sup>	Medio (677)	Bajo (927)	
	— % de respuestas correctas —			
Resultados totales	70,43 a ± 23,19	61,89b ± 22,56	49,93c ± 24,64	115,56 ****
Area 1	67,86a ± 23,00	59,88b ± 22,80	48,77c ± 24,66	99,64 ****
Area 2	66,05a ± 28,06	50,57b ± 28,00	35,49b ± 26,45	180,61 ****
Area 3	67,17a ± 26,49	59,51b ± 26,60	46,96c ± 28,12	87,27 ****
Area 4	78,15a ± 26,71	71,79b ± 27,16	60,52c ± 30,97	60,24 ****

<sup>1</sup> Número de casos en cada grupo.

Nota: Los resultados están expresados como media ± desviación estándar. Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes al nivel de  $p < 0.05$ , según el test de la «t» de Student. Area 1= Conceptos Básicos de Alimentación y Nutrición. Area 2= Selección de los Alimentos. Area 3= Prácticas Nutricionales. Area 4= Preparación de los Alimentos y Procesos de Conservación.

\*\*\*\*  $p < 0.0001$

Los coeficientes de correlación de Pearson, entre el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de las madres y las variables socioeconómicas, socioculturales y demográficas, se indica en la Tabla 7. Se constató una correlación directa y significativa entre el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de las madres y el NSE, su nivel de escolaridad y de ocupación, la calidad de la vivienda y los sistemas de abastecimiento de agua y de eliminación de excretas ( $p < 0,001$ ) y una correlación inversa y significativa, con el número de hijos ( $p < 0,01$ ) y el hacinamiento ( $p < 0,0001$ ). En relación a las variables demográficas, como ya se mencionó, el nivel de conocimientos fue significativamente mayor en las madres de áreas urbanas, en comparación con las de áreas rurales ( $p < 0,0001$ ); en cuanto a la edad, ésta correlacionó positiva y significativamente con el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales, lo que implica que las madres de los escolares de cursos superiores, tienen un nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales significativamente mayor ( $p < 0,0001$ ).

TABLA 7

Coefficiente de correlación (Pearson) entre el nivel de conocimientos, alimentarios y nutricionales de la madre y variables socioeconómicas, socioculturales y demográficas. Chile. Región Metropolitana. 1986-1987

Variables	Muestra Total (1985) <sup>1</sup>
<b>Variables socioeconómicas y socioculturales</b>	
Nivel socioeconómico de la madre	0,322 ****
Nivel de escolaridad de la madre	0,387 ****
Nivel de ocupación de la madre	0,152 ****
Calidad de la vivienda	0,298 ****
Tenencia de la vivienda	0,030
Sistema de eliminación de excretas	0,194 ****
Sistema de abastecimiento de agua	0,107 ****
Número de hijos	-0,064 **
Hacinamiento	-0,162 ****
<b>Variables demográficas</b>	
Area geográfica (Urbana)	-0,266 ****
Edad	0,180 ****

<sup>1</sup> Número de casos

\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$

La Tabla 8 ilustra la regresión múltiple stepwise efectuada entre el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de las madres (variable dependiente) y las variables socioeconómicas, socioculturales y demográficas (variables independientes). Se observa que en la muestra total, el nivel de escolaridad de la madre, y el área geográfica, son las variables que mayormente contribuyen a explicar la varianza del nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales ( $r^2 = 0,1723$ ), en donde el nivel de escolaridad de la madre, es la variable con el mayor poder explicatorio en la varianza ( $r^2 = 0,1606$ ), explicando el 93,2% de la varianza explicada.

TABLA 8

Tabla de regresión múltiple stepwise entre el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de la madre (variable dependiente) y variables socioeconómicas, socioculturales y demográficas (variables independientes). Chile, Región Metropolitana. 1986-1987

Variable Independiente	R <sup>2</sup> Parcial	R <sup>2</sup> Modelo	F
Nivel de escolaridad de la madre	0,1606	0,1606	350,8804 ****
Area geográfica	0,0118	0,1723	26,0319 ****

\*\*\*\*  $p < 0,0001$

## DISCUSION

Los resultados del presente estudio han permitido verificar que las madres de los escolares de Educación Básica y Media de la Región Metropolitana de Chile, manifiestan deficiencias, en lo que respecta a conceptos básicos de alimentación y nutrición. Al respecto, se pudo constatar que un porcentaje importante de las madres manifiesta desconocer los grupos de alimentos, los nutrientes presentes en la leche, los nutrientes que son fuente de energía y los requerimientos nutricionales de un escolar, todos aspectos que son fundamentales para la alimentación y nutrición del niño y que impactan significativamente en su crecimiento. En otro contexto, resulta sorprendente que un alto porcentaje de las madres desconozca los requerimientos nutricionales de la embarazada, la duración de la lactancia materna y sus ventajas. En lo que respecta a la lactancia materna, se ha descrito un descenso histórico de su duración (21); obviamente, existen muchas causas para explicar tal descenso y, tal vez, el desconocimiento de las madres sobre estas materias, podría estar afectando el mencionado descenso.

En lo que respecta a selección de los alimentos y prácticas nutricionales, un elevado porcentaje de las madres desconoce los alimentos que son fuente de un determinado nutriente, como las consecuencias de su deficiencia. Un aspecto importante es lo concerniente a la ingesta alcohólica, en que sólo el 30,6% conocía que el alcohol reduce la capacidad defensiva del hombre. En relación al problema del alcoholismo, la literatura reporta información relativa a la puesta en práctica de programas relativos a su prevención (22). Educar a la madre en estas materias es muy importante, ya que el alcoholismo de los padres, en especial el de la madre, repercute seriamente en el desarrollo del niño (23).

Otro aspecto importante, es el relativo a la ingesta excesiva de colesterol, en donde aproximadamente el 40% no lo relaciona con enfermedades a los vasos sanguíneos. La situación planteada es especialmente relevante para Chile, ya que la primera causa de muerte en el país, son las enfermedades cardiovasculares (29,0%) (80,0% de responsabilidad de la aterosclerosis) (24). Al respecto, estudios efectuados a nivel internacional, en escolares, han demostrado los positivos efectos que tiene la implementación de un programa de educación en nutrición, tendiente a prevenir las enfermedades cardiovasculares, tanto en los niños, como en sus padres, provocando positivos cambios en los conocimientos, aptitudes y comportamiento, muchos de los cuales se imparten dentro del currículum escolar (25).

Particularmente relevante resulta el hecho que aproximadamente el 50% de las madres desconociera las causas de la carie dentaria,

Este problema nutricional colectivo determinado por déficit de nutrientes, como el fluor y el calcio y, por factores higiénicos, ha tenido siempre una alta prevalencia en la población escolar (26). En este sentido, el deficiente conocimiento que tienen las madres sobre estos aspectos, pudiera estar contribuyendo, en alguna medida, a elevar dicha prevalencia.

La Conferencia Internacional sobre Nutrición, ha destacado a la educación nutricional, como la primera prioridad para lograr la promoción de dietas y modos de vida sanos (1). Como parte del Plan de Acción para la Nutrición que promueve la mencionada conferencia, en el punto 16, se pone especial énfasis en la orientación de la educación nutricional hacia la mujer y la igualdad entre ambos sexos, señalando entre otros aspectos que «además de mejorar la educación de la madre, es preciso formentar la educación nutricional de los hijos». También ha señalado que aunque las enfermedades crónicas relacionadas con la dieta se observan sobre todo en poblaciones opulentas, se observa con creciente preocupación que están incrementándose entre las clases más desposeídas y medias de los países industrializados, observándose como en el caso de Chile, un desplazamiento notable del interés desde los problemas de desnutrición hacia los problemas relacionados con una ingestión alimentaria excesiva y desequilibrada.

Según cifras oficiales, en Chile, el 32,7% de la población vive en situación de pobreza, la cual afectaría al 53,6% de la población menor de 14 años, lo que significa que 1.869.809 niños, viven en esta condición (27). Considerando que estos sectores son los más desfavorecidos en cuanto al acceso a la educación y a la salud, está situación es relevante si pensamos que en el presente estudio, el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales de las madres de los sectores más desposeídos de nuestra sociedad es muy bajo, al igual que el de los escolares que pertenecen a este estrato socioeconómico (5,15,16); la situación es de mayor gravedad en el área rural, en donde el 90,5% de la población escolar pertenece a NSE bajo y en donde, existe un mayor número de hijos y mayores índices de hacinamiento y en donde, tanto escolares como sus madres, tienen deficientes conocimientos alimentarios y nutricionales, siendo estos niños, los que ofrecen una situación nutricional más comprometida (5,28-32).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considerando la alta prevalencia que alcanzan las enfermedades cardiovasculares del adulto, ha hecho un llamado a efectuar acciones de prevención en la niñez y en la juventud, tendientes a remediar este problema, que es la primera causa de muerte, en la mayoría de los países desarrollados y en desarrollo. La OMS destaca especialmente el rol que en esta prevención debieran jugar las escuelas, a las cuales señala como «poderosas instituciones sociales con las cuales se vincula una gran parte de la población. Muchísima gente, tanto niños como adultos, tienen frecuentes contactos con la escuela y la mayoría de las personas vive cerca de una o más escuelas». «Las escuelas pueden contribuir a mejorar la salud de los escolares y de los adultos que trabajan en ellas, y los programas de educación sanitaria pueden ser beneficiosos también para los padres» (33).

La malnutrición y sus variables asociadas aparecen limitando el crecimiento económico de muchos pueblos, crecimiento que encuentra un serio obstáculo, en las limitaciones de los actores sociales más deprivados, los cuales presentan una historia de pobreza muy negativa (34-35). Sin embargo, es destacable el hecho que, de los resultados del presente estudio, se desprende que las madres provenientes de los estratos socioeconómicos más deprivados de nuestra sociedad, son las que manifestaron mayor interés por participar en el presente estudio, probablemente, porque conocían de sus limitaciones. Esto

podría ser muy relevante para la implementación de programas de educación en nutrición en los sectores de mayor pobreza.

Educación al niño y a la madre es una tarea imperiosa, ya que la madre, según se señaló anteriormente, es la fuente de información en alimentación, nutrición y salud, de mayor trascendencia para el escolar (2,3). Sin embargo, habría que destacar que el nivel de escolaridad de la madre es la variable socioeconómica-sociocultural, que mejor contribuye a explicar su nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales, hecho que es similar a lo observado para el rendimiento escolar (36) y la inteligencia del niño (datos enviados a publicación). Por otra parte, las deficiencias observadas en las madres en materia de conocimientos de alimentación y nutrición también fueron observadas en recientes estudios efectuados en la Región Metropolitana de Chile durante el período 1992-1993 (datos enviados a publicación), por lo que sería importante implementar programas de educación nutricional, en el curriculum escolar, dirigidos a la madre y al niño, con el objeto de incrementar el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales a nivel familiar, especialmente en los sectores más pobres y, en último término, mejorar la calidad de vida de la población.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Ministerio de Educación de Chile, por todas las facilidades otorgadas en la realización de la presente investigación; a los maravillosos niños y profesores, por su generosidad y abnegación demostrada durante el desarrollo de la presente investigación. A los señores Juan Ganfn y Manuel Soto, por la impresión de los tests y encuestas y a la Bibliotecaria Sra. Rosa Hernández y Sra. Eduvigis Martínez, por su colaboración en la revisión bibliográfica.

#### REFERENCIAS

1. FAO/OMS. Conferencia Internacional sobre Nutrición: Nutrición y Desarrollo-Evaluación General. Roma, FAO/OMS. 1992.
2. Ivanovic R., Trufello I., Buitrón C. & Ivanovic D. Educational factors influencing the nutritional learning of elementary first grade Chilean students. *Nutr Rep Int* 39:1161-1166. 1989.
3. Ivanovic R., Olivare M. & Ivanovic D. Sources of nutrition information of Chilean schoolers, Metropolitan Region, Chile, Survey 1986-1987. *Arch Latinoam Nutr* 41:527-538, 1991.
4. Chile. Ministerio de Educación. Planes y Programas de Estudio para la Educación General Básica. Ministerio de Educación-CPEIP. Santiago, Chile. *Revista de Educación* 79:106-107. 1980.
5. Ivanovic D., Castro C. & Ivanovic R. Conocimientos alimentarios y nutricionales de escolares chilenos de Educación Básica y Media. *Rev Med Chile*, 124:1058-1070, 1996.
6. Dargent-Molina P., James S.A., Strogatz D.S. & Savitz D.A. Association between maternal education and infant diarrhea in different household and community environments of Cebu, Philippines. *Soc Sci Med* 38:343-350, 1994.
7. Contento I.R., Basch C., Shea S., Gutin B., Zybert P., Michela J.L. & Rips J. Relationship of mothers' food choice criteria to food intake of preschool children: identification of family subgroups. *Health Educ Q* 20:243-259, 1993.
8. Ruel M.T., Habicht J.P., Pinstrup-Andersen P. & Grohn Y. The mediating effect of maternal nutrition knowledge on the association between maternal schooling and child nutritional status in Lesotho. *Am J Epidemiol* 135:904-914, 1992.
9. Motarjemi Y., Kaferstein F., Moy G. & Quevedo F. Contaminated weaning food: a major risk factor for diarrhoea and associated malnutrition. *Bull World Health Organ* 71:79-92. 1993.

10. Sivaramakrishnan M. & Patel V.L. Role of traditional knowledge in the explanation of childhood nutritional deficiency by indian mothers. *J Nutr Educ* 25:121-129, 1993.
11. U.K.M., Khin M., Wai N.N., Hman N.W., Myint T.T. & Butler T. Risk factors for the development of persistent diarrhoea and malnutrition in Burmese children. *Int J Epidemiol* 21:1021-1029, 1992.
12. Devadas R.P., Sithalakshmi & Vijayambal C. Improving the health, nutrition and sanitary conditions in village through education of women and children. *Indian J Nutr Diet* 19:255-257, 1982.
13. Kirks B.A., Hendricks D.G. & Wyse B.W. Parent involvement in nutrition education for primary grade students. *J Nutr Educ* 14:137-140, 1982.
14. Kirks B. & Hughes C. Long-term behavioral effects of parent involvement in nutrition education. *J Nutr Educ* 18:203-206, 1986.
15. Ivanovic D., Alvarez M.L., Trufello I., Aguayo M., Yáñez E. & Zacarias I. Food and nutrition knowledge in Chilean high school graduates. *Arch Latinoam Nutr* 36:536-549, 1986.
16. Ivanovic D., Alvarez M.L. & Trufello I. Conocimientos alimentarios y nutricionales de estudiantes que egresan de Educación Básica en el Area Metropolitana de Santiago. *Arch Latinoam Nutr* 36:152-165, 1986.
17. Guilford J.P. & Fruchter B. Estadística aplicada a la psicología y a la educación. México: Mc Graw-Hill. 1984.
18. Foley C.S., Vaden A.G. Newell G.K. & Dayton A.D. Establishing the need for nutrition education. III. Elementary students' nutrition knowledge, attitudes and practices. *J Am Diet Assoc* 83:564-568, 1983.
19. Alvarez M.L., Muzzo S. & Ivanovic D. Escala para medición del nivel socioeconómico en el área de la salud. *Rev Med Chile* 113:243-249, 1985.
20. SAS. SAS introductory guide. Statistics. USA: SAS Institute Inc. Cary NC. 1983.
21. Sloper K., McKean L. & Baum J.D. Factors influencing breast feeding. *Arch Dis Child* 50:165-170, 1975.
22. Thompson M.L., Daugherty R. Carver V. Alcohol education in schools: toward a lifestyle risk-reduction approach. *J Sch Health* 54:79-83, 1984.
23. Russell M., Czarniecki D.M., Cowan R., McPherson E. & Mudar P.J. Measured of maternal alcohol use as predictors of development in early childhood. Alcoholism. *Clinical and Experimental Research* 15:991-1000, 1991.
24. Chile. Ministerio de Salud. Anuario de demografía. Instituto Nacional de Estadísticas- Servicio de Registro Civil e Identificación- Ministerio de Salud. 1992.
25. Shannon B.M., Tershakovec A.M., Martel J.K., Achterberg C.L., Cortner J.A., Smicklas-Wright H.S., Stallings V.A. & Stolley P.D. Reduction of elevated LDL-cholesterol levels of 4- to 10-years-old children through home-based dietary education. *Pediatrics* 94(6 Pt 1): 923-927, 1994.
26. Ivanovic D. Nutrition and education. II. Clinical signs of malnutrition and its relationship with socioeconomic, anthropometric, dietetic and educational achievement parameters. *Arch Latinoam Nutr* 42:15-25, 1992.
27. Chile. Ministerio de Planificación Nacional. La impresión de las cifras, niños, mujeres, jóvenes y adultos mayores. Santiago, MIDEPLAN-UNICEF p.28, 1993.
28. Ivanovic R. & Ivanovic D. Características socioeconómicas, socioculturales, familiares y demográficas de estudiantes de Educación Básica y Media (Región Metropolitana de Chile, 1986-1987). *Revista de Sociología* 5:183-201, 1990.
29. Ivanovic D., Ivanovic R., Durán M.C. & Hazbún J. Ingesta alimentaria de escolares rurales de la Región Metropolitana de Chile. Un estudio comparativo. 1989. *Arch Latinoam Nutr* 42:374-388, 1992.
30. Ivanovic D., Olivares M., Castro C. & Ivanovic R. Estado nutricional de escolares en condiciones de pobreza urbana y rural. Región Metropolitana. Chile. 1986-1987. *Rev Med Chile* 123:509-525. 1995.
31. Durán M.C., Ivanovic R., Hazbún J. & Ivanovic D. Estado nutricional de escolares rurales de la Región Metropolitana de Chile. Un estudio comparativo. 1989. *Arch Latinoam Nutr* 46(2): 97-106, 1996.
32. Hazbún J., Ivanovic R., Durán M.C. & Ivanovic D. Hábitos alimentarios de escolares rurales de la Región Metropolitana de Chile. Un estudio comparativo. 1989. *Arch Latinoam Nutr* 46(3): 183-189, 1996.
33. OMS. Prevención en la niñez y en la juventud de las enfermedades cardiovasculares del adulto. Serie de Informes Técnicos 792. Ginebra, OMS, 1990.
34. Brown J.L. & Pollitt E. Malnutrition, poverty and intellectual development. *Sci Am* 274:26-31, 1996.
35. World Bank. World development report 1993. Washington, Oxford University Press. 1993.
36. Ivanovic R., Castro C.G. & Ivanovic D. No existe una teoría sobre el rendimiento escolar. *Revista de Educación (Ministerio de Educación de Chile)* 224:40-45, 1995

Recibido: 15-08-1996

Aceptado: 02-05-1997

## Guías de alimentación y nutrición. Una propuesta didáctica

Shamah-Levy Teresa<sup>1</sup>, Vásquez-Resenos Claudia<sup>2</sup>, Cervantes-Turrubiates Leticia<sup>2</sup> y Chávez-Villasana Adolfo<sup>3</sup>

Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán»

**RESUMEN.** Los hábitos en materia de alimentación están cambiando comprometiéndolo en muchos casos la salud de la población. Una de las medias preventivas es la educación alimentaria y la orientación higiénica, ambas esenciales para cambiar actitudes y hábitos alimentarios.

El propósito de estas guías consistió en proporcionar al personal de salud información sencilla y concreta que le sirva de apoyo en la educación alimentaria, así como orientar a la población mexicana, cualquiera que sea su condición socioeconómica, para mejorar su alimentación y nutrición. Estas guías fueron elaboradas considerando las características socioculturales de la población y basadas en la metodología educativa participativa.

Inicialmente se llevó a cabo un análisis crítico de los diversos materiales y métodos empleados en educación nutricional con la población urbana y rural. Se observó falta de sistematización en los contenidos existentes, considerando necesario generar una propuesta didáctica integradora de la educación nutricional. Las guías contienen once módulos con la información más relevante sobre nutrición durante el ciclo de vida, manejo higiénico y conservación de los alimentos. Cada módulo contiene ideas para los instructores y ejemplos de ejercicios que pueden proponerse a la población. Las guías se diseñaron con estructura similar conformadas por introducción, conceptos básicos, contenido educativo, bibliografía, propuesta de material de apoyo y técnicas de enseñanza.

Las guías se integraron en un manual práctico, de fácil utilización, dirigido al personal de la salud y la población en general; el material se ha empleado en México apoyando programas de alimentación y nutrición, así como en cursos proporcionados a población abierta, con los cuales se obtuvo un índice promedio de efectividad para el aprendizaje del 89%. Los resultados obtenidos nos permiten demostrar la eficacia de estas guías y sugieren un estudio prospectivo durante un tiempo más prolongado, a fin de poder evaluar el impacto real de nuestra propuesta.

### INTRODUCCION

El binomio salud enfermedad se encuentra determinado en gran parte por el estado de nutrición. En México, una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la infancia sigue siendo la desnutrición, este grave problema de Salud Pública sigue presente a pesar de los esfuerzos que se han hecho para disminuirla. La Encuesta Nacional de Alimentación (ENAL) en 1989 (1), reporta que el 45% de los niños mexicanos sufren algún tipo de desnutrición debido a que la ingesta calórica ha disminuido en los últimos años afectando principalmente las zonas indígenas y de extrema pobreza. Al mismo tiempo el proceso de urbanización, ha transformado los estilos de vida y los hábitos de alimentación de la población, con repercusiones importantes sobre los perfiles de morbimortalidad.

**SUMMARY.** Guides of food and nutrition. A didactic proposal. The nutritional habits are changing, and compromising in a lot of cases the health of the population.

A preventive measurement is to educate in the eating manners and the hygienic orientation, since both are essential in order to change eating attitudes and habits. The purpose of these guides was to aid in the training of health workers as well as to orient the Mexican population in improving their eating habits and nutrition. These guides were prepared taking into account the social and cultural characteristics of the population and were based on educational methodology of participation, with the intention of adapting them to each population group. Initially a critical analysis of the diverse material and methods used in nutritional education of urban and rural populations, was carried out and a lack of systematized methods and existent content was observed. Thus, the development of a didactic integral proposal of the nutritional education was considered necessary. The guides contain eleven modules with the most excellent information on nutrition during the life's cycle, hygienic handling and conservation of the foods. Each module contains ideas for the instructors and examples of exercises that they could propose to the population.

Didactic units or guides with similar structures were designed conformated by introduction, basic concepts, educational content, bibliography, suggestions for further reading and techniques. The guides were included in a practical manual of easy use designed for health care working with public, including the educationally. The material has been used as an aid in diet and nutrition programs in Mexico and in courses proporcionated to general public, where the result of the effectiveness learning index was 89%.

The results obtained demonstrate the efficacy of these guides and suggest a longer term prospective study to determine real impact of our proposal.

La prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) ha ido en aumento año con año; para 1950 la prevalencia de enfermedades crónicas fue del 10% en 1970 fueron causa de alrededor de 60.000 (14% del total de las defunciones) y actualmente las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y el cáncer causan el 44.1% de las muertes ocurridas en México durante la edad productiva, casi el 30% del total de las defunciones (2).

Se ha documentado ampliamente la relación que existe entre estas enfermedades y ciertos hábitos alimentarios, el consumo excesivo de energía, grasas saturadas, harinas, azúcares refinados y alimentos de origen animal, bajo consumo de fibra dietética, cereales integrales, frutas y verdura (3), la incorporación de la mujer al trabajo, el sedentismo, la comida rápida y el inicio de los niños a edades muy tempranas en el patrón alimentario de los adultos, son algunos de los factores que están influyendo en las modificaciones de los perfiles de morbilidad y de mortalidad en América latina y el Caribe (4).

En México, al igual que en otros países en desarrollo, los gobiernos están realizando importantes acciones multisectoriales,

1. Lic. Nut, M. en C., Jefa del Dpto. de Educación Nutricional.  
2. Lic. Nutr., MSP. Investigadora del Dpto. de Educación Nutricional.  
3. Dr. M en C., MPH. Subdirector General de Nutrición de Comunidad.

debidamente coordinadas, para alcanzar las metas nutricionales que se han definido para América latina. Dichas acciones se sitúan a lo largo de toda la cadena alimentaria, desde la producción hasta el consumo y utilización biológica de los alimentos y, en la lucha contra la pobreza y el bajo nivel educativo que constituye un pilar fundamental de la política de alimentación (5,6).

Es necesario reconocer que a pesar de las múltiples recomendaciones formuladas en las últimas décadas y del tiempo transcurrido, un alto porcentaje de la población mexicana padece malnutrición, aunado a esto no tiene acceso a la atención a la salud, lo que hace inminente renovar los esfuerzos a fin de lograr un mejoramiento en los niveles nutricios de la población; aún más en la actualidad cuando las crisis económico financieras por las que atraviesa nuestro país y las políticas de ajuste económico que se están implementando agravan y pueden afectar aún más los niveles de consumo y conducir a un deterioro progresivo del estado de nutrición de la población.

Una de las formas más eficaces de mejorar la salud de la población, será concediendo una mayor importancia a la vigilancia de las tendencias en el consumo de alimentos y el estado nutricional de sus habitantes.

Es así, que en nuestro país se contempla dentro del Plan Nacional de Desarrollo 1995-2000, las estrategias y líneas de acción a seguirse «... los programas de vacunación, nutrición y salud reproductiva constituirán el eje del paquete de servicios básicos, al cual se agregarán acciones específicas según sean las necesidades sanitarias regionales y locales ...» que repercutirán de manera positiva en la salud de la población, lo cual propicie una mejor calidad de vida (7).

A fin de alcanzar dichas metas, los educadores en salud han propuesto la elaboración de guías de alimentación, como un elemento para transformar los conocimientos científicos, en conceptos claros, prácticos y de sencillo aprendizaje por la población (8,9), transformando así los valores de los nutrimentos en alimentos y en dietas adecuadas a toda la población.

La elaboración de guías nutricionales para la población tiene ya antecedentes en los países desarrollados, especialmente a partir de la Segunda Guerra Mundial. Estas guías han formado parte proyectos de salud y nutrición en los que mediante grupos interdisciplinarios, se han elaborado programas de orientación nutricional dentro de estrategias de desarrollo sometidas a evaluación (10-12). En estos proyectos ha sido tácito que las encuestas alimentarias son útiles como medida de diagnóstico para preparar guías para la población en general o bien guías para grupos específicos (2,13). Las guías de alimentación y nutrición deben enfocarse a las condiciones culturales y de desarrollo económico y social del país (14). Los de orden económico se refieren a las condiciones del entorno del sistema alimentario, de la producción agroindustrial, agrícola y de la distribución. Por otra parte, los factores sociales y culturales conciernen a aspectos asociados al consumo e incluyen los hábitos, prácticas alimentarias y tabúes que determinan e influyen en la conducta alimentaria.

Es de radical importancia, considerar al elaborar guías de alimentación diversos factores, desde los de tipo biológico, geográfico y económico, hasta los de naturaleza histórica, sociológica, epidemiológica y psicológica. Además de las creencias y valores asociados a la alimentación, el prestigio y el valor simbólico y ritual de los alimentos, las actitudes a las preparaciones «tradicionales» y «modernas», lo cual debe investigarse previo a la elaboración de las guías (15). Asimismo, es conveniente identificar los hábitos y creencias que tienen un valor especial por su influencia sobre la conducta alimentaria, puesto que algunos son benéficos, perjudiciales otros y

en el mejor de los casos intrascendentes para la nutrición (16).

Para modificar los hábitos es importante educar y orientar a la población, no obstante el cambiar hábitos tan importantes como los alimentarios no es tarea fácil. El educar en alimentación, exige un análisis profundo de los determinantes de la conducta que se desea cambiar y la aplicación consecuente de las medidas necesarias.

La alimentación adopta diversas formas de país a país, de región a región, de un estado a otro y a veces de una persona a otra. esta diversidad en la alimentación se puede observar en diferentes aspectos: el número de comidas al día, los horarios para comer, la frecuencia en el consumo de alimentos, la forma de preparación, cantidad, tabúes y composición de la dieta (17).

Los hábitos y costumbres alimentarios están fuertemente condicionados por la disponibilidad de alimentos, la cual puede contemplarse a nivel del hogar, región o país. Wenkam plantea una interesante distinción entre la disponibilidad física, es decir conque alimentos se cuenta y en que cantidades y la disponibilidad cultural que no es otra cosa que el concepto que cada cultura tienen sobre la aceptabilidad de los alimentos. Cada grupo humano clasifica, con bases o sin ellas, a los alimentos en «comestibles», «dañinos» e «inaceptables»; si bien en algunos casos estos calificativos se aplican siguiendo criterios universales y posiblemente objetivos, con mayor frecuencia los criterios difieren de región a región, tienen bases subjetivas y pueden cambiarse con el transcurso del tiempo (18,19).

Las herramientas para el cumplimiento de las metas nutricionales planteadas en nuestro país- «... instrumentar programas de orientación y educación nutricional para mejorar el balance de la dieta...»- serán la orientación y la educación en materia de alimentación y nutrición.

Debido a lo anterior, surge la necesidad de realizar guías de orientación alimentaria y nutricional en México a fin de fomentar y mejorar la salud y bienestar de la población, así como para prevenir las enfermedades de la nutrición. El propósito de estas guías fue abordar contenidos sobre alimentación y nutrición, que, considerando las características socioculturales de la población y basadas en la metodología educativa participativa, apoyen la capacitación de promotores de salud y la orientación de la población mexicana.

Estas guías son lo suficientemente dúctiles para ser modificadas y adaptadas a las necesidades de los diferentes grupos etarios.

## MATERIAL Y METODOS

Se llevó a cabo un análisis crítico de los diversos materiales y métodos empleados en educación nutricional con la población mexicana urbana y rural, obteniéndose la información de 12 instituciones del sector público, de cuatro empresas privadas y de tres organizaciones no gubernamentales; recopilando así un total de 102 materiales relacionados con la orientación alimentaria (20-25)

Aún y cuando en este análisis no se logró el acceso al 100% de la información nutricional que se maneja en el país, se contemplaron a las instituciones con mayor influencia en la población debido a su infraestructura y a la cobertura que abarcan. La mayoría de los materiales estaban enfocados a la alimentación materno infantil, a la higiene de los alimentos, a consejos culinarios y recetas así como a la promoción del consumo de algún alimento específico. Asimismo, un alto porcentaje de los materiales hacen referencia a los grupos de alimentos para orientar a la población a tener una alimentación sana, sin embargo se encontró en ellos una gran variedad de clasificaciones de alimentos, lo cual podría crear confusión y desconcierto entre la

población (26).

Debido a los hallazgos encontrados, falta de sistematización en los métodos y contenidos existentes, se consideró necesario generar una propuesta didáctica integradora de la educación nutricional, para lo cual se elaboraron unas guías de nutrición y alimentación considerando las características socioculturales de la población, estructuradas a través de unidades didácticas y basadas en la metodología participativa.

El presente trabajo se basó en los lineamientos propuestos en la reunión llevada a cabo en Caracas, Venezuela en 1987, «Metas Nutricionales y Guías de Alimentación para América Latina» Bases para su desarrollo, auspiciada por la Universidad de las Naciones Unidas (UNU) y la Fundación Cavendes de Venezuela; sin embargo, puesto que nuestro objetivo se dirigió al desarrollo de un material que consolidara y aportara a los educandos los conocimientos básicos para la capacitación en materia de nutrición, se consideró pertinente el realizar algunas modificaciones.

El punto de partida para la elaboración de Guías de Alimentación es el contar con la información necesaria para trasladar las Metas Nutricionales en Guías de Alimentación, dicha información debe considerar las acciones que se sitúan a lo largo de toda la cadena alimentaria, desde la producción hasta el consumo y utilización biológica de los alimentos. Asimismo se consideraron las características ecológicas, socioeconómicas y culturales de nuestro país; tomando en cuenta, en forma particular, las patologías nutricionales de la población, los hábitos alimentarios y los alimentos disponibles para la población mexicana, por lo cual para la realización de las guías se requirió de la participación de un grupo multidisciplinario.

Dicho grupo identificó algunos problemas que pueden ser corregidas a través de la orientación alimentaria a corto plazo: se consideró que la crisis económica por la cual atraviesa el país aunada a la influencia de los medios masivos de comunicación, dificulta el consumo de alimentos nutritivos, deteriorando cada vez más su estado de nutrición, lo que ha repercutido negativamente sobre la desnutrición infantil y las enfermedades crónico degenerativas, dentro de las que destacan la hipertensión, ciertos tipos de cáncer, aterosclerosis y diabetes.

Las guías están dirigidas a todos los estratos socioeconómicos, puesto que se incluyen ciertos conceptos que permiten mejorar en forma notable la alimentación de amplios sectores de la población a pesar de las limitaciones económicas y de infraestructura. Las presentes Guías de Alimentación y Nutrición, se basaron en la propuesta de alimentación del Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán», Una Alimentación para Todos: La Alimentación idónea que se centra en la alimentación y sus aspectos cotidianos más que en la fisiología, ya que los problemas y las prácticas de alimentación son los que más le interesa conocer a la población. A través de este modelo de alimentación se prestigan alimentos y patrones autóctonos puesto que representan una mejor alternativa para la población mexicana, a la disponibilidad de alimentos, además de ser económico y representar una medida preventiva contra las consecuencias de los excesos y las deficiencias en la alimentación (Figura 1). Este modelo de alimentación está dirigido a la familia y presenta recomendaciones generales, sin diferenciación de los diferentes grupos etáreos como se realiza en las presentes guías.

Cada unidad didáctica conformó una guía, estructurándose con los siguientes apartados: introducción, conceptos básicos, contenido educativo, la propuesta de un material de apoyo y alguna técnica didáctica así como la bibliografía complementaria a fin de que los individuos que tuviese interés particular en algún tema puedan

profundizar aún más.

Las unidades didácticas fueron planteadas como mensajes educativos para mejorar los hábitos alimentarios de la población en general, como tales, son claras, precisas y factibles de ser adoptadas por otras poblaciones. Los mensajes son positivos y claros, usando términos coloquiales.

La elección de los temas incluidos en estas unidades didácticas son los que se consideraron fundamentales y prioritarios de acuerdo a las condiciones prevalentes de nutrición y salud en México, la heterogeneidad de la población, los grupos con mayor vulnerabilidad o en riesgo de tener problemas alimentarios nutricionales así como a las características de la dieta.

Su validación se realizó utilizando el índice de efectividad de Aprendizaje (IE) para programas de salud, propuesto por Green (27).

$$IE = \frac{P2 - P1}{100 - P1} \times 100$$

En donde:

P1 y P2= Porcentaje de respuestas acertadas (por concepto básico), en las evaluaciones inicial y final, respectivamente.

FIGURA 1



INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION  
SALVADOR ZUBIRAN

SUBDIRECCION GENERAL DE NUTRICION DE COMUNIDAD



## RESULTADOS Y DISCUSION

Las guías se integraron en un manual práctico conformado por 15 unidades (Cuadro 1) estructuradas de manera similar para facilitar su aprovechamiento, pudiendo ser utilizadas de forma independiente o global, ya que están dirigidas tanto al personal profesional, técnicos

en nutrición, auxiliares y promotores de salud así como a la población en general. Las guías pueden ser empleadas para realizar cualquier actividad que se relacione con la orientación alimentaria y nutricional,

como son cursos, capacitaciones a personal técnico, intervenciones en programas de radio o televisión, desarrollo de material impreso, entre otros.

**CUADRO 1**  
Temas y conceptos básicos que conforman las Guías de Orientación en alimentación y nutrición

UNIDAD DIDACTICA	CONCEPTOS BASICOS
Guía 1 Situación nutricional en México	- Analizar el panorama alimentario y nutricional de la población mexicana y algunos factores que lo origina.
Guía 2 Los nutrimentos y otros compuestos químicos de los alimentos	- Los nutrimentos son sustancias químicas esenciales para el organismo, que se encuentran en los alimentos y que tienen la función general de <i>nutrirlo</i> .
Guía 3 Una mejor alimentación para todos "La alimentación Idónea"	- Una alimentación idónea es aquella que proporciona al organismo las cantidades de nutrimentos que requiere para su buen funcionamiento, sin deficiencias, pero también sin excesos.
ALIMENTACION DURANTE EL CICLO DE VIDA	ALIMENTACION DURANTE EL CICLO DE VIDA
Guía 4 Alimentación de la mujer embarazada	- La mujer embarazada debe tener una correcta y adecuada alimentación, para asegurar su salud y la del niño, así como su buen crecimiento y desarrollo. - El consumo de una alimentación deficiente y la consecuente desnutrición materna tienen efectos significativos, sobre el bajo peso del producto al nacer (menos de 2500 g), siendo más frecuente en las comunidades en donde prevalece la desnutrición.
Guía 5 Alimentación de la mujer durante el período de lactancia	- Una adecuada alimentación durante el período de lactancia, protege su salud y asegura una adecuada producción de leche materna.
Guía 6 Alimentación del niño durante el primer año de vida	- Una correcta alimentación durante el primer año de vida, asegura un desarrollo físico, mental y social, muy importante para el futuro del niño.
Guía 7 Alimentación del preescolar	- La alimentación del niño en edad preescolar merece de una atención especial tanto en la calidad de la dieta, como en la higiene del niño, debido a que esta etapa es de alta susceptibilidad para padecer enfermedades gastrointestinales y desnutrición. - En la edad preescolar es importante fomentar los hábitos de alimentación e higiene, a fin de lograr un crecimiento y desarrollo adecuado.
Guía 8 Alimentación del niño que tiene diarrea	- Uno de los problemas más importante de salud pública lo constituye las enfermedades diarreicas, las cuales afectan con mayor frecuencia y severidad a los niños menores de cinco años.
Guía 9 Desnutrición	- La desnutrición puede definirse como toda situación de deficiente utilización de nutrimentos por el organismo, lo cual origina una mala composición corporal, afectando la salud y a la larga la duración de la vida.
Guía 10 Alimentación del escolar	- Es importante proporcionar al niño en edad escolar una correcta alimentación para favorecer su crecimiento, su desarrollo y su comportamiento escolar. - Hay que fomentar en el escolar el hábito de desayunar bien antes de ir a la escuela, para que se desarrolle adecuadamente.
Guía 11 Toma de medidas antropométricas	- Las medidas corporales se relacionan en forma significativa con el estado de nutrición del individuo.
Guía 12 Alimentación del adolescente	- Durante la adolescencia la demanda de alimentos aumenta considerablemente, para satisfacer las necesidades impuestas por un desarrollo y crecimiento acelerado, así como por una actividad física intensa. - En la adolescencia se produce un aumento en el gasto energético, que deberá cubrirse con una mayor cantidad de alimentos. - La mujer adolescente requiere consumir alimentos ricos en hierro y en las diversas vitaminas.
Guía 13 Alimentación de las personas mayores	- La correcta alimentación de las personas mayores, es básica para el sostenimiento de su salud.
Guía 14 La higiene y el manejo de los alimentos en el hogar	- La protección y preparación higiénica de los alimentos es la base de la prevención de muchas enfermedades en la familia y en el niño. Los alimentos son siempre benéficos, la contaminación que se le añade por mal manejo es la que puede causar daño a la salud.
Guía 15 Técnicas didácticas y material educativo	- Las técnicas participativas de enseñanza involucran activamente al participante en el proceso de aprendizaje. - Los medios de capacitación de bajo costo, se pueden utilizar como material de apoyo en el desarrollo de actividades de educación nutricional, propiciando la motivación e integración del grupo.

Las guías fueron utilizadas para capacitar al personal de campo (pasantes de la licenciatura en nutrición) de un programa de nutrición; a fin de conocer la ganancia de conocimientos, se realizó una evaluación inicial y una evaluación final con preguntas cruzadas, obteniéndose un índice de efectividad para el aprendizaje del 93%.

De igual forma, las guías fueron empleadas en un curso -taller dirigido a empleados de una dependencia pública, en donde se aplicó la misma metodología para validar su operatividad; en donde se obtuvo un índice de efectividad del 85%.

Dado que este material ha sido difundido a través de convenios con instituciones educativas, congresos y conferencias nacionales e internacionales, éste ha podido ser instrumentado en diversos contextos, adaptándolo a las circunstancias y a la población con la cual se está trabajando.

La primera guía se refiere a la situación alimentaria y nutricional de México, en donde se analiza el panorama alimentario y nutricional de la población mexicana, algunos factores que lo determinan y los tipos de dietas encontrados en el país; basándose en la información de las últimas encuestas realizadas a nivel nacional, La Encuesta Nacional de Nutrición, 1988 realizada por la Secretaría de Salud y La Encuesta Nacional de Alimentación en el Medio Rural, 1989 realizada por el Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán» (1,2,28).

El siguiente tema incluye una síntesis sobre los diferentes nutrimentos y otros compuestos químicos de los alimentos en donde se hace referencia a las funciones, fuentes y recomendaciones de cada uno de los nutrimentos así como también a los daños que provoca a la salud su consumo insuficiente o exagerado. Con respecto a los compuestos químicos de los alimentos, se han dividido en aquellos con efectos benéficos para la salud en donde se incluye al agua y a la fibra dietética y aquellos que ocasionan efectos nocivos entre los que destacan las grasas saturadas, el colesterol y el cloruro de sodio.

Con el propósito de obtener una herramienta educativa y sencilla para una alimentación adecuada, se describe en la guía número tres el Modelo de una Mejor Alimentación para todos: La Alimentación Idónea, el cual contempla conceptos básicos para lograr una alimentación correcta, para ello se parte de la base de los grupos de alimentos; en México se consideran de la siguiente manera: a) Cereales o tubérculos y leguminosas, b) Frutas y verduras y c) Alimentos de origen animal. Los azúcares y las grasas son considerados como grupo complementario en la alimentación diaria.

El modelo de alimentación idónea maneja tres conceptos básicos a incluir en cada tiempo de comida (desayuno, comida y cena):

- Combinar cereales o tubérculos con leguminosas
- Suficientes frutas y verduras
- Una pequeña cantidad de algún alimento de origen animal

A través de este modelo se prestigan las leguminosas, haciendo énfasis en la combinación de éstas con los cereales a fin de incrementar su contenido de aminoácidos y se propone la disminución en el consumo de alimentos de origen animal para prevenir el posible riesgo asociado a estos alimentos con la presencia de enfermedades crónicas degenerativas.

Asimismo, se hacen algunas recomendaciones para lograr una dieta ideal entre las que destacan la preferencia por hidratos de carbono complejos y ácidos grasos insaturados; recomendando el consumo de tortilla por su alto contenido de fibra y de calcio. Se induce el consumo moderado de azúcares simples y lípidos.

Dentro de esta unidad se incluye un apéndice con las consecuencias de una alimentación inadecuada, incorporando aquellas enfermedades que ocupan los principales lugares de morbi-mortalidad en el país.

Las siguientes diez guías abordan temas relacionados con la alimentación y nutrición durante el ciclo de vida, describiendo las características de la alimentación durante las diferentes edades del individuo, desde el período de embarazo, pasando por la infancia, adolescencia, adultez hasta llegar a la senectud.

Cabe mencionar que por las características y necesidades de determinados grupos etarios se elaboraron guías específicas para tratar los tópicos propios de su edad; es así que se incorporó el tema alimentación del niño que tiene diarrea, por constituir uno de los problemas más importantes de salud pública al afectar con mayor frecuencia y severidad a los niños menores de cinco años.

Otra de las unidades didácticas contempladas es la desnutrición, pues sigue siendo el flagelo que ocasiona muchas muertes y daños, más que el conjunto de todas las otras causas, viéndose más afectado el niño pequeño debido a su carácter de dependencia de terceros y a sus altos requerimientos de nutrimentos en las primeras etapas de la vida.

Asimismo se incluyó la guía de toma de medidas antropométricas ya que a través de algunas mediciones se puede obtener el estado de nutrición del individuo, lo cual es particularmente útil en programas aplicativos de vigilancia nutricional infantil.

Por último, dentro de este apartado, se encuentra un apéndice sobre la alimentación del deportista, puesto que durante la adolescencia es importante fomentar la actividad física aunada a una correcta alimentación, que le permita destacar en el deporte, mantener un estado de nutrición óptimo y continuar de manera adecuada con la última etapa de su crecimiento y desarrollo.

En el siguiente tema higiene y manejo de los alimentos en el hogar, dado que la protección y preparación higiénica de los alimentos es la base de la prevención de muchas enfermedades en la familia y el niño. Los alimentos son siempre benéficos, la contaminación que se le añade por mal manejo es la que puede causar daño a la salud. De tal suerte que se hace hincapié en la higiene personal, así como en la higiene de la casa y de los utensilios con los que se preparan los alimentos.

Se incorporó una sección sobre el manejo de los alimentos en el hogar, en la cual se mencionan algunas sugerencias de como comprar gastando menos, como combinar alimentos a fin de hacerlos rendir más y mejorar su valor nutritivo. También se incluyen técnicas de preparación y conservación de alimentos.

Como última guía se abordó el tema de técnicas y materiales educativos, en la cual se incluyen dos unidades didácticas, la primera contempla las técnicas participativas de enseñanza que involucran activamente al participante en el proceso de aprendizaje sobre tópicos de alimentación y nutrición. En la segunda se trata los medios de comunicación sencillos en la enseñanza de la nutrición partiendo del hecho que los medios de comunicación de bajo costo, se pueden utilizar como material de apoyo en el desarrollo de actividades de educación nutricional y propician la motivación e integración de los participantes.

Al final de las guías se presenta un glosario de términos manejados en los diferentes temas con el fin de aclarar su significado y unificar los conceptos, evitando un uso inadecuado de los mismos.

La aplicación de los contenidos de estas guías, es de gran ayuda para ofrecer una alternativa educativa a fin de mejorar los niveles de nutrición y salud de la población mexicana.

Actualmente el Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán», ha desarrollado unas nuevas Guías de Alimentación para México, estructuradas de manera más sintética que las presentes, y que sólo abordan dos temas alimentación de los niños pequeños y alimentación familiar, retomados de estas guías y dirigidos sus contenidos a población profesionista.

Es necesario reconocer que a pesar de las múltiples recomendaciones formuladas en las últimas décadas y del tiempo transcurrido, la población mexicana continúa sujeta a regímenes alimentarios indeseables y que es importante renovar los esfuerzos a fin de lograr un mejoramiento en la nutrición y salud de los habitantes.

Una herramienta para lograrlo es el desarrollo de Guías de Orientación en Alimentación y Nutrición específicas a las características de nuestra población, respetando sus creencias, costumbres, tradiciones y cultura, sin perder la noción de que los fundamentos teóricos son los mismos, pudiendo ser adaptadas a otras poblaciones. Asimismo, al articular las bases teóricas con diversas metodologías educativas participativas, propicia que el conocimiento se adquiera de manera articulada y significativa.

También, se considera que el carácter dinámico, tanto de los conocimientos y criterios científicos, así como de las tendencias de los patrones de morbilidad y mortalidad de la población, obliga a que las Guías en Alimentación y Nutrición sean reconsideradas cada determinado tiempo.

Las diferentes dependencias del sector público deberían coordinarse para seguir los mismos criterios, pero también es indispensable que los mensajes del sector privado concuerden con ellos, por lo que se propone la realización de una legislación al respecto.

Las Guías de Orientación en Alimentación y Nutrición, tienen un carácter más extenso y profundo que las guías que generalmente se han desarrollado en México, además de tener la modalidad de una propuesta educativa, por lo cual se considera que éstas pueden ser un Manual educativo en Alimentación y Nutrición, que apoye al personal de salud, en la promoción de la nutrición a nivel comunitario.

## REFERENCIAS

1. Madrigal H., Avila H. Encuesta Nacional de Alimentación en el Medio Rural, 1989. Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán» Comisión Nacional de Alimentación. México, 1990.
2. Avila A., Shamah T., Chávez A. Encuesta urbana de alimentación y nutrición en la zona metropolitana de la ciudad de México ENURBAL 1995. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán - Fideicomiso para la Liquidación de la Tortilla- Sistema Integral para el Desarrollo Integral de la Familia. México, 1995.
3. Chávez A., Muñoz de Chávez M., Roldán J.A., Bermejo S., Avila A. La nutrición en México y la transición epidemiológica. Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán», México, 1993.
4. OPS/OMS. Condiciones de salud en las Américas, 1990.
5. Valiente S., Boj M.T., Espinoza F., Chateaufneuf R. Situación alimentaria y nutricional de América Latina. Santiago, Editorial FAO/INTA, 1982.
6. Informe de la reunión taller de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. La alimentación del niño menor de 6 años en América Latina. Bases para el desarrollo de guías de alimentación. Arch Latinoam Nutr 44(3):176-197, 1994.
7. Poder Ejecutivo Federal. Programa Nacional de Alimentación. Comisión Nacional de Alimentación. 1994-2000.
8. Chávez A. La vigilancia epidemiológica de la nutrición, nuevos conceptos y avances metodológicos. México: Instituto Nacional de la Nutrición, 25-41. 1990.
9. Achterberg C.L. Qualitative research: what do we know about teaching good nutritional habits? J Nutr Ed: 124(9s) 1808-1819. 1994.
10. Achterberg C.L., Clark K.L. A retrospective examination of theory use in nutrition education. J Nutr Educ 24(5):227-233, 1992.
11. Brun J., Gillespie A.H. Nutrition education research: past, present and future. J Nutr Educ; 24(5):220-221. 1992.
12. Trenkner LL., Achterberg C.L. Use of focus groups in evaluating nutrition education materials. J Am Diet Assoc, 91:1577-1581, 1991.
13. Sinha D.P., Mcintosh C.F.E. Changing nutritional patterns in the Caribbean and their implications for health. Food and Nutr Bull 14(2):88-96, 1992.
14. Avila-Curiel A., Chávez-Villasana A., Shamah-Levy T., Madrigal-Fritsch H. La desnutrición infantil en el medio rural mexicano: análisis de las encuestas nacionales de alimentación. Rev Sal Pub Mex; 35:658-66, 1993.
15. Berger S. Implementation of dietary guidelines-ways and difficulties. Am J Clin Nutr 45:1383-1389, 1987.
16. Allen L., Black A.K., Backstrand J.R., Pelto G.H., Ely R.D., Molina E. et al. An analytical approach for exploring the importance of dietary quality versus quantity in the growth of Mexican children. Food Nutr Bull; 1:95-104, 1991.
17. Menéndez E., García de Alba J. Prácticas populares, ideología médica y participación social. Universidad de Guadalajara - CIESAS, México, 1992.
18. Agarwal A. The health and environment interface: opportunities for prevention and education. Promotion & Education 3(1):15-20, 1996.
19. Wenkan N.S. Cultural determinants of nutritional behavior. Washington D.C., Nutrition Program News USDA, July/August, 1969.
20. Aguirre J., Chávez A., Martínez H., Ríos E., Madrigal H., Romero J. El paquete de detección-atención. Sus elementos básicos. México, D.F.: Subdirección General de Nutrición de Comunidad, Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán» DIF, 1991.
21. Casanueva E. Grupos de alimentos ¿Cuál es la mejor clasificación? Cud Nut; 14(3):17-32, 1991.
22. Cerqueira M.T., Lobos G., Moncada C. y cols. Unidades Normativas para la educación en Nutrición. Dirección General para la Salud. Secretaría de Salubridad y Asistencia, México, 1982.
23. Coordinación de la Comisión Nacional de Alimentación. Orientación Alimentaria. Esquemas Básicos. México, 1987.
24. Durán E., Casal T., Fernández C. y cols. Guías para la Educación en Alimentación y Nutrición. Conceptos Básicos para la capacitación inicial de grupos de población. Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán» - Sistema Alimentario Mexicano. Monografía L-45. México, 1981.
25. Durán E., Casanueva E., Bourges H. y cols. Vocablos Técnicos. Cuadernos de Nutrición. Vol II (6):3-39. Noviembre-Diciembre 1988.
26. Welsh S., Davis C., Shaw A. Development of the food guide pyramid. Nutr Today. 12-23. Nov/Dec 1992.
27. Green L., Alister A. Macro-Intervention to Support Health Behavior: Some Theoretical Perspectives and Practical Reflections. Health Education Quarterly. 11(3):322-339, 1984.
28. Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología. Encuesta Nacional de Nutrición 1988. Resultados nacionales y por regiones. México: DGE-SSA, 1988.

Recibido: 29-07-1996

Aceptado: 28-04-1997

## Occurrence of *Aspergillus flavus* strains and aflatoxins in corn from Santa Fe, Argentina

Marcelo C. Nepote<sup>1</sup>, Eduardo Piontelli L.<sup>2</sup> y Adriana Saubois<sup>1</sup>

**SUMMARY.** It has been demonstrated in several agricultural regions all around the world that *Aspergillus flavus* can infect corn grains and produce aflatoxins even before the harvest. It is also known that the incidence and levels of contamination of cereals factors. In the present work, the incidence of aflatoxins in corn grain from the central and northern areas of Santa Fe province in Argentina was studied. The relationship between the extent of kernel infection by the fungus and the presence of aflatoxins in the samples was examined. The isolation and identification of *A. flavus* were carried out by plating dilutions of the ground kernels on dichloran-rose bengal-chloramphenicol agar (DRBC). Simultaneously, kernels were superficially sterilized with 10% commercial ClONa and plated on potato-dextrose-chloramphenicol agar (PDA+C). The analysis of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 was performed by thin layer chromatography (TLC) according with Norma IRAM 14803 (Argentina). *A. flavus* Link:Fr. was identified in 63.3% of the corn samples. Colonized kernels ranged from 2.5 to 25% and counts on DRBC were in the order of  $10^3$  CFU/g. Two samples colonized by *A. flavus* contained aflatoxins B1 and B2 (50 µg/kg of aflatoxin B1 and 30 µg/kg of aflatoxin B2, and 30 µg/kg of aflatoxin B1, and traces of aflatoxin B2, respectively). One sample contained only aflatoxin B1 (22 µg/kg). According to these results, it may be concluded that the incidence of *A. flavus* observed constitutes a call in attention with respect to the conditions required for storage and transportation of the grains, to minimize the proliferation of the fungus and the production of aflatoxins in these stages. Although the incidence of aflatoxins in the samples of grains was rather low, the levels of aflatoxin B1 recorded in the positive samples were higher than those recommended -or given as advisory levels for human foods, by most countries in the world.

### INTRODUCTION

Corn grain is widely consumed in Argentina as grinding by-products which are also employed to manufacture several staple foods including snacks, popcorn, pies and other regional foods. It is one of the agricultural products of major interest as regards to its susceptibility to become contaminated with aflatoxins (1,2). *Aspergillus flavus* can infect corn ears before and after harvesting has taking place, thus affecting nutritional and technological properties of the grains due to the fungal colonization (3). Consequently, aflatoxins may be produced by the fungus in all the stages from the field to the storage environment. Agronomical practices and insects as well as storage conditions (relative humidity, temperature, etc) play important roles in the formation of aflatoxins. Depending on the

**RESUMEN.** Incidencia de cepas de *Aspergillus flavus* y aflatoxinas en maíz de Santa Fe, Argentina. *Aspergillus flavus* puede infectar los granos de maíz y producir aflatoxinas aún antes de la cosecha en determinadas áreas agrícolas. La incidencia y niveles de contaminación de las mismas varían año a año. Se estudió la incidencia de aflatoxinas de muestras de granos de maíz suministradas por productores de la zona centro-norte de la provincia de Santa Fe, Argentina. Se examinó la relación existente entre la infección de los granos por *A. flavus* y la presencia de aflatoxinas en las muestras. El aislamiento e identificación de *A. flavus* se realizó a partir de las diluciones de grano molido, sembrado en agar diclorán-rosa de Bengala-cloranfenicol (DRBC). Simultáneamente, los granos enteros fueron desinfectados superficialmente con ClONa comercial 10% y sembrados sobre agar papa-dextrosa-cloranfenicol (PDA+C). El análisis de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 se llevó a cabo por cromatografía en capa fina (TLC) según Norma IRAM 14803, Argentina. La confirmación de las mismas se realizó mediante TLC bidimensional. Se identificó *A. flavus* Link:Fr en el 63,3% de las muestras, con un porcentaje de granos contaminados entre el 2,5 y 25%, y un recuento en DRBC del orden de  $10^3$  UFC/g. De las muestras contaminadas con *A. flavus*, 2 contenían aflatoxinas B1 y B2 (50 µg/kg y 30 µg/kg y 30 µg/kg y trazas, respectivamente), y una muestra contenía sólo aflatoxina B1 (22 µg/kg). Se concluye que la incidencia de *A. flavus* constituye una alarma en cuanto a las condiciones requeridas para el almacenamiento y transporte de estos granos, como causa posible de la proliferación de la especie y la producción de aflatoxinas. Aunque la incidencia de aflatoxinas en las muestras resultó baja, los niveles de aflatoxina B1 determinados estuvieron por encima de las tolerancias para alimentos en la mayoría de los países.

ability of the fungus to produce aflatoxins, biological and environmental conditions can favour increasing of aflatoxins concentration after harvest (3,4,5,6).

Aflatoxins may induce adverse economical effects such as decreasing of agricultural, cattle and poultry yields. These losses may be due not only to an increase in death rate, but also to subacute toxicity effects (immunosuppression, lower growing, rate, etc) (3,4,5,6).

Usually, a direct relationship can be established between aflatoxins incidence and *A. flavus* occurrence in raw materials, being highest contamination recorded in tropical and subtropical geographical areas. The climatic phenomena known as drought/temperature stress as well as nitrogen deficiency in agricultural soils can enhance the problem and, if situation gets to an extreme condition, most part of the crop can become contaminated with aflatoxins (3,4).

Consequently, the present research was carried out on the natural occurrence of aflatoxins in whole corn grain samples from the province of Santa Fe, Argentina. Results were compared with those obtained from a previous survey in the same geographical area. In addition, the relationship between grain colonization by *A. flavus* and the incidence of aflatoxins in the samples was examined. In order to obtain a very fair representation of the contamination with the species, a combination of dilution plate counts and direct plating after

1. Investigador, Codirector de Proyecto de la Universidad Nacional del Litoral. Cátedra de Microbiología, Dpto. de Biotecnología, Facultad de Ingeniería Química, Santa Fe, Argentina. Investigadora, Directora de Proyecto de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
2. Profesor Investigador de la Universidad de Valparaíso, Chile. Cátedra de Micología, Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso. Chile.

surface desinfection was carried out, representing surface and internal contamination respectively.

## MATERIAL AND METHODS

**Samples:** Thirty samples of whole corn grain from the central and northern regions of Santa Fe province in Argentina, corresponding to 1993 crop, were analyzed. Half of the total came directly from the field; the rest of the samples underwent post-harvesting drying process. Sample weights were among 1.2 and 1.5 kg. Each sample was divided in 2 portions: 1) 200 g of whole grain were aseptically separated and stored at 0 °C in order to be evaluated for their contamination with *A. flavus*; 2) the remaining fraction was milled and quartered, preserving a portion of 200 g for aflatoxin analysis.

**Enumeration and identification of *Aspergillus flavus*:** Enumeration was carried out both by dilution plating and direct plating. Dilution plating method was performed on dichloran-rose Bengal-chloramphenicol agar (DRBC). Plates were incubated at 25 °C for 5 days. The results were expressed as colony-forming units per gram of sample (CFU/g) (7,8). Total fungal counts as well as *A. flavus* counts were recorded. The later were deduced from the total by recognition of *A. flavus* characteristic colonies with a stereomicroscope (8,9).

Direct plating was performed on pap-dextrose-chloramphenicol agar (PDA+C). Approximately 100 kernels/sample were previously surface desinfected with commercial sodium hypochlorite (final concentration 0.4%) and rinsed with sterile water, using about the same volume as the chlorine. After drying kernels with sterilized absorbent paper, 6 to 8 pieces were placed onto each of 10 solidified PDA+C containing plates. They were incubated at room temperature (22 to 25 °C) for 5 days. The results were expressed as percentage (%) of contaminated particles (kernels). Direct plating provides an estimate of the extent of infection of grains (7).

Fungal colonies were previously recognized according to their conspicuous macroscopic and microscopic features directly on enumeration plates. *A. flavus* presumptive colonies were isolated and identification was confirmed on malt extract agar (MEA) and Czapek-yeast extract agar (CYA) (10,11,12).

**Aflatoxin analysis:** It was carried out by thin-layer chromatography (TLC) according to Normas IRAM 14803, Argentina (13). Detection and quantification of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 was performed by spraying with 30% SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> and by means of two-dimensional TLC (13,14). Standard of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 were purchased from Sigma Chemical Co.

**Moisture content:** Moisture contents are given in a wet weight basis, calculated as (mass of water/total mass) x 100%. They were obtained by indirect method, in a laboratory oven at 100 °C, up to constant weight (approximately 24 h to 36 h).

## RESULTS AND DISCUSSION

All the samples gave total fungal counts on DRBC in the order of 10<sup>4</sup> CFU/g (1x10<sup>4</sup> to 7.5x10<sup>4</sup> CFU/g, mean 1.9x10<sup>4</sup> CFU/g). According to APHA, total fungal counts ranging from 10<sup>4</sup> to 10<sup>4</sup>/g are considered «normal» grains in commercial channels (15). No special standards are given for total fungal counts in cereals by different countries. Recommended levels are frequently dependent

on the type of grain and the destination of the crop (human food or animal feed). As an example, some authors concluded that mould counts of feed should not exceed range of 10<sup>4</sup> counts/g (16).

Total fungal counts were one order higher than *A. flavus* count on DRBC in those samples where the species was detected. The results concerning enumeration and identification of *A. flavus* as well as the occurrence of aflatoxins and moisture contents of the samples are shown in Table 1. *A. flavus* Lin:Fr was identified in 63,3% of the samples. Counts on DRBC ranged from 1x10<sup>3</sup> to 5x10<sup>3</sup> CFU/g (mean 1.4x10<sup>3</sup> CFU/g) and percentage of infected kernels varied from 2.5 to 25% (mean 14.7%). Only in 4 samples the species was detected by direct and dilution plating. In 3 of the samples the species was detected only by direct plating after surface desinfection. No relationship was observed between *A. flavus* counts on DRBC and percentage of infected kernels with the species. This was coincident with observations from previous collaborative studies carried out on corn and other cereal grains (8). Nevertheless, they are also coincident with the fact that determination of percentage of infection of sample with a particular fungus, together with dilution plate counts, gives a more detailed description on the distribution of the species. This has a special sense when a toxigenic fungal species is under consideration.

TABLE 1  
Incidence of *A. flavus* and aflatoxins in corn grain

Sample N°	% Kernels infected with <i>A. flavus</i> (mean)	<i>A. flavus</i> counts x10 <sup>3</sup> (CFU/g)(mean)	Aflatoxin (µg/kg)		Moisture content (%w.b) (mean)
			B1	B2	
1	25	2	50	3	10.0
1	8	1	22	nd	11.5
1	7.5	1	30	tr	14.6
3	2.5-15.6 (7.7)	nd	nd	nd	13.0-15.0(13.7)
1	nd	1	nd	nd	12.0
13	2.5-22.9 (6.7)	1-5 (1.5)	nd	nd	11.0-14.1 (13.0)
10	nd	nd	nd	nd	11.2-15.0 (13.2)

% w.b.: moisture content expressed as percentage in wet basis

CFU/g: colony-forming units per gram of sample

n.d.: not detected

B1: aflatoxin B1 B2: aflatoxin B2

tr: traces

Aflatoxins were detected in only 3 samples of the total (10 %), one sample containing only aflatoxin B1. Aflatoxin G1 and G2 were not detected. Even though aflatoxin incidence was low, the aflatoxin B1 levels were above the tolerance limit for foodstuffs adopted by most countries (5-20 µg/kg) (17,18,19). Present results are comparable with those obtained from a previous study on the incidence of aflatoxins in corn grains of the same geographical region (20). On that occasion, aflatoxins had been detected in 22 % from a total of 100 samples.

Because of low incidence of aflatoxins in the samples, no clear relationship could be established between the toxin level and either the percentage of infected kernels or *A. flavus* counts in the samples. However, samples with a relatively high percentage of contaminated grains (12.5 to 22.9%) did not contain aflatoxins in detectable levels. This might reflect a similar situation to that observed in certain areas of the world where a high incidence of *A. flavus* is observed every year but of which aflatoxigenic potential is relatively or definitely low. As an illustration of this, in drought years aflatoxin in corn can be an important problem in the southeastern United States, but is

seldom a problem in Minnesota (4,21). It becomes apparent that rather special conditions are required for appreciable amounts of aflatoxins to be produced.

Moisture content of the substrate and relative humidity are critical factors to aflatoxin production in cereal grains. Though both parameters should be considered together in evaluating resistance to aflatoxin contamination, only moisture content was determined in these samples due to the fact that it constitutes one of the main parameters for commercialization of cereal grains in the region. This value relates to a relative humidity at a given temperature, which characterizes the atmosphere in equilibrium with the grain (22). The moisture contents obtained for present samples ranged from 11.0 to 15.0% (mean 12.6%). According to the literature, these samples could be considered secure only at a relative humidity below 82% from the point of view of aflatoxin production in corn (3,21). But levels near 15.0% of moisture content may not be adequate for long-term safe storage, since only small changes in *aw* may be necessary to allow large increases in fungal activity (1). On the other hand, the relatively high incidence of *A.flavus* in the samples, even after grain drying, constitute a warning sign to be considered in the subsequent storage, processing and transport stages.

### CONCLUSIONS

- Since 63.3% of the samples gave positive results for *A.flavus* incidence by means of direct plating after surface disinfection, this methodology is considered preferable in recovering the species from corn grains.
- Corn grain is a special source of contamination with *A.flavus* in the region. Despite the relatively high incidence of the species, aflatoxin occurrence in the samples was low in terms of frequency and levels of contamination. This was observed in two studies made in the same sampling area corresponding to different years of harvest. Nevertheless, repetitive sampling should be carried out every year for aflatoxin analysis since unusual drought-stress and hot weather conditions may enhance -or even induce the ability of *A.flavus* to produce toxins in corn (21).
- More research is needed to understand the physiology, metabolism and nutritional requirements of aflatoxigenic strains of *A.flavus* from the region.
- Due to the above conclusions, central and northern regions of Santa Fe province in Argentina should not yet be considered of low risk as regards economical or public health aspects of aflatoxin contamination.

### ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by grants from the Programme «Curso de Acción para la Investigación y el Desarrollo» -Secretaría de Ciencia y Técnica, and the Fundación Facultad de Ingeniería Química, both from the Universidad Nacional del Litoral, Argentina. Authors thank the staff of the Cátedra de Inglés Técnico, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas of the Universidad Nacional del Litoral for their cooperation in translating the present article into its English version.

### REFERENCES

1. Lacey J., Ramakrishna N., Hamer A., Magan N. & Marfleet I.C. Grain Fungi. In: Handbook of Applied Mycology. Foods and Feeds, Vol. 3

- D.K. Arora, Mukerji K.G., Marth E.H. (Eds). Marcel Dekker, Inc New York. p.121-177. 1991.
2. Lacey J. Pre and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement. 11S-25S. 1989.
3. Gourama H., Bullerman L.B. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: A review. Journal of Food Protection 58(12):1395-1404, 1995.
4. Moss M.O. Mycotoxins of *Aspergillus* and other filamentous fungi. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement 69S-81S. 1989.
5. Brown R.L., Cotty P.J., Cleveland T.E., Winstrom N.W. Living maize embryo influences accumulation of aflatoxin in maize kernels. Journal of Food Protection 56(11):967-971. 1993.
6. Council for Agricultural Science and Technology. Mycotoxins. Economic and Health Risks. Task Force Report No. 116 (USA), Nov 1989.
7. Pitt J.L. & Hocking A.D. Fungi and food spoilage. Academic Press, Australia, 1985.
8. King A.D., Jr., Pitt J.L., Beuchat L.R. & Corry J.E.L. Methods for the Mycological Examination of Foods. Plenum Press, New York, 1986.
9. Williams A.P. Methodological development in food mycology. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement. 61S-67S. 1989.
10. Raper K.B. & Fennel D.L. The Genus *Aspergillus*. The Williams & Wilkins Co. Baltimore., USA. 1965.
11. Klich M.A., Pitt J.I. Distinguishing species of the *Aspergillus flavus* Group. In: Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* Systematics. R.A. Samson and J.I. Pitt (Eds.). Plenum Press, New York, p.211-220. 1985.
12. Klich M.A., Pitt J.I. Differentiation of *Aspergillus flavus* from *A. parasiticus* and other closely related species. Trans. Br Mycol. Soc. 91:99, 108, 1988.
13. Instituto Argentino de Racionalización de Materiales. Método de determinación de aflatoxinas y zearalenona en maíz y maní. Norma IRAM 14803, Argentina, 1990.
14. Association of Official Analytical Chemists. Natural Poisons. In: Official Methods of Analysis, 15th Ed. AOAC International, USA. p.1184-1213. 1990.
15. Mayou J. & Moberg L. Cereal and cereal products. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Third Ed. C. Vanderzant & D.F. Splittstoesser (Eds) of the American Public Health Association. Copyright by the APHA, Washington, DC. p.995-1006. 1992.
16. Trojanowska K. Evaluation of cereal grain using mycological methods. In: Cereal Grain. Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage. J. Chelkowski (Ed). Elsevier, Amsterdam. p.217-227. 1991.
17. Código Alimentario Argentino. Capítulo XIX. Harinas, concentrados, Aislados y Derivados Proteicos. Res. M.B.S. 126,29-01-80, Argentina 1980.
18. Van Egmond H.P. Current situation on regulation of mycotoxins. Overview of tolerance and status of standards methods of sampling and analysis. Food Additives and Contaminants, 6(2):139-188, 1989.
19. Mercosul. Reglamento Técnico sobre Límites Máximos de Aflatoxinas. MERCOSUL/GMC/RES N° 56/94.
20. Nepote M.C., Saubois A., Beccaria A., Basilio J.C. Grado de contaminación por aflatoxinas y zearalenona en maíz y subproductos procesados en un molino harinero de la ciudad de Santa Fe (Argentina). Revista Iberoamericana de Micología 11:37-39. 1994.
21. Christensen C.M. Fungi and Seed Quality. In: Handbook of Applied Mycology. Foods and Feeds Vol 3. D.K. Arora K.G. Mukerji E.H. Marth (Eds). Marcel Dekker, Inc. New York p.99-120. 1991.
22. Bruce D.M., Ryniecki A. Economic methods of cereal grain drying to prevent spoilage and loss of quality. In: Cereal Grain. Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage. J. Chelkowski (Ed.). Elsevier, Amsterdam p.477-527. 1991.

Recibido: 10-09-1996

Aceptado: 18-04-1997

## Composición de nutrientes en especies vegetales autóctonas de la región Chaqueña, Argentina

V.R. Rozycki<sup>1</sup>, C.M. Baigorria<sup>1</sup>, M.R. Freyre<sup>1</sup>, C.M. Bernard<sup>1</sup>, M.S. Zannier<sup>1</sup>, M. Charpentier<sup>2</sup>

Instituto de Tecnología de Alimentos (I.T.A.), e Instituto de Cultura Popular (INCUPO), Santa Fe, República Argentina

**RESUMEN.** Se investigaron nutrientes en productos vegetales silvestres del Monte Chaqueño Argentino. Las especies evaluadas fueron: *Rumex sp.*, *Amaranthus quitensis* y *Taraxacum officinale* (vegetales de hoja); *Morrenia odorata*, *Passiflora sp.* (en dos estados de maduración) y *Eugenia myrciantes* (frutos); y polen de las flores de *Typha domingensis*. El muestreo se realizó durante tres períodos estacionales consecutivos. Se consignan los resultados de las determinaciones de humedad, proteína, lípidos totales, fibra bruta, cenizas, azúcares totales y reductores, almidón, pectinas totales y cálculo de aporte energético. Los micronutrientes minerales, se analizaron mediante espectrofotometría de absorción atómica, e involucró: calcio, sodio, potasio, magnesio, hierro. Se determinó además, el contenido de fósforo por colorimetría, vitamina C mediante titulación con 2-6 diclorofenolindofenol y beta-carotenos por espectrofotometría. Se realizó el test de comparación de medias para las muestras de Mburucuya en los dos estados de maduración. En los vegetales de hoja se encontró una mayor concentración de los macronutrientes que en especies similares pero cultivadas, como la acelga, espinaca y achicoria, lo cual se traduce en un aporte energético superior (promedio: 33-60 Kcal/100 g en hojas silvestres, frente a 14-30 Kcal/100 g en las cultivadas). De los micronutrientes investigados, se destacaron los tenores de Ca, Fe y Mg hallados en *Amaranthus quitensis* (274.3, 6.4, 136.2 mg/100 g, respectivamente), además del nivel de vitamina C de *Rumex sp.* (48.9 mg/100 g). En general, los frutos también evidenciaron concentraciones más elevadas de macronutrientes y aportes calóricos que otros cultivados, como las manzanas. Resultaron de interés los valores de macro y micronutrientes encontrados en el polen de *T. domingensis*, con un aporte calórico de 287.7 Kcal/100 g.

**SUMMARY.** Nutrients in wild vegetable products of the Argentine Chaco. The nutrient composition was investigated in wild vegetable products grown in the Argentine Chaco. The evaluated species were: *Rumex sp.*, *Amaranthus quitensis* and *Taraxacum officinale*, as vegetable leaves; *Morrenia odorata*, *Passiflora sp.* (in two ripening stages) and *Eugenia myrciantes* as fruits; and the pollen of the flowers of *Typha domingensis*. Sampling was performed during three harvesting seasons. Values for protein, total lipid, crude fiber, ash, reducing and total sugar, starch, total pectin and computed energy value are given. Mineral values are reported for: calcium, sodium, potassium, magnesium, iron and phosphorus. Vitamin values are given for ascorbic acid and beta-carotene. Comparison of two means test was employed to test the significant differences among the means. In the wild leaves, higher concentrations of the macronutrients were found than in commercially exploited cultivars such as swiss chard, spinach and chicory. Also higher energy value: 33-60 Kcal against 14-30 Kcal/100 g. Unusually high levels of calcium, iron and magnesium were found for *Amaranthus quitensis* (274.3, 6.4 and 136.2 mg/100 g, respectively) and 48.9 mg/100 g of ascorbic acid were found in *Rumex sp.* As a rule, all these wild fruits exhibited higher amounts of macronutrients and energy value than cultivated species such as apples (*Mallus sp.*). The most interesting results were for *T. domingensis* pollen regarding its macro and micronutrient composition with an energetic value of 287.7 Kcal/100 g.

### INTRODUCCION

El diagnóstico nutricional de la población rural y aborigen de la Región Chaqueña Argentina evidencia severas deficiencias, principalmente en mujeres embarazadas y en período de lactancia, y en niños que no asisten a comedores institucionales. Estos trastornos tienen su origen esencialmente en las malas conductas alimentarias: excesivo consumo de productos farináceos y grasas animales, y reducida ingesta de verduras y frutas. Dicha situación se traduce en serias falencias intelectuales, retardo en el crecimiento, predisposición a contraer enfermedades infecciosas, tuberculosis, anemia, fatiga, etc. (1)

Con el objeto de tratar de revertir el cuadro nutricional observado

-problemática común a todos los países de América Latina- diversas organizaciones gubernamentales y no gubernamentales se han avocado a la búsqueda y puesta en marcha de estrategias y políticas directrices que, adecuadas a la realidad de cada país, permitan mitigar el hambre y la malnutrición de sus poblaciones. Esto se lograría a través de Planes de Acción para la Nutrición, dirigidos a lo que la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) denomina grupos vulnerables (población indígena, niños, ancianos). Para ello se proponen programas tendientes a corregir la carencia de macro y micronutrientes, propiciando la incorporación a las dietas de alimentos ricos en ellos (incluidos los alimentos tradicionales o autóctonos) (2).

Las plantas silvestres (hojas, semillas, frutos, raíces y tubérculos) poseen muchas de las vitaminas y minerales esenciales, así como carbohidratos, lípidos y proteínas. Se adaptan fácilmente a las condiciones del lugar y a los hábitos alimentarios locales, y pueden suplir a los alimentos cultivados cuando estos escasean (3). En función de esto, FAO aconseja promover localmente la producción y el cultivo de plantas autóctonas subexplotadas, a los efectos de ampliar la base alimentaria y mejorar el estado nutricional de los sectores de menores

1. Area de Estudios Fisicoquímicos de Alimentos (ITA). Instituto de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Univ. Nacional del Litoral, Santa Fe, Rep. Argentina.
2. Equipo de Economía y Tecnología Apropriada. Instituto de Cultura Popular (INCUPO) Reconquista, Santa Fe, Rep. Argentina

recursos (4). Se procura así, asegurar la disponibilidad alimentaria mediante el impulso sostenido de la producción, evitando el deterioro de los recursos naturales y poniendo énfasis en los considerados como estratégicos por su importancia en la conformación de una dieta recomendable en términos de acceso, valor nutricional y arraigo cultural (5).

Los frutos y hojas de muchas especies arbustivas o arbóreas del Chaco, poseen adecuados niveles energéticos y/o proteicos y/o vitamínicos, transformándose en una atractiva fuente alimentaria, ya sea como base o complemento de la alimentación humana (6).

El presente trabajo resume una serie de parámetros considerados de interés nutricional de diversas especies vegetales que se desarrollan en forma silvestre en el monte chaqueño, reconocido como el segundo ecosistema de Sud-América por su vasta extensión (650.000 Km<sup>2</sup> corresponden a la República Argentina). Dicha tipificación podría, por un lado, contribuir a incrementar la escasa información disponible acerca de las mismas, y al mismo tiempo posibilitar una mejor selección de aquellas cuyo aporte de nutrientes resulte significativo.

## MATERIALES Y METODOS

**Muestreo:** El muestreo e identificación de las especies estuvo a cargo de personal del Instituto de Cultura Popular (INCUPO), quienes seleccionaron y entrenaron a pobladores de la Región para colaborar en la tarea de reconocimiento, recolección y envío de las muestras.

De los vegetales de hoja se analizaron: *Rumer sp.*- Flia. de las Polygonáceas (Lengua de Vaca); *Amaranthus quitensis*- Flia de las Amarantáceas (Yuyo Colorado). *Taraxacum*- Flia de las Compuestas (Taraxacon o Diente de León). El muestreo de frutos comprendió. *Morrenia odorata*- Flia. de las Asclepiadáceas (Doca, Tasi o Tase); *Passiflora sp.*- Flia. de las Passifloráceas (Mburucuyá o Maracuyá); *Eugenia myrciantes*- (Ubajay). Además se realizó el estudio del polen de la flor de *Typha domingensis*- Flia de las Typháceas (Polen de Totora o Espadaria).

De cada especie seleccionada, se recolectó aproximadamente un kilogramo, en zonas preestablecidas. Las muestras se enviaron limpias y refrigeradas al laboratorio y se procesaron dentro de las 24 hr. El muestreo se realizó de modo de abarcar tres períodos estacionales consecutivos. De cada fruto u hoja, se procesaron las partes comestibles, eliminándose tallos, carozos y piel. Las muestras de polen de totora se recolectaron durante la primavera, obteniéndose el polvo amarillo de las flores masculinas, que se tamizó y conservó en recipientes herméticos. En todas las muestras se trabajó sobre tejido fresco.

Las muestras ingresadas al laboratorio se cortaron en trozos menores y se procesaron durante cinco minutos en un Waring Osterizer, Modelo Cyclotrol (Oster Corporation, Milwaukee, Wisconsin, USA), con una cantidad conocida de agua destilada, hasta obtener un producto homogéneo. Una submuestra del homogeneizado se destinó al análisis de composición centesimal, vitaminas y minerales. La submuestra restante se pasteurizó en baño de agua a 70 °C para eliminar la actividad enzimática, y se conservó en recipientes herméticos a -20 °C.

**Métodos analíticos:** Los reactivos empleados fueron grado reactivo marca MERCK (Merck Química Argentina S.A.I.C., Buenos Aires, Argentina).

Los ensayos sobre muestras se realizaron por duplicado, según la siguiente metodología:

**Humedad:** Secado en estufa de vacío (Científica Central - Jacobo Rapaport, Modelo V. Buenos Aires, Argentina), a temperatura inferior a 70 °C y presión por debajo de 50 mm Hg, hasta pesada constante. Norma A.O.A.C. -7003 (7).

**Cenizas:** Incineración en mufla (Dalvo Instrumentos, Modelo HI- Santa Fe, Argentina), a 525 °C. Norma A.O.A.C. -31.012, I(7).

**Proteínas Totales:** Método Kjeldahl (Digestor y Destilador Dalvo Instrumentos, Modelo DK/6. Santa Fe, Argentina). Factor de conversión utilizado para expresión de los resultados: 6,25. Norma A.O.A.C. -2055, 2056, 2057 (7).

**Lípidos Totales:** Extracción con éter de petróleo sobre muestra seca, durante 16 hr (equipo Davo Instrumentos, Modelo DK/6. Santa Fe, Argentina). Norma A.O.A.C. -7060, 7061, 7062 (7).

**Fibra Bruta:** Método AOCS-AOAC, empleando equipo de digestión (LAI, Modelo II; Estudio y Laboratorio Químico S.R.L. Buenos Aires, Argentina), y dispositivo de filtrado plástico (Nagel CO., Rochester, NY 14602, U.S.A.). Norma A.O.A.C. -7066, 7067, 7068 (7).

**Azúcares Reductores:** Extracción etanólica (equipo Lutz Ferrando, Buenos Aires, Argentina). Norma A.O.A.C. -3112, 3113 (7). Cuantificación por el método volumétrico de Fehling-Causse-Bonnans (Montes, Adolfo Leandro, 1981) (8).

**Azúcares Totales:** Extracción etanólica (equipo Lutz Ferrando, Buenos Aires, Argentina). Inversión en medio ácido (ácido clorhídrico 6 N) en baño a 60 °C, durante 10 min. Norma A.O.A.C. -3112, 3113, 31026-b (7). Cuantificación por el método volumétrico de Fehling-Causse-Bonnans (8), validado según Grant Wernimont (9), utilizando como patrón la Norma A.O.A.C. 14.073 (7).

**Almidón:** Gelatinización del almidón en autoclave (Esterilización Longhi Hnos. S.A., Equipos Ghilon, Mod. II, Buenos Aires, Argentina) a 135 °C durante 1 hr. Hidrólisis enzimática a 55 ± 1 °C, durante 2 horas con enzima glucoamilasa (SUMIZYME 3000), provista por Shin Nihon Chemical Co, Aichi, Japón. Norma A.O.A.C. -14074 (7). Cuantificación por el método volumétrico de Fehling-Causse-Bonnans (8).

**Pectinas Totales:** Método de Carbazol. Norma IFFJP - N° 26 (10). Lectura de la absorbancia en espectrofotómetro a 525 nm. (Spectronic, Genesys, Alfatron, Buenos Aires, Argentina).

**Minerales:** Los cationes Ca, Mg, Fe y K se analizaron sobre las muestras incineradas a 500 °C durante 2 horas, por Espectrofotometría de Absorción Atómica (Espectrofotómetro de Absorción Atómica Instrumentation Laboratory, modelo 551). Norma A.O.A.C. -3002, 3014, 3015 (7). La determinación de fósforo se efectuó sobre la ceniza obtenida por tratamiento en mufla a 500 °C durante 6 hr. o hasta cenizas grises. Norma A.O.A.C. -3099 (7). Se cuantificó pro el micrométodo de Sullivan y Carpenter (1993) (11), mediante la reacción del fósforo con solución de molibdato de amonio 0.05%, en presencia de hidroquinona 0.5% y solución de sulfito de sodio 20%. La lectura de absorbancia se realizó a 650 nm.

**B-carotenos (por-vitamina A):** Extracción con acetona, partición en éter de petróleo, separación del caroteno por cromatografía en columna de alúmina y lectura espectrofotométrica a 450 nm. Técnica de Brubacher, procedimiento B (12), validada según Grant Wernimont (9), utilizando como patrón a la Norma A.O.A.C. -43.014 (7).

**Valor energético:** Los carbohidratos totales se calcularon por diferencia (100 menos la suma de los porcentajes de humedad, lípidos, proteínas y cenizas). El valor energético se determinó por multiplicación de los gramos de proteína, carbohidratos (carbohidratos totales menos fibra bruta) y grasa por sus correspondientes factores (4 kcal/g proteína, 4 kcal/g de carbohidratos y 9 kcal/g de grasa, respectivamente) y sumatoria de los productos, Código Alimentario Argentino (13).

Como estimadores estadísticos se informaron media, desviación standard y rango. Se realizó el test de comparación de medias (14) para Mburucuyá verde y maduro -tanto en base húmeda como seca- para determinar la existencia de diferencias significativas entre los valores promedios de los distintos parámetros, al nivel del 5%. Las diferencias significativas se indican en las tablas mediante un asterisco.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó el aporte de nutrientes de las especies tomando como referencia los valores publicados como Daily Intake Allowance (DIA) 912), sin considerar la biodisponibilidad de los mismos. La unidad de referencia adoptada fue 100 g y se denominó porción.

La Tabla 1 resume la composición centesimal y aporte energético, expresados por 100 g de muestra (parte comestible de tejido fresco).

Las diferencias encontradas entre las muestras de Mburucuyá en los dos estados de maduración fueron al nivel del 1 %, tanto para los resultados analizados en base tal cual como en base seca.

TABLA 1  
Composición aproximada y aporte energético por 100 g de tejido fresco (Parte comestible)

Nombre común	Número de datos	E. seco g	Proteínas g	Grasa g	Carbohidratos g	Cenizas g	Aporte Energ. Kcal
<b>Vegetales de Hoja</b>							
Diente de León	15	11.22	2.56	0.40	6.63	1.63	32.65
		8.90-13.60	2.07-3.59	0.36-0.44	5.11-8.51	1.36-1.95	26.64-38.16
Lengua de Vaca	22	12.90	3.07	0.80	7.57	1.46	42.56
		8.56-17.10	2.41-4.10	0.70-0.91	3.71-11.93	1.17-1.90	27.34-59.92
Yuyo Colorado	23	19.04	4.07	0.69	11.12	3.16	59.52
		14.90-23.40	2.63-5.62	0.61-0.79	6.65-15.58	2.39-3.85	44.33-77.33
<b>Frutos</b>							
Doca	14	14.94	1.65	1.02	11.47	0.80	48.68
		12.30-17.20	1.14-2.10	0.79-1.21	8.85-13.38	0.45-1.16	40.88-58.49
Mburucuyá Maduro	12	31.13	4.70	1.67	23.38	1.38	84.32
		27.60-34.70	3.90-5.63	1.48-1.89	20.14-26.45	0.98-1.80	76.84-91.75
Mburucuyá Verde	13	21.39*	3.20*	1.58	15.72	0.88*	59.20*
		17.70-26.90	2.20-3.91	1.51-1.65	11.85-20.55	0.75-1.13	42.35-77.61
Ubajay	14	11.05	1.08	1.59	8.09	0.29	48.85
		9.37-14.30	0.70-1.27	1.35-1.73	6.82-10.94	0.16-0.37	41.47-59.97
<b>Otros Productos</b>							
Polen	19	81.48	14.19	3.20	60.81	3.28	287.71
		54.6-94.4	11.20-18.40	2.56-4.52	46.54-73.04	2.18-5.70	211.34-323.10

Resultados expresados como valor medio y rango

\* Diferencia significativa al nivel del 1 % entre muestras de Mburucuyá

**Vegetales de hoja:** El Yuyo Colorado evidenció una mayor concentración en todos los componentes, destacándose su aporte energético (59 Kcal/100 g).

Los resultados hallados en los tres vegetales coincidieron, en términos generales, con datos publicados por diversos autores sobre las mismas especies producidas en distintas regiones geográficas.

Kuhlein (15) informó para hojas de *Rumex acetosella* un contenido de agua muy similar al encontrado en Rumex de la Región Chaqueña Argentina (Lengua de Vaca), aunque algo inferior al reportado por Olusola y Zebulon (16) en las provenientes de África (76 %). Otras variedades estudiadas de esta familia (17,18,19), acusaron tenores de macronutrientes menores que los de Lengua de Vaca detallados en esta tabla.

Las concentraciones de los componentes mayoritarios de las hojas de *Amaranthus* (Yuyo Colorado), resultaron superiores a las

publicadas por distintos investigadores (4,19,20,21,22) en variedades de la misma familia.

El contenido de humedad de *Taraxacum* (Diente de León) fue superior al reportado en otros trabajos (18,23) y, consecuentemente, los niveles hallados de los distintos nutrientes en base tal cual, resultaron menores.

Las especies analizadas en el presente trabajo exhibieron niveles de macronutrientes superiores a los informados para otros vegetales de hoja cultivados de consumo tradicional, como acelga, espinaca y achicoria (24). Schmidt-Hebbel y col (17) publicaron para estas tres verduras, aportes energéticos de 25, 30 y 14 Kcal/100 g, respectivamente, valores estos inferiores a los consignados en la tabla.

**Frutos:** Las muestras de Mburucuyá se estudiaron en dos estados de maduración. Los contenidos de humedad, proteínas, cenizas y aporte calórico resultaron mayores en los frutos maduros que en los

inmaduros (verdes), arrojando diferencias significativas (al nivel del 1 %) en los mencionados parámetros. Los datos encontrados fueron similares a los reportados por otros autores (18,19,23,25) con niveles de humedad y proteínas algo inferiores en frutos de la Región Chaqueña.

Los resultados obtenidos para frutos de Ubajay y Doca no se pudieron contrastar con datos bibliográficos, dado que no se dispuso de citas. Sí, se compararon las tres especies analizadas con investigaciones reportadas sobre otros frutos tradicionales, como las manzanas cultivadas (17). De esta comparación surgió que, a excepción del Ubajay, las especies Mburucuyá y Doca evidenciaron cantidades más elevadas de los componentes mayoritarios y aporte energético que las manzanas.

**Polen de Totoras:** Su estudio arrojó un tenor de humedad de 18.5 %. Por consiguiente el contenido de nutrientes resultó mucho mayor respecto a los vegetales de hoja y frutos, destacándose los niveles de proteínas, lípidos y el aporte energético (14.2 %, 3.2 % y 287.7 Kcal/100 g, respectivamente). Muniategui S. y col. (26) investigaron los tenores proteicos en muestras de polen apícola manufacturado, provenientes de distintas especies botánicas. Los resultados publicados arrojaron un promedio de 17.4 % de proteína bruta (base seca), nivel similar al hallado en el polen de Totoras. Esto resultaría de sumo interés dado que, en general, los pólenes contienen gran cantidad de aminoácidos esenciales (26). Asimismo, el elevado contenido energético del Polen de Totoras, fue similar al informado para mieles (23), productos ampliamente consumidos.

La Tabla 2 detalla los resultados de las distintas fracciones de carbohidratos.

TABLA 2  
Carbohidratos, fibra y pectinas por 100 g de tejido fresco (Parte comestible)

Nombre Común	Número de datos	Azúcares		Reductores g	Fibra bruta g	Pectinas totales mg
		Almidón g	Totales			
<b>Vegetales de Hoja</b>						
Diente de León	15	1.0 0.7-1.3	0.5 0.4-0.8	0.5 0.4-0.8	1.5 1.2-1.7	n.d.
Lengua de Vaca	22	1.1 0.5-2.1	1.4 0.7-2.3	1.0 0.4-2.1	1.5 1.1-2.1	n.d.
Yuyo Colorado	23	1.7 1.3-2.4	1.1 0.6-1.7	0.7 0.4-1.2	2.1 1.1-2.9	n.d.
<b>Frutos</b>						
Doca	14	1.8 1.1-3.0	3.2 2.1-4.2	2.2 1.6-2.8	3.1 2.1-4.2	n.d.
Mburucuyá Maduro	12	1.1 0.8-1.4	7.4 6.4-8.8	7.2 6.1-8.7	10.8 8.9-12.4	103.4 88.6-121.8
Mburucuyá Verde	13	1.0 0.7-1.2	3.7* 2.6-4.6	2.8* 2.2-3.6	7.7* 5.9-9.5	148.3* 132.6-177.0
Ubajay	14	0.5 0.3-0.6	4.1 3.2-5.6	2.6 2.2-2.9	0.8 0.5-1.1	403.5 306.0-501.0
<b>Otros Productos</b>						
Polen	19	11.9 7.6-19.4	14.2 10.1-17.4	1.7 1.1-2.8	13.7 8.3-17.6	n.d.

Resultados expresados como valor medio y rango

\* Indica diferencia significativa al nivel del 1 % entre muestras de Mburucuyá

n.d.: No se determinó

**Vegetales de hoja:** Considerando los elevados niveles de agua de las hojas, los carbohidratos en base tal cual resultaron de escaso interés.

**Frutos:** Se hallaron valores de almidón similares en ambos estados de maduración de los frutos de Mburucuyá. La concentración de este polisacárido encontrada en Doca fue superior a la de las restantes especies (1.82 %).

Los niveles de azúcares totales y reductores fueron similares para todos los frutos, excepto para Mburucuyá Maduro, que resultaron superiores a los de Mburucuyá Verde, siendo sus contenidos significativamente diferentes.

Los tenores de fibra resultaron variables, sobresaliendo los de Mburucuyá, con diferencias significativas entre ambos estados de maduración. De acuerdo a estos valores, una porción de Mburucuyá

Maduro cubriría alrededor del 40 % de la ingesta de fibra requerida según la DIA.

El contenido de pectinas fue similar entre frutos de Mburucuyá. La concentración en Ubajay resultó considerablemente más elevada, convirtiéndolo en la fuente de fibra soluble más importante entre las especies analizadas. Los apreciables niveles de pectinas de los frutos de Mburucuyá y Ubajay justificarían su utilización por los pobladores de la región, en la elaboración de dulces, jaleas y mermeladas (27).

**Polen de Totoras:** Se hallaron tenores de azúcares totales, almidón y fibra superiores a los de vegetales de hoja y frutos, aunque algo inferiores en azúcares reductores. El contenido de fibra bruta alcanzaría a cubrir el requerimiento diario con una porción.

En la Tabla 3 se consignan los datos de minerales y vitaminas.

TABLE 3  
Micronutrientes, minerales y vitaminas por 100 g de tejido fresco (Parte comestible)

Nombre Común	Número de datos	Calcio mg/100 g	Fósforo mg/100 g	Hierro mg/100 g	Magnesio mg/100 g	Potasio mg/100 g	Vit.C mg/100 g	Prov. A ER/100g	Relación Calcio/Fósforo
<b>Vegetales de Hoja</b>									
Diente de León	15	72.3	63.3	1.9	34.1	349.9	4.5	510	1.1
		55.2-79.2	58.9-59.0	1.5-2.5	23.6-47.7	259.0-448.0	2.4-6.5	390-690	0.9-1.3
Lengua de Vaca	22	50.3	38.0	1.2	41.7	317.5	48.9	2900	1.4
		41.0-89.9	21.4-54.6	0.8-2.0	29.5-53.9	253.0-442.7	43.8-55.6	1800-3700	0.8-2.2
Yuyo Colorado	23	274.3	46.5	6.4	136.2	293.2	25.7	1500	5.9
		222.0-354.4	41.1-57.9	2.3-12.5	68.0-241.0	2020-385.0	21.7-31.5	1200-1900	5.0-7.7
<b>Frutos</b>									
Doca	14	40.9	35.2	0.6	31.5	312.2	41.6	330	1.2
		24.0-62.9	19.3-48.3	0.3-1.0	19.0-43.5	241.0-436.1	32.1-51.6	110-500	0.6-1.9
Mburucuyá Maduro	12	14.3	110.3	1.3	29.2	253.1	14.6	700	0.13
		12.9-16.1	92.0-134.9	1.2-1.4	21.7-38.9	229.2-277.0	13.7-15.2	520-680	0.11-0.15
Mburucuyá Verde	13	14.9	52.4*	0.5	31.0	241.3	26.4*	260*	0.29*
		12.7-16.6	47.2-57.7	0.4-0.7	23.5-37.9	217.0-284.5	19.8-33.4	120-340	0.25-0.31
Ubajay	14	32.3	18.6	0.4	11.2	97.3	75.1	80	1.7
		27.6-35.6	16.2-21.6	0.3-0.5	10.7-11.6	84.8-104.9	61.2-84.2	60-90	1.6-1.9
<b>Otros Productos</b>									
Polen	19	128.0	465.9	6.4	65.2	126.9	176.0	40	0.28
		92.8-159.0	365.4-575.1	5.2-7.8	39.7-87.0	67.0-163.9	122.0-295.8	30-50	0.18-0.43

Resultados expresados como valor medio y rango

\* Indica diferencia significativa al nivel del 1 % entre muestras de Mburucuyá

ER: equivalente retinol

**Vegetales de Hoja:** Para la lengua de vaca, los valores P, Ca y Mg fueron semejantes a los consignados en bibliografía (15,18,22). El nivel de Fe fue coincidente con los publicados por Watt (23) y Hurtado Fuertes (22), mientras que el K resultó mucho mayor que el notificado por Kuhnlein (28). La concentración de vitamina C fue superior a otras reportadas por diversos autores (25,18,19,24). Una porción de 100 g de este vegetal cubriría el 80 % de la DIA de vitamina C, en tanto que -por el nivel de carotenos encontrado- la misma porción cubriría el 100 % de los requerimientos diarios de vitamina A.

Los micronutrientes investigados en Yuyo Colorado y Diente de León presentaron similitudes con otros reportados (4,19,23,,20,29). Las concentraciones de Ca, Fe y vitamina C en Diente de León, fueron inferiores a las encontradas por Watt (23). Aunque las concentraciones de calcio y magnesio contenidas en una porción de Diente de León no alcanzarían a cubrir la DIA, la relación entre ambos minerales es muy cercana a 1. El resto de los nutrientes alcanzaría para cubrir aproximadamente un 10 % de las necesidades diarias.

La concentración de calcio en Yuyo Colorado resultó tal que, una porción podría satisfacer el 25 % de la DIA, aunque debido a la baja concentración de fósforo la relación calcio/fósforo fue muy lejana a la ideal. Esa misma porción cubriría aproximadamente un 30 % de los requerimientos diarios de hierro, magnesio, vitamina C y alrededor del 50 % de vitamina A. El contenido de Mg resultó considerablemente menor que el informado por Falconer (20), con valores de 1341 mg/100 g y 2195 mg/100 g, para *Amaranthus caudatus* y *spinus* respectivamente.

**Frutos:** Al igual que en los parámetros discutidos anteriormente, sólo se encontraron datos de bibliografía relativos a Mburucuyá maduro, siendo los resultados obtenidos para micronutrientes coincidentes con los notificados por otros autores (18,19,23).

Se destacaron los mayores niveles de calcio y los menores

niveles de fósforo de la Doca y el Ubajay sobre ambas muestras de Mburucuyá, arrojando una mejor relación calcio/fósforo en los primeros. En cuanto a la concentración de hierro, se destacó la de Mburucuyá maduro sobre las restantes, siendo significativa la diferencia respecto a la de Mburucuyá verde. Los niveles de magnesio y potasio encontrados en Doca y Mburucuyá, mostraron similitudes, siendo inferior el valor correspondiente al Ubajay. Ambos estados de maduración de muestras de Mburucuyá, presentaron concentraciones menores de vitamina C que los otros dos frutos, siendo la correspondiente al Mburucuyá verde significativamente mayor que la del maduro. El valor más alto de provitamina A correspondió al Mburucuyá maduro, que fue significativamente superior al de los frutos verdes. La menor concentración de provitamina A se encontró en el Ubajay. Cabe destacar que sólo para el parámetro vitamina C, una porción de cualquier fruto cubriría alrededor del 20 % de las necesidades de ingesta diaria.

**Polen de Totoras:** Se observó una buena concentración de calcio, pero debido a la alta concentración de fósforo la relación calcio/fósforo resultó baja. Una porción de 100 g cubriría el 40 % del requerimiento de fósforo y alrededor del 30 % del de hierro. La importante concentración de vitamina C encontrada, mostró que con sólo 30 g de ingesta se cubriría el 100 % del requerimiento diario.

## CONCLUSIONES

La composición de nutrientes encontrada en los vegetales de hoja estudiados, resultó mas interesante que la de otras especies de consumo tradicional, como acelga, achicoria y espinaca, justificando así, la inclusión de estas plantas como complemento alimentario de la población rural y aborigen.

Los niveles apreciables de minerales obtenidos para estos vegetales (principalmente Ca, Fe y Mg contenidos en el yuyo colorado),

pusieron de manifiesto la necesidad de profundizar en el estudio de ciertos factores antinutricionales que pudieran afectar la biodisponibilidad de los mismos.

Los frutos se presentaron como una atractiva fuente de vitaminas y minerales, además del importante aporte en carbohidratos y fibras. La difusión de estas especies en las dietas, permitiría sustituir a otros frutos tradicionales que resultan de difícil o imposible acceso para los pobladores, principalmente debido a factores socio-económicos.

La composición del polen de totoras, lo convierte en un producto interesante desde el punto de vista nutricional, fundamentalmente por el elevado aporte energético. La profundización en los estudios sobre el mismo permitirá ampliar el espectro de aplicaciones.

En el presente trabajo se han establecido valores indicativos del potencial nutricional de especies vegetales de la Región Chaqueña Argentina, las que cuentan desde hace ya tiempo con la aceptabilidad general y son consumidas (aunque no con la frecuencia deseada) por los pobladores de la zona.

Si bien los valores hallados para algunas especies fueron similares e incluso superiores a los informados para las mismas provenientes de otras regiones, este reporte amplió la escasa información disponible acerca de productos autóctonos.

Sin dejar de considerar el impacto de la biodiversidad sobre los parámetros estudiados, se puede concluir que los productos analizados resultaron excelentes fuentes de vitaminas, minerales, fibra y carbohidratos.

Se considera que el presente informe puede resultar un aporte significativo para justificar acciones tendientes a la protección del ecosistema, y a la determinación de pautas alimentarias que beneficien a las poblaciones carenciadas de la región.

### AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Cultura Popular, sin cuyo valioso aporte no hubiera sido posible la concreción del presente trabajo.

### REFERENCIAS

- Acción de INCUPO. Diagnóstico Nutricional de los Sectores Pobres del Norte Argentino - Instituto de Cultura Popular - Reconquista - Santa Fe - Argentina. p.15-20. 1993.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Nutrición y Desarrollo. Una Evaluación Mundial. Conferencia Internacional sobre Nutrición. Italia. 1992.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Situación Alimentaria y Nutricional de América Latina - Conferencia Internacional sobre Nutrición. FAO- Organización Mundial de la Salud- Organización Panamericana de la Salud; Santiago, Chile. 1993.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Valor nutritivo y Usos en Alimentación Humana de Algunos Cultivos Autóctonos Subexplotados de Mesoamérica- Oficina Regional de a FAO para América Latina y El Caribe; Santiago, Chile. 1993.
- FAO. Preventing Micronutrient Deficiencies: Food Abundance and Diversity are Fundamental Food, Nutrition and Agriculture, 7:8-17. 1993.
- Karlin U.O., Catalán L.A., Coirini R.O. La naturaleza y el hombre en el Chaco seco. Proyecto GTZ - Desarrollo Agroforestal en Comunidades Rurales del Noroeste Argentino. Salta, 47-54. 1994.
- Association of Official Analytical Chemists. Official Method of Analysis of the AOAC. 14th ed. Washington, DC, The Association, 1984.
- Montes Adolfo Leandro. Bromatología, Buenos Aires. Ed. Eudeba. p.315. 1981.
- Wernimont G. & Spendley W. Use of statistics to develop and evaluate analytical methods. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia. 1993.
- International Federation of Fruit Juice Producers. Determination of pectin. Met. N° 26. p 1-5. 1964.
- Sullivan M.D., Carpenter D.E. Methods of Analysis for Nutrition Labeling. Virginia, USA. p.341-342. 1993.
- Brubacher G. Methods for the Determination of Vitamins in Food. Ed. Elsevier Applied Science Publishers p.39-45. 1986.
- Código Alimentario Argentino. Buenos Aires, De la Canal y Asociados SRL. Buenos Aires, 9.459. 1997.
- Bethea R.M., Durán B.S. & Boullion. Statistical Methods for Engineers and Scientist. New York, Ed. Marcel Decker, Inc. 124-134. 1995.
- Kunhlein H.V. Nutrient Values in Indigenous Wild Berries Used by the Nuxalk People of Bella Coola, British Columbia. Journal of Food Composition and Analysis. 2:28-36. 1989.
- Olusola Ladeji, Zebulon C. Chemical analysis of sorrel leaf (*Rumex acetosa*). Food Chemistry. 48:205-206. 1993.
- Schmidt-Hebbel, Pennacchiotti Montti I. Tabla de Composición de Alimentos Chilenos - Santiago de Chile, Editorial Universitaria. 1985.
- Institute of Nutrition of Central América and Panamá. Composition of Foods Commonly Used in Latin American Countries, Guatemala. p:29-49. 1961.
- Hurtado Fuertes C. Tabla de Composición Química de los Alimentos Peruanos. 5ta. Ed. Lima, Instituto de Nutrición. 1975.
- Falconer J., Arnold J.E.M. Seguridad Alimentaria Familiar y Silvicultura. FAO Roma p:124-125. 1991.
- Hill R.M., Rawate P.Dd. Evaluation of food potential, some toxicological aspects and preparation of a protein isolate from the aerial part of Amaranth (Pigweed). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 3:465-469. 1982.
- Hurtado Fuertes C. Domesticación de Nuevas Plantas Herbáceas para integrarlas a la alimentación Latinoamericana. Lima, Instituto de Nutrición p.4. 1978.
- Watt B.K. & Merrill A.L. Composition of Foods. Raw, Processed. Prepared. Agriculture Handbook N° 8, N° 8. Washington D.C., United States Department of Agriculture. p.32,89,91. 1963.
- L'Encyclopedie Nutritionnelle de l'Homme. Contribution a l'Etude des Constituans Alimentaires et des Aliments. París T. Staron p.95. 1986.
- Burguera J.L., Burguera M. & Becerra G. Mineral contents of some fruits from Venezuela Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 6:667-672, 1992.
- Muniategui S., Sancho M.T., Huidobro J.F., & Simal J. Estudio del contenido de proteína y prolina libre en muestras de polen apícola manufacturado. Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos. 4:545-550. 1990.
- Instituto de Cultura Popular. Acción de INCUPO. Reconquista 2:9-12. 1988.
- Kunhlein H.V. Nutrient values in indigenous wild plant greens and roots used by the Nuxalk People of Bella Coola, British Columbia Journal of Food Composition and Analysis. 3:38-46. 1990

Recibido: 20-09-1995

Aceptado: 16-06-1997

## Composición mineral de la leche del Estado Mérida, Venezuela

María D. Sánchez<sup>1</sup> y Luis A. Boscán<sup>2</sup>

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

**RESUMEN.** Se analizaron 132 muestras compuestas de leche cruda de las zonas altas y bajas del Estado Mérida, ubicado en la cordillera de los Andes venezolanos, para determinar los principales elementos minerales, por su concentración o importancia tecnológica, utilizando técnicas espectrofotométricas de absorción y absorción atómica. Los resultados se agruparon para evaluar el efecto de la zona (baja vs. alta) raza (mestizo vs. Holstein) alimentación (estabulación vs. pastoreo) y época del año (seca vs. lluviosa). Las concentraciones promedio globales obtenidas para el Estado en mg/L fueron: sodio,  $537.0 \pm 143.05$ ; potasio,  $1327.9 \pm 133.84$ ; calcio,  $952.4 \pm 118.67$ ; fósforo,  $739.2 \pm 97.9$ ; hierro,  $0.397 \pm 0.1549$ ; magnesio,  $82.4 \pm 10.40$ ; cobre,  $0.589 \pm 0.340$ ; zinc,  $7.95 \pm 1.737$ . Estas se encontraron mayores en las zonas bajas, probablemente por las diferencias en los sistemas de producción aplicados. Se observaron elevadas concentraciones para el hierro y el cobre, lo cual hace presumir la posible contaminación con utensilios de ordeño, transporte y/o conservación que podría determinar susceptibilidad al enranciamiento oxidativo.

**SUMMARY.** Mineral composition of milk from Mérida State, Venezuela. The main mineral components were measured on 132 composite raw milk samples collected in the low and high zones of Mérida State, located in the Venezuelan Andes, by spectrophotometric and atomic absorption methods. The results were grouped to evaluate the effect of the zone (low vs. high) breed (hybrid vs. Holstein) and season (dry vs. rain). The mean values and standard deviations (mg/L) were: sodium,  $537.0 \pm 143.05$ ; potassium,  $1327.9 \pm 133.84$ ; calcium,  $952.4 \pm 118.67$ ; phosphorus,  $739.2 \pm 97.9$ ; iron,  $0.397 \pm 0.1549$ ; magnesium,  $82.4 \pm 10.40$ ; copper,  $0.589 \pm 0.340$ ; zinc,  $7.95 \pm 1.737$ . These values were higher for the low zones due probably to differences in the production systems. Significant high concentration of iron and copper were obtained which could result in milks susceptible to oxidative rancidity.

### INTRODUCCION

El contenido de sales minerales en la leche reviste singular importancia desde diferentes puntos de vista. En el aspecto nutricional, por el aporte de minerales indispensables para el organismo, especialmente durante las etapas de su formación y crecimiento, con la ventaja sobre otros alimentos, de que ellos se encuentran en las proporciones o relaciones apropiadas para su absorción óptima a la sangre, desde el tracto digestivo (1,2). La deficiencia de algunos de esos minerales, particularmente de calcio, fósforo, hierro y zinc, puede determinar serios problemas nutricionales (3,4), mientras que el suministro desequilibrado de ellos puede ocasionar otros problemas de salud como hipocalcemia y deshidratación hipertónica (5,6,7).

Por otra parte, el contenido de sales minerales y sus variaciones juega un papel de gran interés en el estado físico y la estabilidad físico-química de la leche, por estar asociados con las proteínas, especialmente en el complejo coloidal caseinato-fosfato calcio-magnésico. De allí que el contenido mineral puede afectar el comportamiento de la leche y sus derivados. Así por ejemplo, afecta sensiblemente la estabilidad al calor, la coagulación por el cuajo y la coagulación de la leche evaporada (8,9). Es causante de problemas

tales como la coagulación de la crema en el café caliente, la formación de partículas de cuajada en productos lácteos congelados, la adhesión indeseable de glóbulos grasos en productos homogeneizados, variaciones en la viscosidad de la crema, etc. Además, ciertos componentes minerales, como el hierro y el cobre, pueden actuar como factores catalizadores de la oxidación de la grasa láctea, induciendo procesos de enranciamiento oxidativo que deterioran el sabor de los productos lácteos (10,11).

No obstante la importancia de los componentes minerales de la leche, muy pocos trabajos se han desarrollado sobre el tema en Venezuela y no se conoce ninguno realizado en el Estado Mérida. En este trabajo se estudia el contenido total y los principales componentes en diversas regiones del Estado, así como ciertos parámetros relacionados, con énfasis en las denominadas zonas altas, que han sido sometidas al Programa de Ganadería de Altura (12) y en los distritos de las zonas bajas, con fines comparativos. El estudio se concentra en los principales elementos minerales, por su contenido e importancia como son el calcio, magnesio, sodio, potasio y fósforo y otros de menor proporción pero de gran significación nutricional y/o tecnológica como son el hierro, el cobre y el zinc.

### MATERIALES Y METODOS

Las muestras utilizadas en el presente trabajo se obtuvieron mensualmente en dos períodos de captación diferentes. El primero se efectuó en los denominados Valles Altos de la cordillera de Los Andes, en las zonas de El Valle, Ejido, Jají y La Azulita, correspondientes a los Distritos Libertador, Campo Elías, Andrés Bello y Sucre del Estado Mérida, durante todo un año, tiempo en el cual se recolectaron 77 muestras de 30 fincas. El segundo período de

1. Ingeniero Químico M.S. Ingeniería de Alimentos. Profesora Asociada. Dpto. de Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
2. Dr. Farmacia M.S. Tecnología de Alimentos. Profesor Titular. Dpto. de Ciencia de los Alimentos. Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida. Facultad de Veterinaria. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

captación se desarrolló entre enero y julio en zonas consideradas como de baja altura, próximas a las poblaciones de La Tendida, El Vigía, Tucanizón, Guayabones, etc., aledañas a la carretera Panamericana, correspondientes a los Distritos Alberto Adriani y Andrés Bello, donde se capturaron 55 muestras de 12 fincas, para un total de 132 muestras de 42 unidades de producción.

Cada muestra se recolectó asépticamente del combinado de cada unidad productora, después del ordeño matinal y se transportó, bajo refrigeración, en recipientes estériles de 1 L, dentro de cavas con hielo, hasta el laboratorio, donde se conservó en refrigeración hasta su análisis.

Cada una de las muestras se analizó por duplicado, para los principales elementos minerales. Las cenizas se obtuvieron a partir de 20 ml de muestra homogénea, previamente desecada hasta peso constante a 90 °C, por incineración a 500 °C.

Las cenizas obtenidas se trataron sucesivamente con 10 ml de HCl 10%, 10 ml de HCl 10% y 10 ml de agua destilada. Cada tratamiento consistió en disolver las cenizas y calentar la solución para su evaporación (del ácido o agua) hasta un volumen de 2 ml. El residuo se disolvió en 25 ml de agua destilada, se filtró a través de papel Whatman 42 y el filtrado y lavados se enrasaron a 50 ml. Esta solución se utilizó para las determinaciones de microelementos (hierro, cobre y zinc) y sus diluciones (con un factor del orden de 1000) para los macroelementos (sodio, potasio, calcio y magnesio) (13,14).

Los elementos sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre y zinc se determinaron por espectroscopía de absorción atómica utili-

zando un aparato de la marca Perkin Elmer, modelo 303, y de acuerdo a la técnica recomendada por la AOAC (1990) adaptada a muestras de leche (14). En todos los casos se emplearon soluciones estándar elaboradas a partir de titrisoles Merck. La concentración de fósforo se determinó empleando la técnica espectrofotométrica (absorción) de Fiske-Subarow adaptada para leche (14).

Los datos obtenidos en cada determinación se agruparon para facilitar su análisis estadístico. Para cada elemento mineral se calcularon las medidas de centramiento y dispersión (rango, media, desviación estándar y coeficiente de variación porcentual) para todo el período de estudio. Además, se calcularon tales medidas en función de las zonas (altas y bajas) la raza (Holstein y mestizo) el tipo de alimentación (estabulación y pastoreo) y la estación (períodos de lluvia y sequía). Estos datos se compararon entre sí para establecer diferencias estadísticamente significativas, mediante la prueba de la hipótesis para diferencia de medias (t de Student).

## RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 presenta los resultados medios anuales obtenidos en las zonas altas, bajas y totales del Estado Mérida para los principales componentes minerales analizados. Al comparar entre sí las zonas, se aprecia que las concentraciones medias de los elementos sodio, potasio, calcio, fósforo, hierro y zinc son mayores en las zonas bajas, siendo las diferencias estadísticamente muy significativas ( $p < 0,01$ ). En cambio las concentraciones de magnesio y cobre son ligeramente mayores en las zonas altas, pero esas diferencias no son significativas.

TABLA 1  
Resultados promedio anuales de los minerales de la leche cruda producida en el Estado Mérida (mg/L)<sup>a</sup>

	Cenizas <sup>a</sup>	Sodio <sup>b</sup>	Potasio <sup>b</sup>	Calcio <sup>b</sup>	Magnesio	Fósforo <sup>b</sup>	Hierro <sup>b</sup>	Cobre	Zinc <sup>b</sup>
<b>Zonas Altas</b>									
R	0,65-0,78	338,8-653,4	895,4-1452,0	701,0-1101,4	65,3-111,3	453,6-959,4	0,121-0,799	<0,200-1,790	3,5-12,6
$\bar{X}$	0,72	443,4	1273,3	891,7	84,0	714,2	0,359	0,603	7,50
S	0,026	58,94	124,28	96,83	12,74	99,27	0,1420	0,4151	1,754
CV%	3,6	13,2	9,7	10,9	14,6	13,9	39,6	68,9	23,4
<b>Zonas Bajas</b>									
R	0,64-0,87	433,5-1028,5	1173,7-1787,7	847,2-1161,6	70,2-89,6	443,3-888,7	0,266-0,799	<0,200-0,968	6,2-13,4
$\bar{X}$	0,73	680,3	1405,7	1045,8	81,1	778,4	0,457	0,570	8,65
S	0,054	111,51	106,29	83,86	4,45	82,5	0,1567	0,1874	1,472
CV%	7,4	16,4	7,6	8,0	5,5	10,6	34,3	32,9	17,0
<b>Global</b>									
R	0,64-0,87	338,8-1028,5	895,4-1778,7	701,8-1161,6	65,3-111,3	443,2-959,4	0,121-0,799	<0,200-1,790	3,5-13,4
$\bar{X}$	0,73	537,0	1327,9	952,4	82,4	739,2	0,397	0,589	7,95
S	0,034143,05	133,84	118,67	10,40	97,9	0,1549	0,340	1,737	
CV%	4,7	26,6	10,1	12,5	12,5	13,2	39,0	57,7	21,8

a Los resultados de cenizas se expresan en g/100 ml.

b Los minerales señalados presentan diferencias muy significativas entre las zonas ( $p < 0,01$ ).

Estos resultados, en general mayores para las zonas bajas, coinciden perfectamente con otros reportados en esas zonas (15), para los principales macrocomponentes como la grasa, las proteínas, los sólidos totales, los sólidos no grasos y las cenizas totales, que obviamente están integrados en parte por esas sales. Tales macrocomponentes, al igual que algunas propiedades como el punto de congelación, la densidad, la acidez y el pH, también se encontraron mas elevados en las zonas bajas. Nótese que los contenidos de cenizas

totales expresados en g/100 ml, son de 0,72(0,026 para las zonas altas y 0,73(0,054 para las zonas bajas, ambos conformes a la norma COVENIN 903 de 0,70-0,80 g/100 ml (16), sin diferencia estadística entre sí. Estos contenidos aunque normales, se aprecian cerca del limite inferior de la norma. Sin embargo, son muy cercanos a los valores reportados para otras regiones del país (17,18). Las diferencias se deben posiblemente a la gran variación que existe en los sistemas de producción: en las zonas bajas, los rebañes están integra-

dos en su mayoría por ganado criollo mestizo, explotado en forma extensiva, a base de gramíneas, lo cual disminuye el volumen de leche producido, pero aumenta la concentración de los componentes, mientras que en las zonas altas predomina el ganado de raza pura como el Holstein, parcialmente estabulado, pero en su mayoría con alimentación a base de pasto kikuyo, que produce mayor volumen de leche, pero con menores concentraciones de los componentes (12,15). Esta podría ser también la explicación, por lo menos en parte, para esa diferencia observada en los principales componentes minerales. Sin embargo, como se discute adelante, los factores raza, tipo de alimentación y época del año, en forma aislada, no son determinantes. Pareciera que es su conjunto el que produce las diferencias indicadas.

Al comparar los resultados obtenidos con los encontrados en la literatura internacional para leche normal (8) se aprecia que los valores de los macroelementos estudiados en las zonas bajas se encuentran en los rangos reportados. Sin embargo, los valores encontrados en las zonas altas, para calcio, potasio y fósforo se observan en el límite inferior o ligeramente más bajos. Al hacer esta comparación con los pocos datos publicados en Venezuela (5,10,19,20,21) se observan magnitudes similares a las encontradas por Ortega (21) y Boscán et al (17) en el Estado Zulia.

**Cocientes calcio/fósforo:** Al analizar los cocientes Ca/P, de importancia en el aspecto nutricional, se obtiene que el promedio para las zonas bajas es de 1,34, para las altas de 1,25 y en general de 1,29, es decir todos los promedios están cercanos a 1,3, que coinciden con las cifras promedios generales reportadas para la leche en la literatura internacional de 1,3 (8,22). Asimismo, los cocientes obtenidos son muy similares a los calculados con los datos nacionales presentados por Ortega (21) y Boscán et al. (17) de 1,32 y 1,29, respectivamente.

**Hierro y cobre:** Dada la importancia tecnológica de estos elementos como catalizadores del enranciamiento oxidativo de la leche y derivados, es interesante ahondar en sus resultados. Los datos obtenidos indican que las concentraciones promedio de hierro encontradas para las zonas altas, bajas y totales de 0,359, 0,457 y 0,397 mg/L respectivamente, están por encima de los promedios encontrados por Harrar y Boscán en Machiques, Estado Zulia, cercanos a 0,160 mg/L, a nivel de finca (10), a su vez muy parecidos a los reportados por Marichales en 1989, para leches de vacas Holstein en el Estado Aragua, de 0,170(0,04 mg/L (20). Sin embargo, los primeros autores (10) encontraron, ya a nivel de leches comerciales (en polvo reconstituída) cifras del orden de 1,300 mg/L, y además, Boscán et al. (18) reportó posteriormente (1980) en leches crudas de mezclas obtenidas en fincas del Sur del Lago de Maracaibo, cifras medias de hierro de 0,96(0,40 mg/L (17). De igual modo, Fasano et al. (1987) informó de valores de 0,39(0,110 mg/L para leches de Aragua (23). Luego, en general las concentraciones de este elemento en la leche de Mérida se encuentran en el mismo orden de magnitud que las del Estado Zulia y Centro del país. Al comparar los datos con los reportados en la literatura internacional para leche normal (24,25,26,27,28) y especialmente con los de Jenness-Patton (1959) de alrededor de 0,300 mg/L de hierro, en leche obtenida directamente de la vaca, y alrededor de 0,600 mg/L en leche comercial (8), se concluye que las cifras encontradas en las leches merideñas se aproximan a estas y no revelan realmente, en términos generales, concentraciones excesivas que pudieran ocasionar enranciamiento en los productos lácteos comerciales. Sin embargo, en cinco muestras

de las zonas altas y tres de las zonas bajas, no incluidas en los datos de la Tabla 1, llegaron a obtenerse valores superiores a 1,000 mg/L, lo cual revela ocasionales contaminaciones con este elemento, posiblemente de utensilios de hierro o hierro estañado.

En lo referente al cobre, los resultados encontrados señalan concentraciones promedio para las zonas altas, bajas y totales de 0,603, 0,570 y 0,589 mg/L respectivamente, bien por encima de los encontrados por Harrar y Boscán en el Estado Zulia, de alrededor de 0,056 mg/L a nivel de finca, 0,092 mg/L a nivel de planta y 0,330 mg/L en leches comerciales en polvo reconstituídas (10); superiores a los reportados por los otros autores nacionales mencionados en la discusión precedente, para otras regiones del país (19,20,21), y también bastante por encima de los valores reportados en la literatura internacional (8) de 0,170 mg/L en leche obtenida directamente de la vaca y 0,200 mg/L en leche comercial. Además, en cuatro muestras no incluidas en los datos de la Tabla 1, se encontraron valores superiores a 2,000 mg/L, considerados excepcionalmente altos. Estas cifras presumiblemente pudieran deberse a contaminación con cobre de utensilios utilizados durante el ordeño y almacenamiento de la leche cruda en las fincas, a veces elaborados a base de láminas de aleaciones de cobre. Llama también la atención observar las elevadas variaciones del contenido de hierro y cobre que alcanzan cifras del CV% de 39,6 y 68,9 respectivamente, en las zonas altas y 34,3 y 32,9 respectivamente, en las bajas, para un promedio global de 39,0 para hierro y 57,7 para cobre. De estos datos podría inferirse que tales variaciones son producto de prácticas muy diversas de ordeño, transporte y conservación, que podrían determinar una contaminación muy variable de acuerdo a los utensilios de ordeño y medios de almacenamiento disponibles. Tal situación, de ser cierta conlleva a la obtención de una leche y productos derivados de ella, susceptibles a la oxidación y con tendencia al enranciamiento oxidativo. Similar situación fue encontrada por Harrar y Boscán en 1978 en leches de producción nacional (11).

**Efecto de la raza:** La Tabla 2 contiene los resultados obtenidos clasificados para un grupo reducido de fincas con ganado Holstein y mestizo de las áreas de El Valle, Jají y La Azulita, correspondientes a las zonas altas. Dentro de esta limitación, se pudo observar que no existen diferencias significativas en ninguno de los elementos minerales estudiados en ambas razas.

**Efecto de la alimentación:** La Tabla 3 presenta resultados limitados sobre la concentración de minerales en rebaños bajo regímenes de estabulación y pastoreo. Tampoco se observaron diferencias significativas para ninguno de los elementos minerales analizados.

**Efecto de la precipitación:** La Tabla 4 contiene los resultados clasificados para los períodos denominados de sequía y lluvia, no muy bien diferenciados en las épocas de este estudio. Únicamente se encontraron diferencias muy significativas ( $p < 0,01$ ) en las concentraciones de potasio de las zonas altas y totales, más no en las bajas. De igual manera, se encontró una diferencia muy significativa ( $p < 0,01$ ) o significativa ( $p < 0,05$ ), en lo que respecta al cobre y al hierro en las zonas altas y totales, siendo los valores mayores en época de sequía.

TABLA 2  
Resultados promedio de los minerales de la leche cruda de las zonas altas del Estado Mérida  
obtenidos en diferentes razas (mg/L)

	Sodio		Potasio		Calcio		Magnesio		Fósforo		Hierro		Cobre		Zinc	
	H <sup>a</sup>	M <sup>b</sup>	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M
<b>El Valle</b>																
X	453,8	407,4	1167,7	1339,1	889,4	972,0	82,3	81,1	607,1	782,8	0,255	0,387	0,742	0,478	6,65	7,73
S	42,78	30,45	282,4	73,93	196,79	42,49	5,09	1,20	57,91	61,27	0,0856	0,0240	0,7668	0,2434	0,778	0,208
<b>Jaji</b>																
X	439,6	492,1	1290,7	1310,8	883,3	976,1	79,1	93,2	753,9	716,9	0,290	0,339	0,760	0,847	7,9	9,3
S	48,9	27,94	165,2	194,5	12,1	109,12	12,12	15,84	96,26	92,30	0,0871	0,1025	0,5140	0,1032	1,37	0,458
<b>La Azulita</b>																
X	419,5	455,8	1226,1	1286,6	907,5	1004,3	83,5	90,2	701,6	742,3	0,452	0,424	0,615	0,696	8,13	7,62
S	38,90	34,93	097,8	136,0	55,45	96,04	7,55	2,62	113,05	83,02	0,2247	0,2227	0,3974	0,6653	1,665	1,357

a Holstein

b Mestizo

TABLA 3  
Resultados promedio de los minerales de la leche cruda de las zonas altas del Estado Mérida en sistemas de alimentación por pastoreo y  
estabulación (mg/L)

	Sodio		Potasio		Calcio		Magnesio		Fósforo		Hierro		Cobre		Zinc	
	E <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P
X	411,4	423,5	1294,7	1279,9	810,4	830,9	87,7	84,4	794,4	690,0	0,315	0,339	0,487	0,625	8,7	7,64
S	68,45	53,43	85,5654,04	—	64,6	16,26	16,76	98,50	74,08	0,1711	0,1475	—	0,4564	2,69	2,05	

a Estabulación

b Pastoreo

TABLA 4  
Resultados promedio de los minerales de la leche cruda del Estado Mérida en diferentes épocas del año (sequía vs. lluvia) (mg/L)

	Sodio		Potasio		Calcio		Magnesio		Fósforo		Hierro		Cobre		Zinc	
	S	LL	S	LL	S	LL	S	LL	S	LL	S	LL	S	LL	S	LL
<b>Zonas Altas</b>																
X	443,6	443,4	1134,5 <sup>a</sup>	1332,2	875,8	898,2	87,7	82,6	671,0 <sup>b</sup>	733,3	0,418 <sup>b</sup>	0,330	1,056 <sup>a</sup>	0,398	7,73	7,45
S	46,91	63,7	108,65	73,25	86,87	100,7	12,54	12,0	73,15	103,82	0,1546	0,1270	31,3	64,5	2,027	1,526
<b>Zonas Bajas</b>																
X	697,1	665,5	1382,2	1429,2	1051,6	1039,6	81,7	80,6	789,7	766,0	0,487	0,429	0,615	0,530	8,69	8,60
S	110,8	112,21	94,46	112,23	65,66	99,33	2,98	5,43	85,73	78,80	0,1599	0,1480	0,1921	0,1771	1,696	1,261
<b>Global</b>																
X	573,1 <sup>b</sup>	516,7	1268,7 <sup>a</sup>	1364,5	967,7	943,5	84,7	81,8	732,8	743,3	0,453 <sup>a</sup>	0,365	0,772 <sup>a</sup>	0,444	8,21	7,83
S	153,6	134,2	160,6	98,8	116,7	119,7	9,42	10,2	99,2	97,5	0,1594	0,1405	0,3684	0,2397	1,912	1,537

a Diferencia muy significativa (p&lt;0.01)

b Diferencia significativa (p&lt;0.05)

## CONCLUSIONES

El contenido total de componentes minerales de la leche cruda producida en las zonas altas, bajas y global del Estado Mérida, expresado en términos de su concentración de cenizas totales, se encuentra dentro de las normas establecidas por la COVENIN. Estas concentraciones, aunque normales, se aprecian cerca del límite inferior de la norma y concuerdan con los resultados reportados para otras regiones del país, como el Estado Zulia y el Centro.

Las concentraciones de los elementos minerales estudiados y las relaciones calcio/fósforo establecidas, en general, se encuentran dentro de las cifras reportadas en la literatura internacional y nacional. Se estableció que las concentraciones de los elementos sodio, potasio, calcio, fósforo, hierro y zinc son mayores en las zonas bajas que en las altas (p<0,01), lo cual se atribuye al conjunto de condicio-

nes que se dan en los distintos sistemas de producción empleados.

Se establecieron las menores variaciones en los macroelementos (potasio, calcio, magnesio, fósforo y sodio) y las mayores variaciones en los microelementos (zinc, hierro y cobre), en el orden citado.

Para el hierro y cobre, las variaciones se encontraron muy elevadas y ocasionalmente excesivas, lo cual hace presumir la posible contaminación con utensilios en las operaciones de ordeño, transporte y conservación de la leche cruda. Tal situación de ser cierta, conllevaría a la obtención de una leche y productos derivados de ella, susceptibles a la oxidación, y por lo tanto con tendencia al enranciamiento oxidativo. Ante ello, se recomienda la adecuada normalización de esas operaciones, exigiendo el empleo de utensilios fabricados de aluminio, acero inoxidable y otros metales no catalizadores y de absoluta inocuidad.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en

las concentraciones de los elementos minerales entre las razas contrastadas (rebaños mestizos vs. Holstein), ni entre los sistemas de alimentación comparados (estabulación vs. pastoreo). Únicamente se apreciaron diferencias estadísticamente significativas para las épocas del año (seca vs. lluviosa) en las concentraciones de potasio, hierro y cobre, mayores en épocas de sequía, al contrario del fósforo, menor en esa época.

### AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico, Departamento de Tecnología de Alimentos y Laboratorio de Suelos de la Universidad de Los Andes; al Programa de Ganadería de Altura, Mérida, a la Asociación de Ganaderos del Distrito Alberto Adriani e Industria Láctea (INDULAC), el Vigía, y a todas las personas que colaboraron en su desarrollo.

### REFERENCIAS

- Alais, C. «Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera» Ed. Continental, S.A. México. 1980.
- Campbell, J.R. Y Marshall, R.T. «The Science of Providing Milk for Man» McGraw-Hill Book Co. New York. USA. 1975.
- Oser, B.L. «Hawk's Physiological Chemistry» Mc Graw-Hill Book Co. New York. 1965.
- Reinhold, J.G. Problems in Mineral Nutrition: A Global Perspective, in «Trace Minerals in Foods» Marcel Dekker, Inc. New York. 1988.
- Bracho, G.E., Hernandez, M. y Escoda, A. Mineral content of Venezuelan dried milks used in infant feeding. Instituto de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Zulia, Maracaibo. Venezuela. 1976.
- Chambers, T.L. y Steel, A.E. Concentrated milk feeds and their relations to hypernatremic dehydration in infants. Archives of Disease in Childhood, 50:610-618, 1975.
- Stern, G.M., Jones, R.B. y Fraser, A.C.L. Hyperosmolar dehydration in infancy due to faulty feeding. Archives of Disease in Childhood. 47:468-476. 1972.
- Jenness, R. y Patton, S. «Principles of Dairy Chemistry» J. Wiley & Sons. New York. 1959.
- Pien, J. Requisitos de la leche cruda destinada a la esterilización, en «La esterilización de la leche» Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Pub. FAO, No. 65. Roma. 1965.
- Harrar De Dienes, A. y Boscán, L.A. Causas de enranciamiento oxidativo en leches de producción nacional. Memorias de la XXXVIII Convención Anual de la ASOVAC. Acta Científica Venezolana. 29:153, 1978a.
- Harrar De Dienes, A. y Boscán, L.A. Susceptibilidad a la autoxidación en leches de producción nacional. Memorias de la XXVIII Convención Anual de la ASOVAC. Acta Científica Venezolana. 29:152, 1978b.
- Sánchez, M.D. Características físico químicas de la leche cruda producida en las zonas altas del Estado Mérida. Trabajo de ascenso. Facultad de Farmacia. Universidad de Los Andes. Mérida. 1988.
- Association of Official Analytical Chemists. «Methods of Analysis». AOAC. Arlington, USA. 1990.
- Boscán, L.A. «Manual de prácticas de laboratorio de industrias lácteas» Universidad Simón Bolívar. Caracas. Venezuela. 1986.
- Sánchez, M.D. Características físico-químicas de la leche cruda producida en las zonas bajas del Estado Mérida. Facultad de Farmacia. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela. 1991.
- COVENIN 903. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche Cruda: Requisitos. Norma Venezolana. Caracas. 1987.
- Boscán L.A., Fariá J., Vázquez L.A. y Chourio L.A. Contribución al estudio físico-químico de la leche cruda del Sur del Lago de Maracaibo. Memorias de la XXVIII Convención Anual de la ASOVAC. Acta Científica Venezolana, 29:154. 1978.
- Boscán L.A., Fariá J. y Marichales A. Algunos parámetros para el control de adulteraciones con sustancias minerales de la leche en Venezuela. Memorias de la XXX Convención Anual de la ASOVAC. Acta Científica Venezolana, 31:235, 1980.
- Fasano L.C. Concentración de macro y microelementos, proteínas totales y seroproteínas en la leche de bovinos, ovinos y caprinos. Trabajo de ascenso. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1987.
- Marichales, A. Estudio del contenido de cenizas y algunos elementos minerales en leches de un rebaño de vacas Holstein durante los veinte primeros días de lactancia. Tesis. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1989.
- Ortega, G.J. Composición química y valor nutritivo de la leche materna y de leches dietéticas elaboradas en Venezuela. Trabajo de ascenso. Universidad del Zulia. Maracaibo. 1972.
- Webb B.H., Johnson A.H. y Alford J.A. «Fundamentals of Dairy Chemistry» AVI Pub. Co. Westport, Connecticut. USA. 1974.
- Fasano M., Otaiza V. y La Roca P. Determinación de elementos traza en leche de bovinos en diferentes etapas de lactación. Memorias de la XXXVII Convención Anual de la ASOVAC. Acta Científica Venezolana, 38:260, 1987.
- Juárez, M. y Martínez-Castro, I. Determinación de sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc y manganeso en leches del mercado por espectrofotometría de absorción atómica. Rev. Agr. Tecn. AL. 19(1):45-54, 1979.
- Kani T., Tomonari N., Jinnai N. y Iwaya T.M. Phosphorus, calcium, sodium, potassium, and total ash contents of raw milk in Japan. J. Food Hygienic Society of Japan, 12:116-117, 1971.
- Mayilliet L., Luquet F.M. y Casalis J. Contribution a letude des variations de la teneur en sels minéraux du lait de rache daces differents regions francaises. Lait 55:683-694, 1975.
- Murthy G.K., Rhea V.S. y Peeler, J.T. Copper, iron, manganese, strontium and zinc content in market milk. J. Dairy Sc. 55:1666-1677, 1972.
- Otero J.A. y Pérez M.C. Estudio químico-físico de las características de la leche producida en Cantabria. Anales de Bromatología 35(2):209-217, 1984.

Recibido: 01-03-1996

Acceptdo: 27-05-1997

## Composición de ácidos grasos saturados e insaturados en alimentos de consumo frecuente en Argentina<sup>1</sup>

Alicia Navarro<sup>2</sup>, Sonia E. Muñoz<sup>3</sup>, María J. Lantieri<sup>4</sup>, Eugenia A. Fabro<sup>5</sup> y Aldo R. Eynard<sup>6</sup>

Escuela de Nutrición, Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba/CONICET.  
Córdoba, Argentina

**RESUMEN.** Se presenta la composición de lípidos totales y de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, ordenados según sus familias, de diversos alimentos de consumo frecuente en Argentina. Ellos son: carne bovina magra y grasa, ossobucco con y sin «caracú», pollo y gallina con y sin piel, pescado magro y graso, morcilla, salami, salchichón, paleta, queso de cerdo, galletitas dulces, integrales y saladas, pan con grasa o casero, torta frita, tortas, facturas, alfajor, helados, golosina de maní, dulce de leche, aceites mezcla, grasa bovina, salchicha de viena hervida, mortadela y salame tipo «caloría». Un glosario describe los alimentos facilitando su identificación, composición y elaboración, lo que posibilita el empleo de las tablas de composición de ácidos grasos en otros países iberoamericanos.

**SUMMARY.** Composition of saturated and unsaturated fatty acids of foods frequently consumed in Argentina. The composition of food lipid, including total lipids, saturated, monosaturated, and polyunsaturated fatty acids was analysed in this study. Foods, which were frequently consumed in Argentina and included in this study were: lean and fatty red meats, «ossobucco» with or without bone marrow, lean and skinned chicken meager and fatty fish, several sausages (salami and blood sausage), several crackers, hand-made fatty bread, fried and baked biscuits, ice cream, milk-marmelade, edible oils and bovine tallow. The content of fatty acids grouped according to their families in the food and description of the formulation of each food are given in the current paper. The glossary will help to identify the preparation of foods and will be beneficial for the people in other countries of Latinoamérica.

### INTRODUCCION

Durante el desarrollo de un trabajo de investigación de epidemiología nutricional oncológica orientado a establecer el riesgo entre hábitos alimentarios y cáncer colo-rectal en Córdoba(1), ciudad mediterránea de Argentina de 1.100.000 habitantes, nos encontramos con dificultades para disponer de datos sobre la composición de ácidos grasos (AG) de alimentos de consumo frecuente, propios de la cultura alimentaria de raíces hispano-italica-criolla de este país.

El estudio de los lípidos de la dieta de una cultura es muy importante, pues los mismos desempeñan un papel relevante en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, hipertensión, obesidad, del sistema inmune y progresivamente se les involucra cada vez más como importantes moduladores del desarrollo de diversos tipos de tumores (2,3,4).

Los recientes acuerdos sobre comercio internacional de alimentos (Mecosur, GATT y otros emergentes de estos marcos regulatorios) tienen creciente repercusión económica en varios países latinoamericanos y será necesario disponer de datos precisos sobre la composición de alimentos producidos, consumidos y comercializados entre ellos. En efecto, debido a que la industria debe incorporar o mejorar el etiquetado nutricional a consecuencia de nuevas legislaciones en la materia, se está generando una progresiva demanda de información sobre composición de alimentos procesados y frescos.

Los ácidos grasos (AG) pueden ser saturados, monoinsaturados o con dos o más insaturaciones (poliinsaturados). En el caso de estos últimos, la letra n o la  $\omega$  (omega), señala la ubicación de la primer doble ligadura a partir del carboxilo terminal, ya que esa parte de la molécula no se modifica durante los ulteriores procesos de elongación y desaturación. Ello da origen a 4 familias de AG insaturados, cuyas moléculas progenitoras son los ácidos palmítico (16:1 n7), oleico (18:1 n9), linoleico (18:2 n6) y alfa-linolénico (18:3 n3), siendo los últimos dos ácidos grasos esenciales (AGE) pues no se pueden sintetizar en el organismo (5,6).

El presente trabajo tiene por objetivo determinar el contenido de AG, saturados monoinsaturados y poliinsaturados, de algunos alimentos y productos alimenticios, cuyos resultados podrían ser de interés para profesionales de la nutrición de Argentina y de Latinoamérica, en general.

### MATERIAL Y METODO

**Fuentes alimentarias de lípidos:** Se consideraron tres grupos de alimentos y preparaciones, domésticas e industriales, que son descriptivas en el glosario. Con excepción de las preparaciones con recetas típicas, se seleccionaron las de consumo habitual entre la población

1. Este trabajo se realizó con el apoyo económico brindado por subsidios de SECyT-UNC, CONICOR y CONICET. Se agradece especialmente la excelente labor técnica llevada a cabo por la Sra. Nélica Ramonda.
2. Lic. en Nutrición. Profesora Titular. Escuela de Nutrición. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
3. Doctora en Ciencias Biológicas. Docente de dedicación exclusiva. Becaria del CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.
4. Bióloga. Docente part-time. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.
5. Lic. en Nutrición. Ayudante de Investigación. Escuela de Nutrición. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.
6. Doctor en Medicina. Profesor Titular. Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

adulto de nuestro país y corresponden a marcas comerciales de mayor venta en los supermercados de Córdoba.

**a. Aceites vegetales, grasa vacuna y fiambres:** Se procesaron muestras de aceite mezcla de 2 marcas comerciales diferentes, a las que denominaremos tipo I (mayor costo) y II (menor costo), grasa bovina de primera calidad, salchicha de viena hervida, mortadela y salame tipo «colonia». Para prevenir el enranciamiento, las muestras se conservaron en envases oscuros y cerrados, a 4 °C.

**b. Preparaciones domésticas con recetas típicas:** Se determinó la composición de los siguientes productos alimenticios, preparados con recetas típicas: pan con grasa (o «casero») y tortas fritas. Para seleccionarlos y determinar los ingredientes y procedimientos de preparación se consideró la información recogida en un estudio piloto (1), que se complementó con entrevistas a pequeños productores y selección de recetas populares en nuestro medio (7). Los valores se expresaron para 100 g del producto terminado y listo para el consumo.

**c. Otros productos alimenticios:** En estos casos, el cálculo de los AG se efectuó a partir de la proporción de cada ingrediente o componente declarada en la composición de los productos y consignada en las respectivas etiquetas. Los valores se expresaron por cada 100 g de producto neto.

El contenido de ácidos grasos se determinó de dos modos: 1. analíticamente a través de cromatografía de gas (8,9), en el caso de los alimentos del grupo a. 2. los del grupo b y c, por evaluación teórica a partir de la composición de cada ingrediente del producto industrial o doméstico, según tablas de composición de alimentos argentinos (10), latinoamericanos (11), italianos (12) y otros (13).

Los procedimientos para el cálculo de las recetas típicas y los otros productos alimenticios se realizaron según el método de Beecher y Matthews (14).

**Cromatografía de gas de ácidos grasos:** Los lípidos se extrajeron por el método de Folch (15) determinándose luego el total de lípidos. La hidrólisis de los mismos se efectuó con CIH 2N y los ésteres metílicos de los AG se obtuvieron con trifluor de boro y metanol (4). Para los análisis cromatográficos se empleó una columna de vidrio rellena con etilenglicol-succinato, a 180 °C en un CGL Hewlett Packard 5840A. Los tiempos de retención de los AG en estudio se compararon con los de una mezcla estándar de AG de composición conocida (Sigma Chemical Co). Se realizó el análisis de al menos 2 muestras de cada alimento (16,17). Todos los valores se expresaron para 100 g de alimento (peso neto).

## RESULTADOS

La composición de lípidos totales y el perfil de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de los alimentos más comunes se muestran en la Tabla 1, los alimentos procesados cuya composición fue obtenida por evaluación teórica se muestran en la Tabla 2 y los alimentos procesados pero analizados por cromatografía de gas en la Tabla 3.

## CONCLUSIONES

En el presente estudio se ha determinado la composición de lípidos totales, así como el perfil de ácidos en ciertos alimentos de consumo frecuente de la Argentina, proporcionando datos precisos sobre la composición de estos nutrientes consumidos en este país.

Entre las limitaciones de este trabajo se debe tener en cuenta que los valores que se brindan son promedios, ya que la composición de los alimentos es variable, especialmente debido a la mortalidad de cocción. En el caso de los vegetales se agregan factores como variedades y cosecha mientras que en los derivados cárneos son importantes la raza y alimentación de los animales. A pesar de dichas limitaciones, los resultados son de interés pues pueden suplantar, al menos en parte, el empleo de tablas de composición de ácidos grasos provenientes de Norteamérica o de Europa que inducen a frecuentes errores. En efecto, los alimentos pueden tener nominación y nombres parecidos pero sus ingredientes pueden ser tan diferentes que invalidan los datos obtenidos. Por ello hemos apelado al empleo de sinónimos y de un glosario para identificar ciertos alimentos o preparaciones de consumo frecuente, lo que permitirá su catalogación por otros nutricionistas, colaborando en la comprensión de la realidad latinoamericana, en lo que respecta a ingesta de lípidos.

## GLOSARIO (7,18)

- **Aceite comestible mezcla:** es el producto obtenido de la mezcla de dos o más aceites extraídos de diferentes especies vegetales.
- **Aceite mezcla tipo I:** constituido por 85 % de aceite de girasol (*Helianthus annuus*) y 15 % de aceite de maní (*Arachis hypogea*).
- **Aceite mezcla tipo II:** constituido por 94 % de aceite de girasol y 6 % de aceite de maíz (*Zea mays*).
- **Alfajor:** producto de repostería elaborado con leche, azúcar, harina de trigo, aceite vegetal, almidón de maíz, jarabe de glucosa, leudante y sal. La masa se corta en forma circular y se unen, de a dos, con mermeladas de diferentes sabores. Existe gran variedad de tipos regionales.
- **Dulce de leche:** producto obtenido por concentración, mediante el calor, de leche con agregado de azúcar blanco.
- **Golosina de maní:** elaborada en base a pasta de maní, azúcar, jarabe de glucosa, aceite vegetal hidrogenado, grana de maní, clara de huevo y vainillina.
- **Morcilla:** embutido cocido elaborado sobre la base de sangre de los animales de consumo permitido, recogido durante el degüello, defibrinada y filtrada, con el agregado de tocino, cuero de cerdo picado, sal y especies.
- **Mortadela:** embutido elaborado sobre la base de carne de cerdo y vacuno, con el agregado o no de tocino, azúcar, productos amiláceos, leche en polvo, salitre y especies. Se embute en bolsitas de plástico, tripas secas cocidas, etc.
- **Ossobucco:** corte de carne vacuna obtenido por sección transversal, en rodajas de 3 a 4 cm de ancho, del garrón del animal (desde la rodilla al tobillo). Puede prepararse con la médula ósea (regionalmente denominada «caracú») o sin ella. En Argentina se utiliza principalmente para elaborar puchero, preparación doméstica a base de carne vacuna y verduras hervidas.
- **Paleta:** salazón preparada con el miembro anterior del cerdo, con sus músculos propios y parte de los que lo unen al tronco hasta la articulación del carpo.
- **Pan con grasa o casero:** preparación horneada que incluye harina de trigo 000, levadura de cerveza prensada, grasa, sal y agua.
- **Queso de cerdo:** chacinado no embutido elaborado con la cabeza de cerdo, quijadas y lenguas de vacuno, sal, salitre, pimienta, clavo de olor, ají molido, ajo, vino blanco y harina. La mezcla se envuelve en epiplón, se lleva a moldes y se somete a cocción. Se consume en forma gelificada.

TABLA I  
Composición de lípidos y de los principales ácidos grasos de alimentos más comunmente consumidos en la Argentina <sup>a</sup>  
(expresado en g/100g)<sup>b</sup>

ALIMENTOS	LÍPIDOS TOTALES	SATURADOS								MONOINSATURADOS				POLIINSATURADOS					
		10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	22:0	TOTAL	16:1n7	18:1n9	20:1n9	TOTAL	18:2n6	18:3n3	20:4n6	20:5n3	22:6n3	TOTAL
Carne magra	15,40	-	-	0,48	4,07	1,97	-	-	6,52	0,95	6,36	-	7,54	0,30	0,20	0,15	-	-	0,65
Carne grasa	37,40	-	-	1,16	9,88	4,78	-	-	15,82	2,31	15,44	-	18,31	0,73	0,48	0,36	-	-	1,57
Ossobucco con caracu	41,40	-	-	1,29	10,9	5,29	-	-	17,48	2,55	17,10	-	20,27	0,80	0,54	0,40	-	-	1,74
Ossobucco sin caracu	37,40	-	-	1,16	9,88	4,78	-	-	15,82	2,31	15,44	-	18,31	0,73	0,48	0,36	-	-	1,57
Pollo con piel	17,7	-	-	0,22	4,47	1,19	-	-	5,88	1,20	6,66	0,10	7,96	2,26	0,12	-	-	0,17	2,55
Pollo sin piel	4,30	-	-	0,05	1,08	0,29	-	-	1,42	0,29	1,62	0,02	1,93	0,55	0,03	-	-	0,04	0,62
Gallina con piel	18,70	-	-	0,23	4,72	1,26	-	-	6,21	1,27	7,04	0,10	8,41	2,39	0,13	-	-	0,18	2,70
Gallina sin piel	12,30	-	-	0,15	3,11	0,83	-	-	4,09	0,83	4,26	0,07	5,16	1,57	0,08	-	-	0,12	1,77
Pescado magro	0,80	-	-	-	0,11	0,02	-	-	0,13	0,11	0,05	-	0,16	-	-	0,02	0,08	0,18	0,28
Pescado graso	10,70	-	-	0,50	1,76	0,35	-	-	2,61	0,59	1,84	0,71	4,13	0,16	0,15	0,16	0,73	1,26	2,46

a. Valores obtenidos por evaluación teórica a partir de datos de tablas de composición preexistentes

b. Peso neto crudo

**TABLA 2**  
Composición de lípidos y de los principales ácidos grasos de alimentos procesados más comúnmente consumidos en la Argentina<sup>a</sup>  
(expresado en g/100g)<sup>b</sup>

ALIMENTOS	LÍPIDOS TOTALES	SATURADOS								MONOINSATURADOS				POLIINSATURADOS					
		10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	22:0	TOTAL	16:1n7	18:1n9	20:1n9	TOTAL	18:2n6	18:3n3	20:4n6	20:5n3	22:6n3	TOTAL
Morcilla	8,66	0,02	-	0,10	2,00	1,12	0,01	-	3,25	0,15	3,04	0,15	3,34	1,85	0,22	-	-	-	2,07
Salamin	36,80	0,08	0,02	0,43	8,13	4,56	0,05	-	13,27	0,59	12,33	0,63	13,55	3,72	0,90	-	-	-	4,62
Salchichón	8,00	0,02	0,04	0,10	1,87	1,05	1,01	-	4,09	0,13	2,82	0,14	3,09	1,73	0,21	-	-	-	1,94
Paleta	12,20	0,03	0,01	0,08	2,71	1,37	-	-	4,20	0,16	4,14	0,22	4,52	3,18	0,36	-	-	-	3,54
Queso de cerdo	15,70	0,04	0,01	0,10	3,50	1,76	-	-	5,41	0,20	5,33	0,35	5,88	4,10	0,47	-	-	-	4,57
Galletitas dulces	7,90	-	0,07	0,08	1,81	0,52	-	-	2,48	0,05	3,01	0,11	3,45	1,56	0,09	-	-	-	1,65
Galletitas integrales	12,20	-	0,11	0,12	2,82	0,80	-	-	3,85	0,08	4,65	0,17	5,33	2,41	0,15	-	-	-	2,56
Galletitas saladas	11,50	-	0,10	0,11	2,64	0,76	-	-	3,61	0,08	4,39	0,16	5,03	2,28	0,14	-	-	-	2,42
Pan con grasa <sup>c</sup>	4,80	-	-	0,15	1,10	0,83	-	-	2,08	0,13	1,61	-	1,78	0,14	0,04	-	-	-	0,18
Torta frita <sup>c</sup>	14,12	0,03	-	0,08	3,03	1,50	-	-	4,64	0,19	4,41	0,29	4,89	3,39	0,38	-	-	-	3,77
Tortas	15,10	-	0,14	0,15	3,47	0,99	-	-	4,75	0,11	5,76	0,22	6,62	2,29	0,18	-	-	-	2,47
Facturas	6,90	-	0,06	0,07	1,59	0,45	-	-	2,17	0,05	2,63	0,10	3,02	1,36	0,08	-	-	-	1,44
Alfajor	6,00	-	0,05	0,06	1,38	0,39	-	-	1,88	0,04	2,29	0,09	2,63	1,19	0,07	-	-	-	1,26
Helados	11,10	1,03	0,31	1,10	2,76	1,24	-	-	6,44	2,72	0,25	-	3,12	0,21	0,15	-	-	-	0,36
Golosina de mani	28,00	-	0,03	0,07	2,77	0,71	0,64	0,64	4,86	-	14,36	-	14,36	7,80	-	-	-	-	7,80
Dulce de leche	9,00	0,84	0,29	0,98	2,43	1,03	-	-	5,57	0,26	2,46	-	2,90	0,18	0,13	-	-	-	0,31

a. Valores obtenidos por evaluación teórica a partir de sus ingredientes según tablas de composición preexistentes

b. Peso neto del producto terminado y listo para el consumo

c. Elaboración doméstica con recetas típicas.

TABLA 3  
Composición de lípidos y de los principales ácidos grasos de alimentos procesados más comunmente consumidos en la Argentina <sup>a</sup>  
(expresado en g/100g)<sup>b</sup>

ALIMENTOS	LIPIDOS TOTALES	SATURADOS									MONOINSATURADOS			POLIINSATURADOS					
		10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	20:0	22:0	24:0	TOTAL	16:1n7	18:1n9	20:1n9	TOTAL	18:2n6	18:3n3	20:2n6	20:5n3	TOTAL
Aceite tipo I	100,00	-	-	-	6,70	4,33	-	-	-	11,03	-	19,54	-	19,54	57,16	1,98	-	-	59,14
Aceite tipo II	100,00	1,24	0,52	0,24	6,16	3,25	0,60	0,17	0,33	12,51	-	18,65	0,29	18,94	56,48	2,21	-	-	58,70
Grasa bovina	100,00	-	-	3,28	24,40	18,29	0,60	-	-	46,57	2,93	36,45	-	39,38	3,13	0,93	-	-	4,06
Salchicha de viena <sup>c</sup>	15,50	-	-	0,80	2,46	0,43	-	-	-	-	1,66	4,00	-	5,66	4,32	0,04	-	-	4,55
Mortadela	19,92	-	-	0,68	3,05	1,85	-	-	-	5,58	0,66	8,76	-	9,42	2,60	-	0,12	-	2,72
Salame tipo "colonia"	27,54	-	-	0,51	4,44	2,56	-	-	-	7,51	0,77	11,33	-	12,10	5,58	0,13	-	0,03	5,74

a. Valores obtenidos por cromatografía de gas. Son promedio del resultado del análisis de al menos dos muestras por alimento

b. Peso neto del producto terminado y listo para el consumo

c. Hervida

- **Salame tipo «colonia»:** variedad de salami con sus componentes picados grueso, a la modalidad italiana.
  - **Salami:** embutido seco elaborado sobre la base de carne de cerdo o de carne de cerdo y vacuno, tocino, sal, salitre.
  - **Salchicha de viena:** embutido cocido elaborado sobre la base de carne de cerdo o carne de cerdo y vacuno, con el agregado de tocino, sal y especias.
  - **Salchichón:** embutido cocido elaborado en forma similar a la mortadela y embutido en intestino grueso.
  - **Tocino:** salazón preparada con trozos de tejido adiposo de las regiones dorso lumbares y papada del cerdo, sometido a la acción de la sal en seco.
  - **Tortas:** preparación horneada, elaborada en base a harina, manteca, azúcar, leche, huevos y polvo de hornear.
  - **Tortas fritas:** preparación a base de harina de trigo, grasa de cerdo, huevo y agua. Esta masa se corta de forma rectangular o cuadrada, con un espesor de 1 cm y 8-10 cm de lado, y se cuece por fritura en grasa de cerdo.
8. Southgate DAT. Guidelines for the preparation of tables of food composition, Karger Basel, p.57. 1974.
  9. West C.E. & Van Staveren W.A. Food consumption, nutrient intake, and the use of food composition tables. En: Design Concepts in Nutritional Epidemiology. Oxford University Press, p. 101-119. 1991.
  10. Mazzei M.E. & Puchulu M.R. Tabla de composición química de alimentos. CENEXA, Bs. As. 1993.
  11. Woot-Tsuen Wu L. & Flores M. Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina. INCAP-ICNND. Ed. Interamericana S.A., 1970.
  12. Carnovale E. & Miuccio F. Tabelle di composizione degli alimenti. Istituto Nazionale della Nutrizione, Roma. 1989.
  13. Gunstone F.D., Hardwood T.L. & Padley F.B. The Lipid Handbook. Chapman and Hall. London - New York. 1986.
  14. Beecher G.R. & Matthews R.H. Composición de nutrientes de los alimentos. En: Conocimientos actuales sobre nutrición. OPS/ILSI. Pub. Cient. N° 532. p.499-510. Washington DC. 1991.
  15. Folch J., Lees M. & Stanley S.G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 226:497-508. 1957.
  16. Muñoz S.S.E., Silva R.A., Lamarque A., Guzmán C.A. & Eynard A.R. Protective capability of dietary *Zizyphus mistol* seed oil, rich in 18:3 n3, on the development of two murine mammary gland adenocarcinomas with high or low metastatic potentials. *Prost Leuk Essent Fatty Acids* 53:135-138. 1995.
  17. Silva R.A., Muñoz S.E., Guzmán C.A. & Eynard A.R. Effects to dietary n3, n6 and n9 PUFA's on benz-(1)-pyren-induced forestomach tumorigenesis in C57BL6J mice. *Prost Leuk Essent Fatty Acids* 53:273-277. 1995.
  18. Código Alimentario Argentino. Bs.As. Ed. De La Canal y Asociados. Tomo I. 1989.

### REFERENCIAS

1. Navarro A., Muñoz S.E. & Eynard A.R. Diet, feeding habits and risk of colorectal cancer in Córdoba, Argentina. *J Exp Clin Cancer Res.* 14:287-289. 1995.
2. Turpeinen O., Karvonen M.J., Pekkarinen M. & al. Dietary prevention of coronary heart disease: The Finnish Mental Hospital Study. *Int J Epidemiol.* 8:99-117. 1979.
3. Eynard A.R. Does chronic essential fatty acid deficiency (EFAD) constitute a protumorigenic condition? *Med Hypothesis*, en prensa, 1996.
4. Eynard A.R. Role of dietary polyunsaturated fatty acids (PUFA) on tumorigenesis. *Cancer J.* 9:142-144. 1996.
5. Burr G.O. & Burr M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem* 82:345-367. 1929.
6. Aaes-Jorgensen E. Essential fatty acids. *Physiol Rev* 41:1-51. 1961.
7. Garimaldi V. Los alimentos y su manejo. p. 361 y 376. Ed. Macchi. Bs. As. 1968.

Recibido: 10-01-1997

Aceptado: 12-03-1997

## Colesterol em carnes bovinas, suínas, frangos e derivados de carnes comercializados em Maringá, Paraná, Brasil

André Rowe<sup>1</sup>, Solange Aparecida Bertoni<sup>1</sup>, Paulo Luiz Pereira, Makoto Matsushita<sup>2</sup> & Nilson Evelázio de Souza<sup>3</sup>

Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil

**RESUMO.** Um método rápido para determinação de colesterol desenvolvido por Al-Hasani et al. foi aplicado em amostras de carnes bovina, suína, frango e derivados de carne. Análises de colesterol foram realizadas por cromatografia gasosa utilizando coluna capilar. Os resultados obtidos mostram que a carne de frango apresentou maiores concentrações (126,96 a 188,29 mg/100g) de colesterol em comparação a carnes bovina, suína e derivados de carne, exceto para o fígado bovino que apresentou 265,03 mg/100g. Valores do colesterol para carnes bovina e suína foram consideradas baixos devido a ausência de gordura superficial nas amostras de carnes.

**SUMMARY.** Cholesterol in beef, pork, chicken and their products commercialized in Maringá, Paraná, Brazil. A rapid method developed by Al-Hasani et al. with modifications for cholesterol determination was applied in samples of beef, pork, chicken and meat products. Analyses of cholesterol were performed by capillary gas chromatography. The obtained results showed that chicken presented higher concentration (126,96 to 188,29 mg/100g) of cholesterol in comparison to beef and pork and similar to meat products, except bovine liver that presented 265,03 mg/100g. Cholesterol values of beef and pork samples were considered low due to the absence of superficial fat in meat samples.

### INTRODUÇÃO

Colesterol (C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O) é um dos mais importantes esteróis encontrados nos tecidos animais, insolúvel em água, mas facilmente extraído de tecidos com clorofórmico, éter etílico, éter de petróleo, benzeno ou álcool etílico à quente. E praticamente inexistente nos vegetais, ocorrendo apenas raramente em plantas superiores, as quais contêm outros tipos de esteróis conhecidos como fitosteróis (1,2).

Diversas são as origens do colesterol no organismo humano. Esta substância pode se tornar perigosa e letal se houver um desequilíbrio dentro do organismo, o que pode ser provocado não somente por fatores de risco como também por problemas genéticos, tais como, defeitos dos receptores LDL (lipoproteínas de baixa densidade), falta ou excesso de certas enzimas que regulam o metabolismo (2,3).

É conveniente ressaltar a necessidade e importância de colesterol e triacil-gliceróis para o organismo humano. O colesterol não pode ser totalmente banido da alimentação, porque em níveis médios, é um produto necessário ao organismo (1).

Os lipídios são responsáveis pelo armazenamento de 95% de nossa energia e o colesterol é essencial para a produção de ácidos biliares, que auxiliarão na digestão destes lipídios, bem como é o precursor dos hormônios sexuais e vitamina D, além de ser um dos principais formadores das membranas do corpo (2,4).

O colesterol pode estar presente na forma livre ou esterificado com ácidos graxos, podendo formar complexos com lipoproteínas e fosfolipídios. O colesterol é citado como um dos fatores associados à ocorrência de aterosclerose, portanto alimentos como carnes, ovos e leite podem aumentar o nível de colesterol no sangue, entretanto outros componentes da dieta também podem resultar efeitos

semelhantes como por exemplo gorduras e açúcares. Pesquisadores têm verificado maior correlação entre doenças coronarianas, em função da existência de triglicerídios no sangue do que da presença de colesterol. Altos níveis de triglicerídios são resultados do consumo de óleos saturados e açúcares (5).

O conteúdo de colesterol na dieta afeta diferentemente o nível de colesterol sanguíneo em diferentes espécies. Assim, em coelhos e pintainhos, o nível de colesterol sanguíneo sobe rapidamente como o aumento da concentração na dieta, o que não se observa em outras espécies como rato e cão. Da mesma forma, no homem, dietas com pequenas variações no conteúdo de colesterol parecem não afetar significativamente o nível de colesterol no sangue (6).

Concentrações mais altas de colesterol são encontradas em tecidos do sistema nervoso, fígado e em gorduras depositadas (7). Em excesso, passa a se acumular nas paredes das artérias. É transportado na corrente sanguínea por substâncias denominadas lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL). A primeira está associada com o desenvolvimento da aterosclerose e a segunda retira a gordura de circulação e auxilia o organismo na sua eliminação (8,9,10).

Se o colesterol no sangue for maior que 200 mg/dL e um indivíduo apresentar dois ou mais dos seguintes fatores como, história familiar em enfermidades coronarianas, fumantes, diabetes, obesos, hipertensos, baixo nível de HDL e for do sexo masculino, o National Cholesterol Education Program - Dietary Advice, recomenda um teor de colesterol no sangue humano menor que 200 mg/dL e o LDL menor que 130 mg/dL. Se o LDL for maior que 130 mg/dL, deve-se reduzir a ingestão de gordura saturada para 10% das quilocalorias total e a gordura total para 30% das quilocalorias total e colesterol para 300 mg/dia. Se não obtiver sucesso (LDL menor que 130 mg/dL), aconselha-se reduzir a ingestão de gordura saturada para 7% do total de quilocalorias e de colesterol para 200 mg/dia durante 6 meses (10). Daí a importância de se ter conhecimento dos teores de colesterol em alimentos.

1. Bolsista CAPES. Acadêmico de Mestrado em Química
2. Professor Adjunto TIDE Nível 4. Doutor em Ciências Ambientais
3. Professor Titular TIDE Nível 2. Mestre em Ciência de Alimentos. Doutor em Química Analítica.

Preocupações recente com o papel do colesterol têm exigido a necessidade de metodologia rápida, exata e precisa para determinação de colesterol em alimentos, a partir de resíduo insaponificável (10,11) sendo aceita a cromatografia gasosa como um método ideal para este tipo de determinação (10,12,13).

O objetivo deste trabalho foi determinar o teor de colesterol em amostras de carnes bovinas, carnes suínas, derivados de carnes e frangos assados, utilizando-se a técnica de cromatografia gasosa com coluna capilar.

## MATERIAIS E METODOS

**Amostragem:** Forma efetuadas cinco amostragens, aleatoriamente, durante o período de julho/1994 a dezembro/1995. Em cada uma das amostragens foram adquiridas carnes bovinas (alcatra, carne moída, coxão mole, fígado e patinho), carnes suínas (bisteca, costela e pernil), derivados de carnes (mortadela, presunto e salsicha) e frangos assados em assador elétrico comercial com espeto rotatório, em diferentes estabelecimentos comerciais de Maringá (PR).

**Reagentes:** Foram utilizados: colesterol padrão, Sigma, EUA (mínimo 99%); 5- $\alpha$ -colestano padrão, Sigma, EUA (mínimo 99%); etanol absoluto PA-ACS (mínimo 99%); metanol absoluto PA-ACS (mínimo 99%); isopropanol absoluto PA-ACS (mínimo 99%); hexano PA-ACS; hidróxido de potássio PA-ACS; sulfato de sódio anidro PA-ACS.

**Equipamentos e condições de operação:** Foi utilizado cromatógrafo à gás Shimadzu CGS-14A (Japão) equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida com 25m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro, contendo 0,20  $\mu$ m de SE-30. O fluxo do gás de arraste, nitrogênio ultra-puro, foi de 30 mL/min; temperatura da coluna de 300 °C; temperatura do injetor de 245 °C; e, temperatura do detector de 300 °C.

## METODOLOGIA

Utilizou-se a técnica de extração e análise de colesterol segundo Al-Hasani et al (11), com modificações. As amostras de carnes bovinas e suínas foram submetidas à fritura em óleo de soja, trituradas em multiprocessador e pesadas cerca de 5-10 g ( $\pm 0,01$  g) em frascos de vidro para refluxo. A cada amostra foi adicionada mistura alcoólica (etanol + metanol + isopropanol, 90:5:5, v/v/v) em quantidade equivalente a 4,0 mL/g de amostra, seguido de solução aquosa a 60% de KOH na proporção 1,0 mL/g de amostra e, mantida sob refluxo por 30 minutos, com agitação magnética contínua. Após resfriamento à temperatura ambiente, acrescentou-se 100,0 mL de hexano, mantendo o frasco fechado sob agitação magnética por 10 minutos. A seguir foram adicionadas 25,0 mL de água deionizada, mantendo-se agitação por mais 15 minutos. Após decantação, 25,0 mL da fase superior orgânica foi filtrada em sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado em corrente de nitrogênio, até secagem total. O resíduo foi dissolvido em 2,0 mL de hexano contendo 0,20 mg/mL de 5- $\alpha$ -colestano e, cerca de 2  $\mu$ L injetado no cromatógrafo à gás com coluna capilar, para análise do colesterol.

Para as demais amostras, o procedimento foi semelhante, excetuando-se a etapa de fritura para os derivados de carnes e frangos assados. Os frangos assados foram submetidos ao corte do tipo peito

com esterno, segundo Beraquet et al (14), as peles retiradas e desossados.

**Cálculo da concentração do colesterol:** A quantificação do colesterol nas amostras foi efetuada conforme Al-Hasani et al (11), com modificações.

Foram preparadas soluções do padrão colesterol (Sigma, EUA) em hexano nas concentrações 0,10; 0,20; 0,30; 0,50; 0,75 e 1,00 mg/mL, contendo em cada uma, 0,20 mg/mL do padrão interno 5- $\alpha$ -colestano (Sigma, EUA). Construiu-se um gráfico plotando concentração de colesterol versus razão das áreas dos picos de 5- $\alpha$ -colestano e colesterol.

Para o cálculo do teor de colesterol nas amostras, foi utilizada a razão das áreas dos picos de 5- $\alpha$ -colestano e colesterol e, verificado através do gráfico, a concentração de colesterol. Os cálculos foram efetuados levando-se em consideração o volume injetado, volume do extrato e massa da amostra. Quando a resposta cromatográfica da amostra apresentou-se maior que a do padrão, a solução amostra foi diluída e, quando menor, concentrada por evaporação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os valores mínimos e máximos e o teor médio de colesterol em miligramas por 100 gramas de amostras de alcatra, carne moída, coxão mole, fígado e patinho. As variações nos teores de colesterol apresentam grandes intervalos em todas as amostras, com exceção da carne moída. Destaca-se menor teor médio para amostras de carne moída, apesar da dificuldade de caracterização das peças que normalmente são utilizadas na sua elaboração, e maior teor médio para amostras de fígado, respectivamente 32,15 mg e 265,03 mg de colesterol por 100 g de amostra. Com exceção do fígado bovino, as demais carnes apresentaram um teor relativamente baixo, isto devido provavelmente a não utilização da gordura externa na amostragem. Kregel et al (15) em seus estudos, encontraram que o teor de colesterol de carne bovina fresca reduz de 116 para 62 mg/100g quando cozida.

TABELA 1  
Teor de colesterol (mg/100 g) em cinco amostras de carnes bovinas fritas em óleo vegetal

Amostras	Valor mínimo	Valor máximo	Média e DP <sup>1</sup>
Alcatra	49,20	744,40	56,80 $\pm$ 9,42
Carne moída	28,05	39,12	32,15 $\pm$ 2,83
Coxão mole	23,39	53,30	40,06 $\pm$ 8,40
Fígado	215,89	331,99	265,03 $\pm$ 35,39
Patinho	32,75	52,23	37,81 $\pm$ 5,77

<sup>1</sup> Média e desvio padrão para determinações em triplicata

Pela Tabela 2, observa-se também grande variabilidade nos teores de colesterol para bisteca, costela e pernil de suínos, sendo que os valores médios também são considerados baixos e relativamente próximos dos de carnes bovinas.

TABELA 2

Teor de colesterol (mg/100 g) em cinco amostras de carnes suínas fritas em óleo vegetal

Amostras	Valor mínimo	Valor máximo	Média e DP <sup>1</sup>
Bisteca	24,15	51,17	36,12 ± 9,27
Costela	17,99	39,93	27,91 ± 5,12
Pernil	42,81	54,39	47,39 ± 3,24

<sup>1</sup> Média e desvio padrão para determinações em triplicata

Para os derivados de carnes (Tabela 3) notam-se maiores diferenças entre os níveis de colesterol portanto maiores desvios médios, observando-se teores médios de 95,28 mg/100 g para mortadela, 111,07 mg/100 g para presunto e 262,05 mg/100 g para salsicha, resultados estes, elevados, porém previsíveis, devido à provável utilização de diferentes tipos de gorduras, tanto no aspecto qualitativo como quantitativo, quando do processamento destes produtos.

TABELA 3

Teor de colesterol (mg/100 g) em cinco amostras de derivados de carnes

Amostras	Valor mínimo	Valor máximo	Média e DP <sup>1</sup>
Mortadela	34,86	218,08	95,28 ± 49,34
Presunto	68,00	177,89	111,07 ± 28,02
Salsicha	185,03	431,29	262,05 ± 67,70

<sup>1</sup> Média e desvio padrão para determinações em triplicata

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos para os frangos assados. Tendo a pele de frangos apresentado menor teor de colesterol (88,63 mg/100 g), talvez, isso se deva ao processo de cozimento onde parte da gordura é eliminada ou transportada para os tecidos internos. Dentre as peças dos frangos, o peito foi a que apresentou menor teor de colesterol (126,96 mg/100 g), seguida da lateral (127,59 mg/100 g), dorso (141,63 mg/100 g), cozasobrecoxa (149,65) e, a asa que apresentou maior teor (188,29 mg/100 g).

TABELA 4

Teor de colesterol (mg/100 g) em cinco amostras de frangos assados

Amostras	Valor mínimo	Valor máximo	Média e DP <sup>1</sup>
Asa	171,56	217,53	188,29 ± 12,59
Coxa-Sobrecoxa	123,19	182,87	149,65 ± 15,55
Dorso	123,02	161,38	141,63 ± 9,40
Lateral	11,52	154,06	127,59 ± 13,32
Peito	91,87	170,32	126,96 ± 29,62
Pele	80,16	94,78	88,63 ± 4,81

<sup>1</sup> Média e desvio padrão para determinações em triplicata

O teor de colesterol das carnes vermelhas é inferior ao das carnes brancas, segundo Bragagnolo e Rodríguez-Amaya (16); comparando as informações compiladas por Oliveira et al (17), verifica-se que as carnes cruas de origem bovina, suína e ovina (carnes vermelhas) apresentam valores de colesterol significativamente inferiores às de frango.

Dentre as carnes analisadas, suínas, bovinas, derivados e de frangos, as de frangos assados apresentaram maiores teores de colesterol menores apenas que os teores detectados em amostras de fígado bovino e relativamente próximos aos teores dos derivados de carnes.

## REFERENCIAS

1. Chamizo J.A. Brain tinglers. *J Chem Ed*, 59(2):151-159, 1982.
2. Lehninger A.L., Nelson D.L. & Cox M.M. *Principios de Bioquímica*. 2 ed, São Paulo, Sarvier 839p. 1995.
3. Montgomery R., Conway T.W. & Spector A.A. *Bioquímica*. Uma abordagem dirigida por casos. 5 ed, São Paulo 387 p. 1994.
4. Fenton M. Review: Chromatographic separation of cholesterol in foods. *J Chromatogr*, 6524:369-388, 1992.
5. Potter N.N. *Food Science*. 2 ed, Westport, AVI Publishers, 706p. 1973.
6. Sgarbieri V.C. *Alimentação e Nutrição: fator de saúde e desenvolvimento*. Campinas, Edunicamp, 387p. 1987.
7. Bobbio F.O. & Bobbio P.A. *Introdução à Química de alimentos*. 2 ed. São Paulo, Varela, 223p. 1989.
8. Tavares M.A. expressão «sem colesterol» contida nas embalagens de óleos e gorduras vegetais: uma propaganda enganosa? *Bol Inst Adolfo Lutz*, 2(2):6, 1992.
9. Pereira L.E., Paparounis D. & Contreras E. Coração, a máquina da vida. *Rev. Saúde*, 10(10):34-55, 1993.
10. Wardlan G.M. & Insel P.M. *Perspectives in nutrition*. 2 ed. Missouri, Mosby Year Book, 652p. 1993.
11. Al-Hasani S.M., Hiavac J. & Carpenter M.W. Rapid determination of cholesterol in single and multicomponent prepared foods. *J Assoc Off Anal Chem Int*, 76(4):902-906, 1993.
12. Sweeney J.P., Weirauch J.L. *Crit Rev Food Sci Nutr* 8:131-145, 1976, apud Fenton M. Review: Chromatographic separation of cholesterol in foods. *J Chromatogr* 624:369-388, 1992.
13. Sheppard A.J., Newkirk D.R., Hubbard W.D., Oosgood T. *J Assoc Off Anal Chem*, 60:1302-1309, 1977, apud Fenton M. Review: Chromatographic separation of cholesterol in foods. *J Chromatogr*, 624:369-388, 1992.
14. Beraquet N.J., Galvão MTEL, Silva RZM & Arima H.K. Cortes e rendimentos de carcaças de frango encontradas no varejo. *Colet ITAL*, 22(1):92-100, 1992.
15. Kregel K.K., Prusa J. & Hughes V. Cholesterol content and sensory analysis of ground beef as influenced by fat a level, heating, and storage. *J Food Sci*, 51(5):1162-1165, 1986.
16. Bragagnolo N. & Rodrigues-Amaya D.B. Teores de colesterol em carne suína e bovina e efeito do cozimento. *Ci Tecnol Alim*, 15(1):11-17, 1993.
17. Oliveira J.E.D., Santos A.C. & Wilson E.D. *Nutrição Básica*. São Paulo, Sarvier p.15-28. 1982.

Recibido: 23-04-1997

Aceptado: 30-06-1997

## Notas

### **Premio 1998 en honor de Fred L. Soper (1893-1976) para trabajos publicados en el campo de la salud interamericana**

Por la presente se anuncia el Premio 1998 en honor de Fred L. Soper, Director que fue de la Organización Panamericana de la Salud (Oficina Regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud) de 1947 a 1959, y se solicita la presentación a concurso de candidaturas.

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

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

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

El Fondo del Premio es administrado por la Fundación Panamericana de la Salud y Educación la cual recibe contribuciones voluntarias asignadas con este fin y las deposita en un fondo aparte. El premio consiste en un diploma y un monto de EUA \$1000,00 dólares. Un Comité del Premio, integrado por representantes nombrados por la OPS y la PAHEF, designa al ganador o ganadores del premio; la selección final la realiza el Directorio de PAHEF.

Pueden concursar al Premio Fred L. Soper trabajos presentados por sus autores o en nombre de ellos. A efectos del Premio 1998, solo podrán concursar trabajos publicados durante el año 1997; todos los trabajos presentados a concurso tienen que haberse recibido a más tardar el 31 de marzo de 1998 en la siguiente dirección:

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

## **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 Cursos 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 /

mmenchu@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**  
 Noviembre 9-15, 1997

**SLAN 97**

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

Información sobre cursillos pre-congreso serán proporcionados próximamente

**Temas centrales:**

- SLAN Nivel Local
- Economía Alimentaria
- Protección de Alimentos
- Alimentos Nutritivos
- Educación Alimentaria y Nutricional
- Formación de Recursos Humanos
- Interdisciplinarios
- 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

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

**Anote en su agenda: Congreso SLAN-97**

Para mayor información dirigirse a:  
 Dr. Héctor L. Delgado  
 Oficina SLAN 97  
 Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)  
 Apartado Postal 1888  
 01001 Guatemala  
 Guatemala, G.A.  
 Teléfono: INCAP (502) 4723662 o 475655  
 Fax: (502) 4736297  
 E-Mail: hdelgado@incap.org.gt  
 Web: http://www.incap.org.gt

**CONGRESO**  
**Temas centrales:**

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

**Programa**

Hora	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes
08:30 - 09:30	Abogacía	Carbohidratos Azúcares	Carbohidratos Azúcares	Carbohidratos Azúcares	Carbohidratos Azúcares
09:30 - 10:30	Programa Especial	Diabetes/Pancreas Fuerza	Diabetes/Pancreas Fuerza	Diabetes/Pancreas Fuerza	Diabetes/Pancreas Fuerza
10:30 - 12:30		Simpósios	Simpósios	Simpósios	Simpósios
12:30 - 14:00	Carbohidratos/ Hidratación	Carbohidratos/ Hidratación	Vitamina C	Carbohidratos/ Hidratación	Carbohidratos/ Hidratación
14:00 - 16:00	Presentaciones Orales	Presentaciones Orales	Relajación	Presentaciones Orales	Reunión de IAH
16:00 - 18:00	Grupos de trabajo	Grupos de trabajo	Guatemala	Grupos de trabajo	Cena del Congreso
18:00 en adelante	Cóctel de bienvenida	Evento Cultural	Libre	Evento Cultural	Fiesta de Despedida

Para mayor información dirigirse a:  
 Dr. Héctor L. Delgado  
 Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)  
 Apartado Postal 1888  
 01001 Guatemala  
 Guatemala, G.A.  
 Teléfono: INCAP (502) 4723662 o 475655  
 Fax: (502) 4736297  
 INCAP  
 P.O. Box 01-5289 Caracas 0951  
 Avana, Florida 3362-5289  
 USA  
 E-Mail: hdelgado@incap.org.gt  
 Web: http://www.incap.org.gt/slan97.htm

## Información para los autores

# Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas <sup>1</sup>

*Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas* <sup>2</sup>

En enero de 1978, un pequeño grupo de directores de revistas médicas generales se reunieron en Vancouver, Canadá, para fijar pautas con respecto a la presentación de los manuscritos enviados a ellas. El grupo, que se ha ampliado y actualmente es conocido como el Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (o también como el Grupo de Vancouver), se ha venido reuniendo cada año desde entonces y sus inquietudes se han hecho más generales. El comité ha elaborado cuatro ediciones de los *Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas*; la presente edición, que es la cuarta, fue ligeramente enmendada en enero de 1993<sup>3</sup>.

### RESUMEN DE LOS REQUISITOS

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

Cada componente del manuscrito empezará en página aparte,

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

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

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

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

### PUBLICACION PREVIA Y DUPLICADA

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

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

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

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

*Las consultas y observaciones deben dirigirse a 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.*

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

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

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

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

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

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

## PREPARACION DEL MANUSCRITO

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

## PAGINA DEL TITULO

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

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

## AUTORIA

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

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

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

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

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

## RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

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

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

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

## TEXTO

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

### Introducción

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

### Métodos

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

### Ética

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

### Estadística

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

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

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

### Resultados

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

### Discusión

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

### AGRADECIMIENTOS

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

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

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

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

## REFERENCIAS

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

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

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

Los autores verificarán las referencias cotejándolas contra los documentos originales.

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

### Artículos de revistas científicas

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

---

4 Evidentemente, por "extranjero" se entiende aquí en relación con el idioma inglés, pues los ejemplos de referencias bibliográficas se han trasladado directamente del original, sin adaptarlas. (N. del T.).
- You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980 Aug;79(2):311-4.
- Como opción, si una revista utiliza la paginación continua a lo largo de un volumen, podrán omitirse el mes y el número:  
You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4.
- Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.
2. **Autor corporativo:**  
The Royal Marsden Hospital Bone-marrow Trans-plantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.
3. **No se indica el nombre del autor:**  
Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.
4. **Artículo en idioma extranjero<sup>4</sup>:**  
Massone L, Borghi S, Pestarino A, Piccini R, Gambini C. Localisations palmaires purpuriques de la dermatite herpétiforme. *Ann Dermatol Venerol* 1987;114:1545-7.
5. **Suplemento de un volumen:**  
Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 Suppl 5:75-8.
6. **Suplemento de un número:**  
Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Paine SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.
7. **Parte de un volumen:**  
Hanly C. Metaphysics and innateness: a psycho-analytic perspective. *Int J Psychoanal* 1988;69(Pt 3):389-99.
8. **Parte de un número:**  
Edwards L, Meyskens F, Levine N. Effect of oral isotretinoin on dysplastic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1989;20(2 Pt 1):257-60.
9. **Número sin volumen:**  
Baumeister AA. Origins and control of stereotyped movements. *Monogr Am Assoc Ment Defic* 1978;(3):353-84.
10. **Sin número ni volumen:**  
Danoek K. Skiing in and through the history of medicine. *Nord Medicinhist Arsb* 1982;86-100.
11. **Paginación en números romanos:**  
Ronne Y. Ansvarsfall. Blodtransfusion till fel patient. *Vardfacket* 1989;13:XVI-XXVII.
12. **Indicación del tipo de artículo, según corresponda:**  
Spargo PM, Manners JM. DDAVP and open heart surgery [letter]. *Anaesthesia* 1989;44:363-4.  
Fuhrman SA, Joiner KA. Binding of the third component of complement C3 by *Toxoplasma gondii* [abstract]. *Clin Res* 1987;35:475A.

13. **Artículo que contiene una retractación:**  
Shishido A. Retraction notice: Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retraction of Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. In: Jpn J Med Sci Biol 1979;32:53-65]. Jpn J Med Sci Biol 1980;33:235-7.
14. **Artículo retirado por retractación:**  
Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retracted by Shishido A. In: Jpn J Med Sci Biol 1980;33:235-7]. Jpn J Med Sci Biol 1979;32:53-65.
15. **Artículo que contiene un comentario sobre otro trabajo:**  
Piccoli A, Bossatti A. Early steroid therapy in IgA neuropathy: still an open question [comment]. Nephron 1989;51:289-91. Comment on: Nephron 1988;48:12-7.
16. **Artículo que ha sido comentado en otro trabajo:**  
Kobayashi Y, Fujii K, Hiki Y, Tateno S, Kurokawa A, Kamiyama M. Steroid therapy in IgA nephropathy: a retrospective study in heavy proteinuric cases [see comments]. Nephron 1988;48:12-7. Comment in: Nephron 1989;51:289-91.
17. **Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas:**  
Schofield A. The CAGE questionnaire and psycho-logical health [published erratum appears in Br J Addict 1989;84:701]. Br J Addict 1988;83:761-4.

#### Libros y otras monografías

18. **Individuos como autores:**  
Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2nd rev ed. London: S Paul, 1986.
19. **Directores o compiladores como autores:**  
Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlar, 1988.
20. **Organización como autor y editor:**  
Virginia Law Foundation. The medical and legal implications of AIDS. Charlottesville: The Foundation, 1987.
21. **Capítulo de libro:**  
Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974:457-72.
22. **Actas de conferencias:**  
Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.
23. **Artículo presentado a una conferencia:**  
Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, editors. Indoor air and human health. Proceeding of the Seventh Life Sciences Symposium; 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985:69-78.
24. **Informe científico o técnico:**  
Akutsu T. Total heart replacement device. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Heart and Lung Institute;

1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-69-2185-4.

25. **Tesis doctoral:**  
Youssef NM. School adjustment of children with congenital heart disease [dissertation]. Pittsburgh (PA): Univ of Pittsburgh, 1988.
26. **Patente:**  
Harred JF, Knight AR, McIntyre JS, inventors. Dow Chemical Company, assignee. Epoxidation process. US patent 3,654,317. 1972 Apr 4.

#### Otros trabajos publicados

27. **Artículo de periódico:**  
Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. The Washington Post 1989 Aug 7;Sect A:2(col 5).
28. **Material audiovisual:**  
AIDS epidemic the physician's role [videorecording]. Cleveland (OH): Academy of Medicine of Cleveland, 1987.
29. **Archivo de computadora:**  
Renal system [computer program]. MS-DOS version. Edwardsville (KS): Medi-Sim, 1988.
30. **Documentos legales:**  
Toxic Substances Control Act: Hearing on S776 Before the Subcomm. on the Environment of the Senate Comm. on Commerce, 94th Congr., 1st Sess. 343 (1975).
31. **Mapas:**  
Scotland [topographic map]. Washington: National Geographic Society (US), 1981.
32. **Libro de la Biblia:**  
Ruth 3:1-18. The Holy Bible. Authorised King James version. New York: Oxford Univ Press, 1972.
33. **Diccionarios y obras de consulta semejantes:**  
Ectasia. Dorland's illustrated medical dictionary. 27th ed. Philadelphia: Saunders, 1988:527.
34. **Obras clásicas:**  
The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. Londond: Rex, 1973.

#### Trabajos inéditos

35. **En prensa:**  
Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. Science. In press.

#### CUADROS

Mecanografe o imprima cada cuadro a doble espacio y en hoja aparte. No presente los cuadros en forma de impresiones fotográficas. Numérelos consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada uno. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilícese los símbolos siguientes en la secuencia que se indica:

\*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡, ....

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como

la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros.

Cerciórese de que cada cuadro sea citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde.

Incluir un número excesivo de cuadros en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto.

Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para ser publicados, queden depositados en un servicio de archivo, como el National Auxiliary Publications Service (NASP) [Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares] en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Sea como fuere, dichos cuadros se presentarán junto con el artículo.

## ILUSTRACIONES (FIGURAS)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan  $127 \times 173$  mm, sin exceder de  $203 \times 254$  mm. Las letras, números y símbolos serán claros y uniformes en todas las ilustraciones; tendrán, además, un tamaño suficiente para que sigan siendo legibles incluso después de la reducción necesaria para publicarlas. Los títulos y las explicaciones detalladas se incluirán en los pies o epígrafes, no sobre las propias ilustraciones.

Al reverso de cada figura pegue una etiqueta de papel que lleve anotados el número de la figura, el nombre del autor y cuál es la parte superior de la misma. No escriba directamente sobre el dorso de las figuras ni las sujete con broches para papel, pues se rompen y quedan marcadas. Las figuras no se doblarán ni se montarán sobre el cartón.

Las fotomicrografías incluirán en sí mismas un indicador de la escala. Los símbolos, flechas y letras usados en éstas contrastarán claramente con el fondo.

Si se usan fotografías de personas, éstas no deberán ser identificables; de lo contrario, habrá que anexar un permiso por escrito para poder utilizarlas.

Las figuras se numerarán en forma consecutiva de acuerdo con su primera mención en el texto. Si la figura ya fue publicada, se reconocerá la fuente original y se presentará la autorización por escrito que el titular de los derechos de autor concede para reproducirla. Este permiso es necesario, independientemente de quién sea el autor o la editorial; la única salvedad son los documentos considerados como de dominio público.

En el caso de las ilustraciones en color, averigüe si la revista necesita negativos, transparencias o impresiones fotográficas. La inclusión de un diagrama en el que se indique la parte de la fotografía que debe reproducirse puede resultar útil a la redacción. Algunas revistas publican ilustraciones en color únicamente si el autor paga el costo extra.

## Pies o epígrafe de las ilustraciones

Los pies o epígrafes de las ilustraciones se mecanografiarán o imprimirán a doble espacio, comenzando en hoja aparte e identificándolos con los números arábigos correspondientes. Cuando se utilicen símbolos, flechas, números o letras para referirse a ciertas partes de las ilustraciones, será preciso identificar y aclarar el significado de cada uno en el pie o epígrafe. En las fotomicrografías habrá que explicar la escala y especificar el método de tinción.

## UNIDADES DE MEDIDA

Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se expresarán en unidades del sistema métrico decimal (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos y submúltiplos.

Las temperaturas se consignarán en grados Celsius. Los valores de presión arterial se indicarán en milímetros de mercurio.

Todos los valores hemáticos y de química clínica se presentarán en unidades del sistema métrico decimal y de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). La redacción de la revista podrá solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores agreguen unidades alternativas o distintas de las del SI.

## ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

Utilice únicamente abreviaturas ordinarias. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura, ésta irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

## PRESENTACION DEL MANUSCRITO A LA REVISTA

Envíe por correo el número requerido de copias del manuscrito en un sobre de papel resistente; si es necesario, proteja las copias y las figuras metiéndolas entre dos hojas de cartón para evitar que las fotografías se doblen durante la manipulación postal. Meta las fotografías y transparencias en su propio sobre de papel resistente.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de presentación que proporcione: a) información acerca de la publicación previa o duplicada, la presentación del manuscrito a otra revista o la publicación de cualquier parte del trabajo, según lo expresado en líneas arriba; b) una manifestación de las relaciones financieras o de otro tipo que pudieran desembocar en un conflicto de intereses; c) una declaración de que el manuscrito ha sido leído y aprobado por todos los autores, que se ha cumplido con los requisitos de la autoría expuestos anteriormente en el presente documento y, más aún, que cada uno de los autores cree que el manuscrito representa un trabajo honrado; y d) el nombre, la dirección y el número telefónico del autor corresponsal, quien se encargará de comunicarse con los demás autores en lo concerniente a las revisiones y a la aprobación final de las pruebas de imprenta. La carta incluirá cualquier información suplementaria que pueda resultar útil para el director, tal como el tipo de artículo que el manuscrito representa para esa revista en particular y si el autor (o los autores) estaría(n) dispuesto(s) a sufragar el costo de reproducir las ilustraciones en color.

El manuscrito se acompañará de copias de los permisos concedidos para reproducir material ya publicado, para usar ilustraciones o revelar información personal delicada sobre individuos que puedan ser identificados, o para nombrar a ciertas personas por su colaboración.

## MANUSCRITOS EN DISQUETE

Tratándose de artículos que están cercanos a la aceptación final, algunas revistas piden que los autores proporcionen los manuscritos en forma electrónica (en disquetes) y pueden aceptar una variedad de formatos de procesamiento de textos o archivos (también llamados "ficheros") de texto (ASCII).

Al presentar disquetes, los autores deben:

1. Cerciorarse de incluir un impreso de la versión del manuscrito en disquete.
2. Incluir en el disquete solamente la versión más reciente del manuscrito.
3. Poner muy claramente el nombre del archivo.
4. Rotular el disquete con el formato y el nombre del archivo.
5. Facilitar información sobre el software y el hardware empleados.

En las instrucciones de la revista dirigidas a los autores, éstos deben consultar cuáles son los formatos que se aceptan, las convenciones para denominar los archivos y disquetes, el número de copias que han de enviarse, y otros detalles del caso.

### ***Revistas participantes***

Las revistas que han notificado al Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas su disposición a que se les envíen manuscritos preparados de conformidad con las versiones anteriores de los Requisitos uniformes del Comité mencionan este hecho en sus instrucciones a los autores. La lista completa de ellas puede solicitarse a la Oficina de la Secretaría en *Annals of Internal Medicine*.

# Sociedad Latino Americana de Nutrición

## S.L.A.N.

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada hace más de 25 años con el fin de integrar los esfuerzos de profesionales calificados para promover y mejorar el conocimiento de los problemas nutricionales de los países de la región y de las alternativas de prevención y tratamiento que ofrece la nutrición como ciencia.

Cualquier persona que se encuentre profesionalmente activa o que haya contribuido de manera significativa al avance de la nutrición o disciplinas afines, puede asociarse a SLAN, para lo cual debe enviar una carta de solicitud avalada por dos Socios Activos y su curriculum actualizado. Debe igualmente anexar la documentación que pruebe la publicación de por lo menos, dos trabajos en revistas de nivel internacional en los últimos cinco años.

La solicitud puede dirigirse a la Presidencia de la Sociedad, en Ciudad de Guatemala, a los Vocales representantes de Area o a los Capítulos de SLAN en los respectivos países.

El Consejo Directivo está integrado por: Hernán L. Delgado (Presidente), Alejandro O'Donnell (Presidente Electo), Rafael Flores (Secretario), María Teresa Menchú (Tesorera), Esther Casanueva, Elizabeth Vargas de Frias, Manuel Grillo, Zayda Gotera de Prado, Héctor Araya, Olga María Amancio y Carlos Hernán Daza (Vocales).

Los Socios deben pagar una cuota anual de US \$30, que incluye la suscripción de la revista.

El órgano oficial de SLAN es la conocida revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN), la cual vuelve a ser editada desde 1992 en Caracas, Venezuela. Los manuscritos para publicación deben ser enviados al Editor General, Dr. Virgilio Bosch, o al Editor Asociado, Dr. José Félix Chávez.

La correspondencia destinada a la SLAN debe dirigirse al Dr. Hernán L. Delgado, INCAP, Apartado Postal 1188. Guatemala, C.A. (Fax: 502-2. 736529) y la de ALAN al Apartado 62.778, Chacao, Caracas 1060, Venezuela o a su número de Fax: (58-2) 2848543.

¿CAMBIO DE DOMICILIO?

¿CHANGING YOUR ADDRESS?

Por favor, escriba su nueva dirección abajo y envíela al Departamento de Suscripciones de ALAN, adjuntando la etiqueta de un sobre de envío. Le rogamos avisarnos con 60 días de anticipación/**Please print your new address below and return to the Journal Subscription Dept. with our label. Please advise 60 days in advance.**

Nombre/Name:

Calle/Street:

Ciudad/City:

Estado, País/State, Country:

Código Postal/Postal Code:

Por favor enviar ALAN a mi nueva dirección a partir de: / **Date new address effective:**



# Sociedad Latino Americana de Nutrición

## S.L.A.N.

### SOLICITUD DE INSCRIPCION

Nombre: \_\_\_\_\_

Título Profesional: \_\_\_\_\_

Estudios de Postgrado: \_\_\_\_\_

Cargo: \_\_\_\_\_

Lugar de trabajo: \_\_\_\_\_

Dirección del trabajo: \_\_\_\_\_

Código Postal: \_\_\_\_\_ Ciudad: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Fax: \_\_\_\_\_ Télex: \_\_\_\_\_

Dirección Postal: \_\_\_\_\_

Código Postal: \_\_\_\_\_ Ciudad: \_\_\_\_\_ País: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Fax: \_\_\_\_\_ Télex: \_\_\_\_\_

Fecha de la solicitud: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Anote las referencias bibliográficas de dos de sus publicaciones más recientes:

1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

#### Socios de SLAN que le postulan

Nombre:

Firma:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Adjunte su Curriculum Vitae actualizado.

La cuota anual de SLAN es de \$30 con la revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición y de \$10 sin la revista.  
Los cheques deben ser emitidos en US \$ a nombre de: SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION.



**Artes Finales:** Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela  
Teléfono (02) 993.81.43

**Portada:** Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela  
Teléfono (02) 285.55.29

**Impresión:** Editorial Texto C.A., Caracas, Venezuela  
Teléfonos (02) 62.24.85 - 62.87.30



# SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION (SLAN)

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada el 10 de Noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental. El actual Consejo Directivo de la SLAN está constituida por los siguientes miembros:

Presidente	Dr. 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. Guillermo Arroyave	Dr. Julio Sergio Marchini
Dr. Juan de Dios Alvarado	Dr. Reynaldo Martorell
Dr. Héctor Araya	Dr. Manolo Mazariegos
Dr. Manuel Amador	Dr. Luis A. Mejía
Dr. Jaime Ariza M.	Dr. Rafael Monge R.
Dr. Daniel Barrera Arellano	Dra. Josefina Morales
Dr. José María Bengoa	Dr. Santiago Muzzo
Lic. Adriana Blanco M.	Dr. J.E. Dutra de Oliveira
Dr. Héctor Bourges R.	Dra. Rosa María Ortega A.
Dr. Ricardo Bressani	Dra. Nelly Pak
Dr. Jesús Bulux	Dr. Ernesto Pollitt
Dr. Benjamín Caballero	Dra. Myriam Puig A.
Dr. Germán Camejo	Dra. María Ester Río
Dra. Sara J. Closa	Dra. Lilia Masson Salaué
Dr. Adolfo Chávez V.	Dra. María Elena Sambucetti
Dr. Omar Dary	Dr. Nilson E. de Sousa
Dr. Luiz G. Elías	Dra. Nora Slobodianik
Dra. Patricia R. de Ferrer	Dr. Noel W. Solomons
Dra. Marisa Guerra M.	Dr. Luiz C. Trugo
Dr. Werner G. Jaffé	Dr. Ricardo Uauy D.
Dra. Gladys Henríquez P.	Dr. Helio Vannucchi
Dra. Elena Hurtado	Dra. Mirtha E. Valencia
Dra. Susana J. Icaza	Dr. Mauro Valencia J.
Dra. Maritza L. de Jiménez	Dra. Yolanda H. de Valera
Dr. Miguel Layrisse	Dr. Tomás Walter
Dr. Irvin E. Liener	Dra. Carolyn Jane Wyatt
Dr. Edmund W. Lusas	Dra. Dorothy Wilson
Dra. María L. P. Martín de Portela	Dr. Enrique Yáñez S.

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

## Contenido

Páginas

### ARTICULOS GENERALES

Actividad antitumoral de compuestos naturales: Lectinas y azafrán.....	195
Fikrat I. Abdullaev y Elvira González de Mejía	
Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal.....	203
Gines López, Gaspar Ros, Francisco Rincón, María Jesús Periago, Carmen Martínez y Josefina Ortuño	
Revisión: Extracción microbiológica y enzimática de pectina.....	208
J. C. Contreras-Esquivel, R.A. Hours, C. N. Aguilar, M. L. Reyes-Vega y J. Romero	

### TRABAJOS DE INVESTIGACION

#### Ciencia de Alimentos

Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fitico, calcio y hierro total y disponible.....	217
A.L. Urizar Hernández y R. Bressani	
Comportamiento microbiano y obstáculos en alimentos venezolanos de humedad intermedia.....	224
L. Elguezabal, M. Daly, P. Navarro y M. E. Jreige	
Envejecimiento del pan. Efecto combinado de $\alpha$ -amilasa bacteriana y emulsificante en la textura y en las características amilográficas de la miga.....	229
María Victória Grossmann, Carmen Benedito de Barber	
Características químicas y nutricionales del grano de cinco genotipos de <i>Canavalia ensiformis</i> .....	234
Alejandra O. Ramírez M. y Ligia Ortíz de Bertorelli	

#### Nutrición Animal

Pigmentation of the rainbow trout ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) with oil-extracted astaxanthin from the langostilla ( <i>Pleuroncodes planipes</i> ).....	237
Gladis Coral Hinostroza, Alberto Huberman W., Guadalupe de la Lanza, José Monroy-Ruiz	
Uso de una multimistura como suplementação alimentar: Estudo em ratos.....	242
Francisca Martins Bion, Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa, Maria Auxiliadora Gonçalves Lapa, Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos, Norma Lúcia Marinho Antunes, Sílvia María Limongi Lopes	

#### Educación Nutricional

Conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de educación básica y media de diferentes niveles socioeconómicos.....	248
Daniza Ivanovic M., Carmen Gloria Castro G. y Rodolfo Ivanovic M.	
Guías de alimentación y nutrición. Una propuesta didáctica.....	256
Shamah-Levy Teresa, Vásquez-Resenos Claudia, Cervantes-Turrubiates Leticia y Chávez-Villasana Adolfo	

#### Toxicología de Alimentos

Occurrence of <i>Aspergillus flavus</i> strains and aflatoxins in corn from Santa Fe, Argentina.....	262
Marcelo C. Nepote, Eduardo Piontelli L. y Adriana Saubois	

#### LatinFoods. Composición de Alimentos

Composición de nutrientes en especies vegetales autóctonas de la región Chaqueña, Argentina.....	265
V.R. Rozycki, C.M. Baigorria, M.R. Freyre, C.M. Bernard, M.S. Zannier, M. Charpentier	
Composición mineral de la leche del Estado Mérida, Venezuela.....	271
María D. Sánchez y Luis A. Boscán	
Composición de ácidos grasos saturados e insaturados en alimentos de consumo frecuente en Argentina.....	276
Alicia Navarro, Sonia E. Muñoz, María J. Lantieri, Eugenia A. Fabro y Aldo R. Eynard	
Colesterol em carnes bovinas, suínas, frangos e derivados de carnes comercializados em Maringá, Paraná, Brasil.....	282
André Rowe, Solange Aparecida Bertoni, Paulo Luiz Pereira, Makoto Matsushita & Nilson Evelázio de Souza	

NOTAS.....	285
------------	-----

INFORMACION PARA LOS AUTORES.....	286
-----------------------------------	-----